KFAS 한국수산과학회지 Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences
한수지 59(5), 564-574, 2026

Original Article
Korean J Fish Aquat Sci 59(5),564-574,2026

국내 양식 왕연어(*Oncorhynchus tshawytscha*)의 절창병 의심 분리균 *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* 최초 감염 보고 및 특성 분석

황성원 · 이남실 · 서한길 · 김나영 · 김명석 · 한현자 · 우수지*

국립수산과학원 병리연구과

First Case Report and Characterization of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* in Cultured Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in South Korea

Sung Won Hwang, Nam Sil Lee, Han Gill Seo, Na Young Kim, Myoung Sug Kim, Hyun Ja Han and Soo Ji Woo*

Pathology Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Republic of Korea

This study reports the first isolation and polyphasic characterization of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* (ASS) from cultured Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in South Korea. Diseased fish exhibited typical signs of furunculosis, including cutaneous and anal hemorrhage, splenic ulceration, and systemic inflammation across major organs. Five bacterial isolates were identified as typical ASS by 16S rRNA and *vapA* gene sequencing and clustered with ASS reference strains in the phylogenetic analysis. All 13 virulence- and metabolism-related genes tested (*aerA*, *act*, *hlyA*, *exsA*, *carB*, *lon*, *gmhA*, *fur*, *rfbA*, *dctA*, *mglA*, *rpoS*, and *purD*) were detected in isolates ASS-2 to ASS-5, whereas *exsA* was absent in ASS-1, indicating substantial pathogenic potential for host colonization and systemic infection. Broth microdilution testing revealed phenotypic variation in antimicrobial susceptibility; ASS-2, ASS-3, and ASS-4 were resistant to oxolinic acid (≥4 μg/mL) and oxytetracycline (≥8 μg/mL), whereas ASS-1 remained susceptible to most agents tested. These findings confirm the natural occurrence of virulent, antimicrobial-resistant ASS in Chinook salmon aquaculture in South Korea, highlighting the need for active disease monitoring and prudent antimicrobial management.

Keywords: *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, Antimicrobial resistance, Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*), Furunculosis, Virulence genes

서 론

왕연어(*Oncorhynchus tshawytscha*)는 태평양연어속(genus *Oncorhynchus*) 어류 중 가장 뛰어난 성장률과 초대형 상업적 크기를 자랑하며, 고품질 수산 자원으로서 글로벌 양식 산업에서 매우 높은 경제적 가치를 평가받고 있다(Quiñones et al., 2019). 국내에서도 연어류 소비 급증과 연안·외해 가두리 양식 기술의 발달에 힘입어 왕연어를 비롯한 고부가가치 연어과 어류의 국내 양식 시도와 산업적 도입이 활발히 추진되고 있다(Kim and Kim, 2022). 그러나 왕연어는 환경 적응력과 생활사의 유연성이 뛰어난 반면(Brennan et al., 2004), 연어과 어류 중에서도 세균성 질병에 대한 민감성이 매우 높은 종으로 알려져 있다(Diamanka et al., 2013). 특히 대규모 집단 사육 환경에서 발생하는 감염성 질환은 양식 왕연어의 생산성을 저하시키고 막대한 경제적 손실을 유발하는 결정적인 저해 요인으로 작용한다(Diamanka et al., 2013).

***Corresponding author:** Tel: +82. 51. 720. 2482 Fax: +82. 51. 720. 2498
E-mail address: wsj2215@korea.kr

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

https://doi.org/10.5657/KFAS.2026.0564
Korean J Fish Aquat Sci 59(5), 564-574, October 2026
Received 26 August 2026; **Revised** 22 September 2026; **Accepted** 7 October 2026
저자 직위: 황성원(연구원), 이남실(연구원), 서한길(해양수산연구사), 김나영(해양수산연구관), 김명석(해양수산연구관), 한현자(해양수산연구관), 우수지(해양수산연구사)

왕연어 양식 현장에서 가장 위협적인 세균성 질병 중 하나는 *Aeromonas salmonicida*에 의해 발생하는 절창병(furunculosis)이다. *A. salmonicida*는 담수와 해수 환경을 가리지 않고 연어과 어류 전반에 급성, 초급성 및 만성 패혈증을 유발하는 주요 병원체이다(Dallaire-Dufresne et al., 2014). 그중 아종(subspecies)인 *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* (ASS)는 치명적인 전신성 패혈증 및 전파력을 특징으로 하며, 감염 시 체표 발적, 양안 돌출, 내장 장기 울혈 및 대량 폐사를 야기한다(Romstad et al., 2013). 역학 연구에 따르면 왕연어는 코호연어(*Oncorhynchus kisutch*)나 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*) 등 타 연어류에 비해 ASS에 대한 감염 유병률과 위험도가 유의하게 높다(Pirhonen et al., 2003; Diamanka et al., 2013). 또한, 단 1마리의 감염 개체 유입만으로도 임상 증상이 발현되기 전 3–4일의 잠복기부터 체표 점액과 아가미를 통해 수중으로 고농도의 세균을 배출하여 집단 내 유병률을 급격히 증가시키는 강력한 수평 전파력을 지닌다(Ogut and Reno, 2005).

그동안 해외에서는 ASS에 의한 절창병의 역학, 전파 동역학 및 병원성 유전자 특성에 대한 연구가 다각도로 이루어져 왔다(Ogut and Reno, 2005; Diamanka et al., 2013). 그러나 국내의 경우 연어과 어류 양식 기간이 비교적 짧고 대상 어종이 제한적이었던 탓에, 국내 양식 왕연어에서 발생한 ASS 감염증에 대한 정확한 진단, 분리 균주의 계통분류학적 분석 및 병원성 유전자에 대한 연구는 매우 미흡한 실정이다. 더욱이 최근 oxytetracycline 수산용 항생제에 대한 내성 균주의 출현 보고가 지속되고 있어(Diamanka et al., 2013; Desbois et al., 2020), 국내 양식 왕연어에서 분리된 ASS의 정확한 종 동정과 항생제 감수성 특성 파악은 효과적인 세균성 질병 치료 및 관리를 위해 필요하다.

따라서 본 연구는 국내 육상 유수식 양식 왕연어에서 최초로 분리된 ASS의 감염 사례를 보고하고, 당 대사능 관련 생화학적 성상과 심외막염 등 병리조직 특징을 구명하고자 하였다. 또한 16S rRNA 및 A-layer 단백질 암호화 유전자(*vapA*)를 이용한 분자생물학적 종 동정과 계통수 분석을 수행하였으며, 세균의 균체 내 항원·대사 및 병원성에 관여하는 주요 병원성 유전자 13종(*aerA*, *act*, *hlyA*, *exsA*, *carB*, *lon*, *gmhA*, *fur*, *rfbA*, *dctA*, *mglA*, *rpoS*, *purD*)의 스크리닝과 항생제 감수성 평가를 실시하였다. 본 연구 결과는 향후 국내 연어류 양식 산업에서 발생할 수 있는 절창병의 조기 진단 및 맞춤형 질병 관리 전략 수립을 위한 기초 자료로 유용하게 활용될 것이다.

재료 및 방법

어류 시료 분석

2024년 10월 경상북도 소재 1개 연어류 양식장의 육상 유수식 콘크리트 수조에서 사육 중인 왕연어(*O. tshawytscha*, 전장 28±4 cm, 체중 230.14±12 g, n=6)를 대상으로 정밀 분석을 실시하였다. 시료 채취 및 해부는 국립수산과학원 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호 2024-NIFS-IACUC-20, 2024년 4월 1일)을 받아 수행하였다. 발병 양식장의 역학 조사 결과, 해당 개체군은 15℃ 지하수 유수식 조건에서 사육 중이었으며, *A. salmonicida*에 대한 상용 백신 접종 이력 및 항생제 투여 이력은 없었다. 폐사는 없었으며, 임상 관찰 결과, 질병 의심 증상이 발견되어 육안적 증상 및 병변을 기록하였다. 외관 및 내부 장기의 임상 병변을 기록한 후 무균적으로 아가미, 간, 비장, 신장, 소화관(위), 심장 조직을 적출하여 세균 분리 및 조직병리학적 분석에 사용하였다.

기생충 및 바이러스 진단

혼합 감염 여부를 확인하기 위해 채집된 왕연어 전 개체를 대상으로 기생충 검경 및 바이러스 분자 진단을 실시하였다. 기생충 감염 여부는 체표 점액과 아가미 조직의 습식 도말 표본을 제작한 후 광학현미경(BX53; Olympus Corp., Tokyo, Japan)을 이용해 100배율로 원충류 및 흡충류 등의 기생 유무를 검경하였다. 바이러스 진단을 위해 무균적으로 적출한 비장 및 신장 조직 혼합물로부터 RNA 추출 키트(RNeasy Mini Kit; QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)를 사용하여 total RNA를 추출하였으며, cDNA 합성 키트(PrimeScript™ 1st strand cDNA Synthesis Kit; Takara Bio Inc., Kusatsu, Japan)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 전염성조혈기괴사증 바이러스(infectious hematopoietic necrosis virus, IHNV)는 세계동물보건기구(WOAH) 수생동물 매뉴얼 표준 진단법을 참고하였으며, 전염성췌장괴사증 바이러스(infectious pancreatic necrosis virus, IPNV)는 Heppell et al. (1992)를 참고하여 PCR법으로 진단하였다(Table 1). 증폭된 산물은 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 밴드 유무를 판독하였다.

세균 분리 및 생화학적 성상 분석

임상 증상을 보이는 왕연어의 신장 및 비장을 백금이를 이용하여 tryptic soy agar (TSA; Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA)에 도말하였다. 증상을 나타낸 개체로부터 단일 집락을 순수 분리하였으며, 왕연어의 신장에서 4주(ASS-1, ASS-2, ASS-4, ASS-5), 비장에서 1주(ASS-3), 총 5주의 *A. salmonicida* 의심 균주를 확보하였다. 이후 20℃에서 24–48시간 동안 배양한 후, 순수 배양된 단일 집락를 확보하였으며 배양 과정 중 균주의 갈색 색소 생성 여부를 관찰하였다. 분리주의 생화학적 성상 분석은 생화학 동정 키트(API 20E; bioMérieux SA, Marcy-l'Étoile, France)를 이용하였다. 단일 집락를 제조사의 지침에 따라 멸균 생리식염수에 현탁한 후 키트에 접종하였으며, 20℃에서 24–48시간 배양한 뒤 각 항목의 반응 결과를 판정하였다.

분자생물학적 종 동정 및 계통분류학적 분석

분리주의 분자생물학적 종 동정을 위해 DNA 추출 키트(DNeasy Blood & Tissue Kit; QIAGEN GmbH)를 사용하

여 제조사의 매뉴얼에 따라 genomic DNA를 추출하였다. 16S rRNA 유전자 영역 및 ASS의 A-layer 관련 병원성 유전자 *vapA*를 대상으로 PCR 증폭을 수행하였다(Table 1). PCR 반응은 PCR 프리믹스(AccuPower® PCR PreMix; Bioneer Corp., Daejeon, Korea)를 사용하였으며, 프라이머(forward/reverse 각각 1 μL, 10 pmol/μL), 추출된 genomic DNA template 1 μL

Table 1. PCR primers used in this study

Target gene	Primer	Sequence (5′–3′)	Product size (bp)	Reference
IHNV	mid-G 1F	AGAGATCCCTACACCAGAGAC	693	WOAH (2021)
	mid-G 1R	GGTGGTGTTGTTTCCGTGCAA		
IPNV	P1	AGAGATCACTGACTTCACAAGTGAC	359	Heppell et al. (1992)
	P2	TGTGCACCACAGGAAAGATGACTC		
16S rRNA	27F	GAGTTTGATCCTGGCTCAG	1,465	Frank et al. (2008)
	1492R	GGTTACCTTGTTACGACTT		
vapA	vapA_F	TGAAGGCCAATTCAACGACG	308	Lund and Mikkelsen (2004)
	vapA_R	CTTGAGAACCGGAGGTCAGC		
aerA	aerA_F	CCCGCCGATCTGCAACCGGG	489	Pradhan et al. (2023)
	aerA_R	CTGGTCTGGATAGACGGGCTCTGCC		
act	act_F	AGAAGGTGACCACCAAGAACA	232	Pradhan et al. (2023)
	act_R	AACTGACATCGGCCTTGAACTC		
hlyA	hlyA_F	GGCCGGTGGCCCGAAGATACGGG	597	Pradhan et al. (2023)
	hlyA_R	GGCGGCGCCGGACGAGACGGG		
exsA	exsA_F	TACCACAGAGAAGGGCGATA	435	Pradhan et al. (2023)
	exsA_R	GCGAGCAGAAACAGCAACT		
carB	carB_F	TGCATCATCGTCTGCACCAT	1,000	This study (WP_408849656.1)
	carB_R	TCTTGTCACGATTGGTCGGG		
lon	lon_F	GAAATCGCCTCTGTGTCCGA	913	This study (WP_265449369.1)
	lon_R	GGATCACTTCCATCCGGTCC		
gmhA	gmhA_F	TGCCATGCATTTTGCCGAAG	334	This study (WP_050666141.1)
	gmhA_R	GTCGGCATAACCAAAGTGCG		
fur	fur_F	GCAGACAACAACCAAGCGTT	322	This study (WP_201892215.1)
	fur_R	GCTCGATCACTTCGTCGGAA		
rfbA	rfbA_F	AGCAACTGCTGCCCATCTAT	684	This study (WP_102988328.1)
	rfbA_R	GGCAAGCAACCTTCAATCCC		
dctA	dctA_F	ATTTTCAGGTGCTGCTTGCG	711	This study (WP_258119239.1)
	dctA_R	AACCATTTGCCCTGGCGATA		
mglA	mglA_F	GTAAAAGCTTTCCCGGCGTC	967	This study (WP_265448464.1)
	mglA_R	AGGGCGAAACCGTTCAAGAT		
rpoS	rpoS_F	GATGGCTCCGGAAGTCAACA	597	This study (WP_108611989.1)
	rpoS_R	CCCATTCCACGTTCGTCAGA		
purD	purD_F	AGGCCAAACACTCTCCACTG	997	This study (WP_212540070.1)
	purD_R	GGGGTGATTGCTGCTGTAGT		

IHNV, Infectious hematopoietic necrosis virus; IPNV, Infectious pancreatic necrosis virus; *aerA*, Aerolysin; *act*, Cytotoxic enterotoxin; *hlyA*, Hemolysin; *exsA*, Type III secretion system transcriptional regulator; *carB*, Carbamoyl-phosphate synthase large chain; *lon*, ATP-dependent protease La type I; *gmhA*, D-sedoheptulose 7-phosphate isomerase; *fur*, Ferric uptake regulation protein; *rfbA*, Glucose-1-phosphate thymidylyltransferase; *dctA*, Na^+/H^+-dicarboxylate symporter; *mglA*, Galactose/methyl galactoside ABC transporter ATP-binding protein; *rpoS*, RNA polymerase sigma factor RpoS; *purD*, Phosphoribosylamine-glycine ligase; *vapA*, Virulence array protein A.

및 nuclease-free water 17 μL를 혼합하여 총 반응액 20 μL로 조정하였다. 16S rRNA의 PCR 조건은 94℃ 5 min; 94℃ 30 s, 53℃ 30 s, 72℃ 1 min을 35 cycle; 72℃ 7 min 반응하였다. *vapA*의 PCR 조건은 95℃ 5 min; 95℃ 30 s, 50℃ 30 s, 72℃ 1 min을 30 cycle; 72℃ 7 min 반응하였다. 증폭된 PCR 산물은 ethidium bromide가 포함된 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 밴드를 확인한 후, Sanger sequencing 분석을 의뢰하였다. 판독된 염기서열은 NCBI의 BLAST를 통해 GenBank에 등록된 균주들의 염기서열과 비교하였다. 계통분류학적 위치를 규명하기 위해 MEGA 프로그램(ver. 11.0)을 활용하여 Clustal W로 염기서열을 정렬하였으며, neighbor-joining 법(bootstrap value: 1,000회 반복)을 적용하여 계통수를 분석하였다.

병원성 유전자 분석

분리주의 주요 병원성 유전자 13종 *aerA* (aerolysin), *act* (cytotoxic enterotoxin), *hlyA* (hemolysin), *exsA* (transcriptional regulator of type III secretion system, T3SS), *carB* (carbamoyl-phosphate synthase large chain), *lon* (ATP-dependent protease La type I), *gmhA* (D-sedoheptulose 7-phosphate isomerase), *fur* (ferric uptake regulation protein), *rfbA* (glucose-1-phosphate thymidylyltransferase), *dctA* (Na^+/H^+-dicarboxylate symporter), *mglA* (galactose/methyl galactoside ABC transporter ATP-binding protein), *rpoS* (RNA polymerase sigma factor RpoS) 및 *purD* (phosphoribosylamine-glycine ligase)의 증폭을 위해 PCR 프리믹스(AccuPower® PCR PreMix; Bioneer Corp.)를 사용하였다. Forward primer와 reverse primer 각각 1 μL (10 pmol/μL), RNase-free water 17 μL, template 1 μL를 혼합하여 총 20 μL가 되도록 수행하였다. PCR 증폭 조건은 분석 유전자에 따라 다르게 적용하였다(Table 1). *aerA*, *act*의 PCR 조건은 95℃ 5 min; 95℃ 30 s, 58℃ 30 s, 72℃ 30 s를 35 cycle; 72℃ 7 min 반응하였고, *hlyA*, *exsA*의 PCR 조건은 95℃ 5 min; 95℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 30 s를 35 cycle; 72℃ 7 min 반응하였다. *carB*, *lon*, *dctA*, *mglA*, *rpoS*, *purD*의 PCR 조건은 95℃ 5 min; 95℃ 30 s, 55℃ 1 min, 72℃ 1 min을 35 cycle; 72℃ 7 min 반응하였다. *gmhA*, *fur*, *rfbA*의 PCR 조건은 95℃ 5 min; 95℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 1 min을 35 cycle; 72℃ 7 min 반응하였다. 증폭된 PCR 산물은 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 밴드를 확인한 후, Sanger sequencing을 실시하였다. 얻어진 염기서열은 NCBI의 BLAST를 통해 GenBank에 등록된 균주들의 염기서열과 비교하였다.

항생제 감수성 검사

분리주의 항생제 감수성 정도를 확인하기 위해 CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) 가이드라인(VET03, VET04; CLSI, 2020a, 2020b)에 따라 액체배지희석법으로 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 분석하였다. MIC 측정에는 11종의 수산용 주요 항생제가 농도별로 단계 희석된 맞춤형 패널(Sensititre™ KRAQ3 and KRAQ4; Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)을 사용하였다. 검사 대상 항생제 및 최종 농도 범위는 amoxicillin 0.06–16 μg/mL, ampicillin 0.25–128 μg/mL, ceftiofur 0.03–32 μg/mL, doxycycline 0.12–128 μg/mL, enrofloxacin 0.03–32 μg/mL, florfenicol 0.06–64 μg/mL, flumequine 0.12–128 μg/mL, nalidixic acid 0.5–64 μg/mL, oxolinic acid 0.5–32 μg/mL, oxytetracycline 0.12–256 μg/mL, trimethoprim/sulfadiazine 0.12/2.38–16/304 μg/mL이었다. TSA에서 순수 배양된 균주의 집락을 멸균 생리식염수에 현탁하고 0.5 McFarland 농도로 조정하였다. 현탁액은 cation-adjusted Mueller–Hinton broth (Thermo Fisher Scientific Inc.)에 접종 시 5×10^5 CFU/mL이 되도록 희석하였다. 그 후 항생제 감수성 검사 패널에 희석된 균 현탁액 100 μL를 접종한 후, 밀봉하여 22℃에서 24시간 배양하였다. 배양 후 육안으로 세균의 증식이 완전하게 억제된 최저 항생제 농도를 MIC 값으로 판독하였다. 시험의 정도 관리를 위해 표준 정도관리 균주인 *Escherichia coli* ATCC 25922를 동일한 조건으로 동시 검사하였으며, 모든 대상 항생제의 MIC 값이 CLSI 허용 범위 내에 부합함을 확인하였다.

병리조직 분석

병변이 관찰된 왕연어의 주요 장기 조직은 10% 중성 완충 포르말린(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)에 24시간 이상 고정하였다. 고정된 조직은 농도별 에탄올 수열(70–100%)에서 탈수하고, 자일렌 투명화 과정을 거친 후, 파라핀에 매몰하였다. 파라핀 블록은 조직절편기(RM2235; Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Germany)를 활용하여 4–5 μm 두께로 박절하였다. 제작된 조직 절편은 hematoxylin and eosin (H&E) 염색을 실시하였으며, 봉입 후 광학현미경(BX53; Olympus Corp.)을 사용하여 조직병리학적 병변 및 조직학적 변화를 관찰 및 분석하였다.

결 과

임상 증상 및 해부학적 관찰

ASS에 자연 감염된 왕연어(*O. tshawytscha*)의 육안적 임상증상 및 해부학적 관찰 결과, 절창병의 전형적인 외형적 병변과 내부 장기의 출혈성 소견이 확인되었다(Fig. 1). 외형적으로는 체표 곳곳에서 점상의 출혈이 관찰되었으며(Fig. 1A), 복부 기저부 및 항문 주변 부위의 발적과 함께 현저한 항문 출혈이 확인되었다(Fig. 1B). 복강 해부 시 내부 장기에서는 비장의 비대 및 비장 표면의 국소적 출혈성 괴사 병변과 더불어 복강 내에 출혈성 복수가 관찰되었다(Fig. 1C). 현미경 검경과 분자적 진단을 통해 기생충, 전염성조혈기괴사증 바이러스(IHNV) 및 전염성췌장괴사증 바이러스(IPNV)에 감염되지 않았음을 확인하였다.

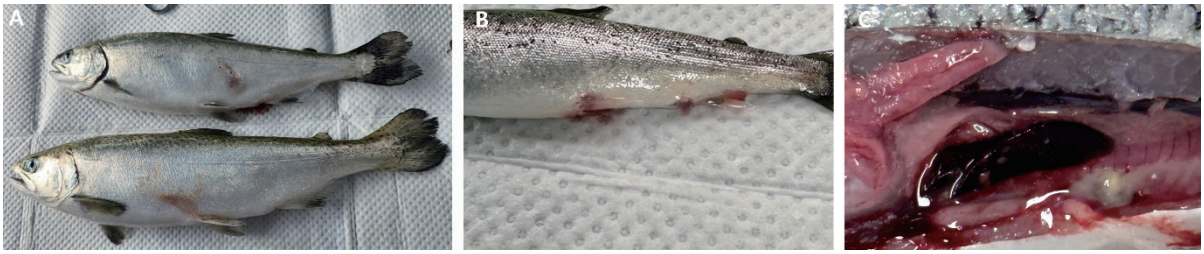


Fig. 1. Gross clinical signs and internal lesions of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) clinically diseased with *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*. (A) External view of infected fish exhibiting cutaneous hemorrhage on the body surface. (B) Marked hemorrhages around the anus and ventral area. (C) Internal organs showing splenic ulceration, enlargement, and accumulation of hemorrhagic ascites in the abdominal cavity.

생화학적 성상 분석

왕연어 유래 분리주 5주(ASS-1–ASS-5)는 TSA 평판배지에서 20°C 배양 시 배지 내로 갈색 수용성 색소를 확산 생성하는 전형적인 배양학적 성상을 나타내었다. 분리주를 대상으로 생화학적 성상을 분석한 결과, 모든 분리주는 oxidase, gelatinase (ASS-5 제외) 및 tryptophan deaminase 반응에서 양성을 나타내었으며, indole 생성, H_2S 생산, urease, lysine decarboxylase 등 주요 항목에서는 음성을 기록하여 전형적인 *A. salmonicida*의 성상 특성을 나타냈다(Table 2). ASS-1 및 ASS-3 균주는 glucose, mannitol, sucrose를 모두 이용하는 전형적인 양상을 보였으나, ASS-2 및 ASS-4 균주는 glucose 시험에서 음성 반응을 보였다. 한편, ASS-5 균주는 젤라틴 액화능 미보유와 함께 시험한 모든 당류(glucose, mannitol, sucrose 포함) 이용성 시험에서 음성을 나타내어, 타 분리주에 비해 생화학적 활성도가 전반적으로 저하된 약한 반응 양상을 나타내었다.

계통분류학적 분석

왕연어에서 분리된 5주(ASS-1–ASS-5)를 대상으로 *vapA* 및 16S rRNA 유전자의 염기서열을 분석한 결과, 5개 분리주 모두 100% 완벽히 일치하는 염기서열 상동성을 나타내었다. 16S rRNA 염기서열은 *A. salmonicida* 표준 균주와 99% 일치하였다. 이에 따라 염기서열이 동일한 분리주들을 대표하여 ASS-4를 대표 분리주로 지정하고 계통분류학적 유연관계를 분석하였다. 그 결과, 왕연어 유래 균주 ASS-4는 GenBank에 등록된 전형적 ASS 표준 균주들과 동일한 클러스터를 형성하였다(Fig. 2). 특히, 분리주 ASS-4는 ASS KP184534.1 주와 가장 높은 유전적 상동성을 보이며 단일 분지로 묶였고, 노드의 bootstrap 값은 99%로 매우 높은 신뢰도를 나타내었다. 또한 KU900580.1, KU900581.1, OP205317.1, MN166624.1, GU734698.1 등 전 세계적으로 보고된 전형적 ASS 균주들과 단일 그룹을 이루어 유전적으로 동일 아종임을 확인하였다. 반면, 비정형 *A. salmonicida* 아종인 *A. salmonicida* subsp. *achromogenes* (AJ749879.1, AM937255.1), *A. salmonicida* subsp. *smithia* (AJ749880.1) 및 *A. salmonicida* subsp. *masoucida* (AJ749883.1, OK300094.1 등) 주군들과는 독립된 분지를 형성하여 유전적으로 명확히 구별되는 양상을 보였다. 이러한 결과는 본 연구에서 분리된 균주가 유전적으로 전형적 ASS의 특성을 명확히 보유하고 있음을 보여준다.

Table 2. Biochemical profile of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* isolates from Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) determined by API 20E kit

API 20E	ASS -1	ASS -2	ASS -3	ASS -4	ASS -5
ONPG (*β*-galactosidase)	-	-	-	-	-
ADH (Arginine dihydrolase)	-	-	-	-	-
LDC (Lysine decarboxylase)	-	-	-	-	-
ODC (Ornithine decarboxylase)	-	-	-	-	-
CIT (Citrate utilization)	-	-	-	-	-
H_2S (H_2S production)	-	-	-	-	-
URE (Urease)	-	-	-	-	-
TDA (Tryptophan deaminase)	+	+	+	+	+
IND (Indole production)	-	-	-	-	-
VP (Voges–Proskauer)	-	-	-	-	-
GEL (Gelatinase)	+	+	+	+	-
GLU (Glucose)	+	-	+	-	-
MAN (Mannitol)	+	+	+	+	-
INO (Inositol)	-	-	-	-	-
SOR (Sorbitol)	-	-	-	-	-
RHA (Rhamnose)	-	-	-	-	-
SAC (Sucrose)	+	+	+	+	-
MEL (Melibiose)	-	-	-	-	-
AMY (Amygdalin)	-	-	-	-	-
ARA (Arabinose)	-	-	-	-	-
OX (Cytochrome oxidase)	+	+	+	+	+

+, Positive reaction; -, Negative reaction.

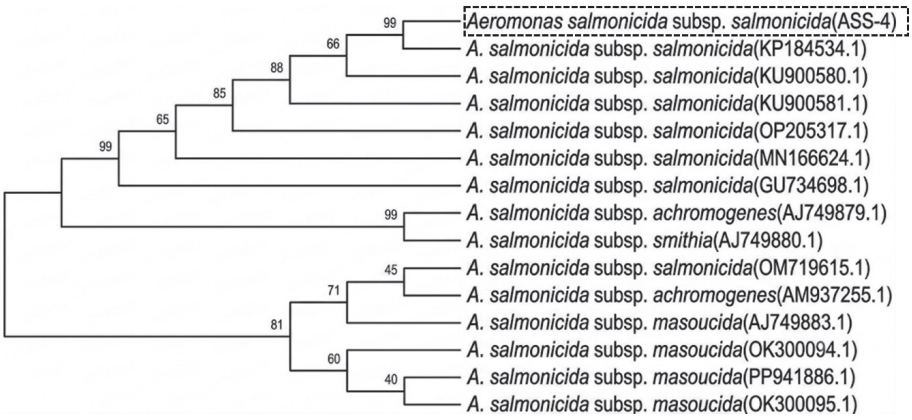


Fig. 2. Neighbor-joining phylogenetic tree based on *vapA* gene sequences showing the evolutionary relationship of the Chinook salmon isolate with other *Aeromonas salmonicida* subspecies. GenBank accession numbers of reference strains are shown in parentheses. Bootstrap values (based on 1,000 replications) are indicated at each node. The isolate from this study is designated as ASS-4 at the top branch.

병원성 유전자

왕연어에서 분리된 ASS 5주(ASS-1–ASS-5)를 대상으로 세포외 독소, T3SS 조절 인자, 균체 항원 및 대사 관련 주요 병원성 유전자 13종(*aerA*, *act*, *hlyA*, *exsA*, *carB*, *lon*, *gmhA*, *fur*, *rfbA*, *dctA*, *mglA*, *rpoS*, *purD*)의 보유 여부를 스크리닝하였다(Table 3). ASS-2, ASS-3, ASS-4 및 ASS-5 균주는 검사된 13종의 병원성 유전자를 모두 보유하여 100%의 양성률을 나타내었다. 반면, ASS-1 균주는 *exsA* (T3SS transcriptional regulator) 유전자를 제외한 12종의 유전자만을 보유하고 있는 것으로 확인되었다. 증폭된 각 병원성 유전자의 염기서열을 NCBI BLAST를 통해 표준 균주(ASS NCIMB 1102 등)의 유전체 서열과 비교·분석한 결과, 모든 증폭 산물은 99–100%의 query coverage와 99.0–100.0%의 높은 염기서열 상동성을 나타내어 비특이 증폭이 아닌 표적 병원성 인자임이 유전학적으로 확인되었다(Table S1).

항생제 감수성 및 내성 평가

왕연어에서 분리된 ASS 5주(ASS-1–ASS-5)를 대상으로 수산용 항생제 11종에 대한 MIC를 측정하고, CLSI 가이드라인의 *A. salmonicida* 내성 판정 기준(breakpoint)을 적용하여 oxolinic acid 및 oxytetracycline의 감수성(S), 중간(I) 및 내성(R) 여부를 평가하였다(CLSI, 2020b; Table 4). ASS-1 균주의 경우 대부분의 항생제에 대해 매우 낮은 MIC 값을 보여 높은 항생제 감수성을 나타내었다. Doxycycline (≤0.12 μg/mL), enrofloxacin (≤0.03 μg/mL) 및 trimethoprim/sulfadiazine (≤0.12/2.38 μg/mL)에서 최저 측정 농도 이하의 MIC를 기록하였고, oxytetracycline (≤0.12 μg/mL)은 감수성(S) 범주에 해당하였다. 반면 ASS-1의 oxolinic acid MIC (≤0.5 μg/mL)의 경우, 패널의 최저 시험 농도(0.5 μg/mL)로 인해 감수성 기준(≤0.12 μg/mL)과의 직접 부합 여부를 확정할 수 없었으나, 내성 기준(≥1 μg/mL) 미만인 비내성 범위에 해당함을 확인하였다. ASS-2, ASS-3, ASS-4 균주는 CLSI 기준에 의거하여 oxolinic

Table 3. Detection of 13 virulence and metabolism-related genes in *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* isolates recovered from farmed Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)

	aerA	*act*	*hlyA*	*exsA*	*carB*	*lon*	*gmhA*	*fur*	*rfbA*	*dctA*	*mglA*	*rpoS*	*purD*
ASS-1	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ASS-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ASS-3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ASS-4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ASS-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

aerA, Aerolysin; *act*, Cytotoxic enterotoxin; *hlyA*, Hemolysin; *exsA*, Type III secretion system transcriptional regulator; *carB*, Carbamoyl-phosphate synthase large chain; *lon*, ATP-dependent protease La type I; *gmhA*, D-sedoheptulose 7-phosphate isomerase; *fur*, Ferric uptake regulation protein; *rfbA*, Glucose-1-phosphate thymidylyltransferase; *dctA*, Na^+/H^+-dicarboxylate symporter; *mglA*, Galactose/methyl galactoside ABC transporter ATP-binding protein; *rpoS*, RNA polymerase sigma factor RpoS; *purD*, Phosphoribosylamine-glycine ligase; +, Positive; -, Negative.

acid (4 μg/mL) 및 oxytetracycline (8 μg/mL)에 대해 내성(R)으로 판정되었다. 공식적인 임상 breakpoint가 설정되지 않은 florfenicol (32 μg/mL), flumequine (8 μg/mL), nalidixic acid (32 μg/mL) 등에 대해 ASS-2, ASS-3, ASS-4 균주는 감수성 양상을 보인 ASS-1에 비해 현저히 상승된 MIC 값을 나타내어 약제별 노출에 따른 균주 간 감수성 격차를 나타내었다. ASS-5 균주의 경우 oxolinic acid (1 μg/mL)는 내성(R), oxytetracycline (2 μg/mL)은 중간(I)으로 판정되어, ASS-2–ASS-4 균주와는 상이한 항생제 감수성 특성을 보였다. 또한 amoxicillin (2 μg/mL), ampicillin (2 μg/mL) 등 β-lactam계와 trimethoprim/sulfadiazine (4/76 μg/mL)에서 타 분리주 대비 상대적으로 높은 MIC 수치를 나타내어 균주 간 표현형적 항생제 반응의 다변성을 확인하였다.

병리조직 분석

ASS에 감염된 왕연어의 주요 장기(아가미, 간, 비장, 신장, 위, 심장)에 대한 H&E 염색 병리조직 관찰 결과, 전신에 걸친 국소적 또는 다발성의 염증성 반응과 조직 손상이 확인되었다(Fig. 3). 아가미 조직에서는 1차 새엽(primary gill lamellae) 상피층 부위에서 국소적인 염증세포 침윤(inflammatory cell infiltration)이 관찰되었다(Fig. 3A). 간 조직의 경우 간실질 내 주요 혈관(vessels) 및 담관(bile ducts) 주위로 다량의 염증세포가 집적된 양상이 확인되었다(Fig. 3B). 비장에서는 협조직(ellipsoid sheath, e) 주변을 중심으로 국소적 괴사 및 림프구·대식세포 침윤과 울혈이 동반되었다(Fig. 3C). 신장 조직에서는 세뇨관 상피세포(renal tubular epithelial cells) 내에서 호산성의 집적으로 인한 유리질적 변성(hyaline droplet degeneration)이 부분적으로 관찰되었다(Fig. 3D). 소화관(위) 조직 관찰 결과, 위벽 자체의 구조적 파손보다는 소화관 외벽을 둘러싸고 있는 장간막(mesentery) 부위에서 현저한 염증세포 침윤이 관찰되었다(Fig. 3E). 심장 조직에서는 심근실질보다 외곽의 심외막(epicardium) 영역을 따라 띠 형태의 국소적 염증세포 침윤(epicar-

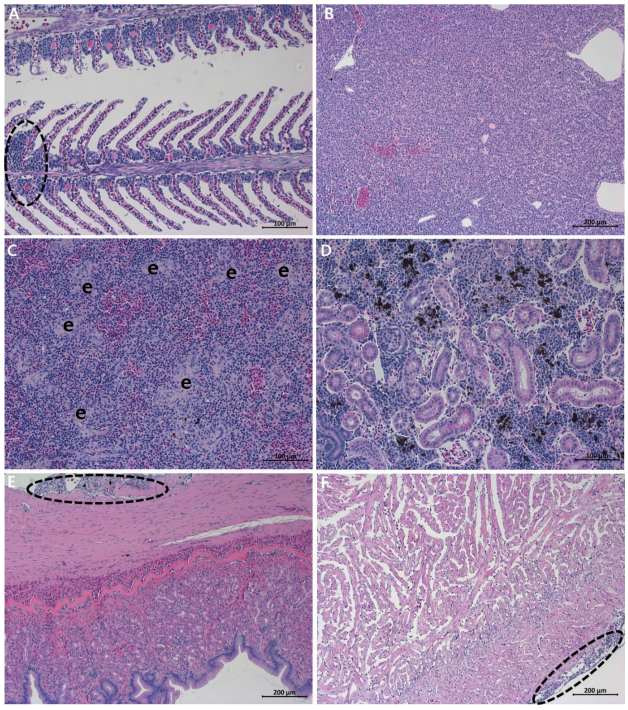


Fig. 3. Histopathological features of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) clinically diseased with *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*. (A) Gills showing local inflammatory cell infiltration in the primary gill lamella (dotted oval). Scale bar=100 μm. (B) Liver displaying increased infiltration of inflammatory cells around blood vessels and bile ducts. Scale bar=200 μm. (C) Spleen showing notable inflammatory cell infiltration around the ellipsoids (e). Scale bar=100 μm. (D) Kidney displaying hyaline droplet degeneration. Scale bar=100 μm. (E) Stomach showing marked inflammatory cell infiltration in the surrounding mesentery (dotted oval). Scale bar=200 μm. (F) Heart exhibiting focal inflammatory cell infiltration along the epicardium (dotted oval). Scale bar=200 μm. All sections were stained with hematoxylin and eosin.

Table 4. Minimum inhibitory concentration (MIC) values and susceptibility patterns of 11 antimicrobial agents against *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* isolates from Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)

	Antibiotics MIC (μg/mL)										
	AMOX	AMP	XNL	DOX	ENRO	FFN	FLUQ	NAL	OXO	OTC	TBR
ASS-1	0.5	≤0.25	0.12	≤0.12	≤0.03	0.25	0.25	1	≤0.5	≤0.12 [S]	≤0.12/2.38
ASS-2	0.5	0.5	0.25	1	0.5	32	8	32	4 [R]	8 [R]	≤0.12/2.38
ASS-3	0.5	0.5	0.25	2	1	32	8	32	4 [R]	8 [R]	≤0.12/2.38
ASS-4	0.5	0.5	0.25	1	1	32	8	32	4 [R]	8 [R]	≤0.12/2.38
ASS-5	2	2	0.5	0.5	0.25	8	2	16	1 [R]	2 [I]	4/76

AMOX, Amoxicillin; AMP, Ampicillin; XNL, Ceftiofur; DOX, Doxycycline; ENRO, Enrofloxacin; FFN, Florfenicol; FLUQ, Flumequine; NAL, Nalidixic acid; OXO, Oxolinic acid; OTC, Oxytetracycline; TBR, Trimethoprim/sulfadiazine; S, Susceptible; I, Intermediate; R, Resistant. Susceptibility (oxolinic acid and oxytetracycline) was categorized according to CLSI VET04 breakpoints (CLSI, 2020b) for *Aeromonas salmonicida*.

ditis)이 관찰되었다(Fig. 3F).

고 찰

본 연구는 국내 양식 왕연어(*O. tshawytscha*)에서 분리된 ASS의 최초 사례를 보고하고, 분리주의 임상·병리학적 병변, 생화학적 성상, 분자계통분류학적 위치 및 항생제 감수성 특성을 종합적으로 규명하고자 수행되었다.

왕연어는 태평양연어속 어류 중 상업적 가치가 높고 성장성이 뛰어난 어종이나(Quiñones et al., 2019), 타 연어과 어류에 비해 ASS에 대한 민감성이 유의하게 높은 것으로 알려져 있다(Diamanka et al., 2013). ASS에 감염된 왕연어의 체표 및 항문 부위의 출혈성 발적, 비장 비대 및 실질의 국소 괴사성 병변, 출혈성 복수 등의 병변은 전형적인 절창병의 임상적 특징과 일치한다(Du et al., 2015; Lagadec et al., 2024). 특히 복부 기저부의 현저한 항문 출혈과 비장 표면의 국소적 출혈성 괴사 병변 소견은 ASS 감염으로 인한 전신성 패혈증이 유발되었을 것으로 판단된다(Park et al., 2020).

병리조직학적 관찰 결과, 왕연어의 전신 주요 장기에서 국소적 또는 다발성의 염증 반응과 퇴행성 병변이 확인되었다. 아가미 상피층과 간실질 내 혈관 및 담관 주위의 염증세포 침윤, 비장 협조직 주변의 림프구 집적 및 울혈은 혈행성 경로를 통해 체내로 이행된 병원체에 대한 숙주 조직의 염증 반응을 반영하는 것으로 해석된다(Ringø et al., 2004). 신장 세뇨관 상피세포의 국소적 단백질성 변성은 감염 과정에서 유발된 상피세포의 기능적 부담 및 세포 변성 소견과 부합하며, 심외막 및 소화관 외벽 장간막을 중심으로 확인된 염증세포 침윤은 복강 내 장막 표면의 삼출성 반응 및 복수 저류와 연관이 있는 병리학적 특징으로 판단된다. 이러한 병리조직학적 변화는 ASS가 분비하는 단백질 분해효소나 용혈소 등의 세포외 독력 인자와 이에 따른 숙주의 염증 반응이 국소 미세순환계의 투과성 항진 및 장막 주변의 염증세포 집적을 유도한 데서 기인한 것으로 사료된다(Ringø et al., 2007; Qin et al., 2025).

분자생물학적 종 동정 결과, 분리주 ASS-4는 A-layer 단백질 암호화 특이 유전자인 *vapA* 증폭 및 16S rRNA 염기서열 분석을 통해 전형적 ASS로 확정되었다. 계통수 분석에서 본 연구의 분리주는 해외 다양한 지역에서 보고된 전형적 ASS 표준 균주들(KP184534.1, KU900580.1 등)과 높은 신뢰도(bootstrap 99%)로 단일 클러스터를 형성한 반면, 비정형 아종인 *A. salmonicida* subsp. *achromogenes*, subsp. *smithia*, subsp. *masoucida* 그룹과는 유전적으로 명확히 구별되었다. 이는 국내 양식 왕연어에서 발생한 병원체가 보체 저항성 및 전파력이 높은 전형적 ASS 균주임을 분자계통학적으로 입증한다.

생화학적 성상 분석에서는 분리주(ASS-1, ASS-3)가 oxidase 양성, indole 음성 등 전형적인 ASS의 생화학적 반응 양상을 나타내었으나, 일부 분리주(ASS-2, ASS-4, ASS-5)의 경우 glucose 이용성 음성 또는 당 이용성 전반의 활성 저하 현상이 관찰되었다. 이와 같은 미세한 표현형적 차이는 동일 양식장 내에서 분리된 균주 간에도 생리적 활성에 차이가 존재함을 보여주며, 이는 사육 환경 스트레스나 균주의 계통적 차이에 따른 대사 유전자 발현 차이에 기인한 것으로 추정된다(Hänninen et al., 1995; Diamanka et al., 2013).

주요 병원성 유전자 13종에 대한 분석에서는 국내 양식 왕연어에서 분리된 ASS 균주들이 숙주 체내 정착 및 전신 패혈증 유발에 필요한 핵심 유전적 병원성 인자군을 모두 보유하고 있음을 나타내었다. 특히, *gmhA*와 *rfbA*는 ASS 표면 지질다당류의 성분과 O-항원 생합성에 필수적인 효소를 암호화하는 유전자로, 숙주 혈청 보체의 용균 작용에 대한 저항성과 식세포 작용을 회피하게 만드는 대표적인 핵심 요소이다. 이는 본 분리주들이 혈류 내에서 파괴되지 않고 급성 패혈증을 유발할 수 있는 주요 유전적 요인으로 작용할 가능성을 제시한다. 숙주 내 영양분 획득 및 증식과 관련된 *carB* 및 *purD*, TCA cycle 기질 및 당 자원 흡수와 관련된 *dctA*, *mglA*, 철분 포집 및 스트레스 반응 관련 *fur*, *lon*, *rpoS* 같은 핵심 병원성 유전자군이 분리주 유전체에 유전적으로 보존되어, 병원성 기전을 유기적으로 지원할 수 있는 것으로 추정된다.

항생제 감수성 평가 결과는 국내 연어류 양식 현장에서의 효과적인 항생제 선택과 치료에 대한 필요성을 시사한다. ASS-2, ASS-3, ASS-4는 oxolinic acid (4 μg/mL) 및 oxytetracycline (8 μg/mL)에 대해 CLSI 가이드라인 기준 높은 내성(R)을 나타내었으며, florfenicol 및 flumequine에서도 높은 MIC 수치를 기록하였다. *A. salmonicida*의 oxytetracycline 및 퀴놀론계 항생제 내성은 해외 양식 현장에서도 심각한 문제로 보고되고 있으며(Schmidt et al., 2001; McIntosh et al., 2008), 이러한 내성 균주의 지속적인 출현은 항생제를 통한 질병 제어의 한계를 명확히 보여준다(Kim et al., 2011). 국내 수산 환경 및 연어과 어류(무지개송어, 산천어(*Oncorhynchus masou masou*), 연어(*Oncorhynchus keta*) 등)에서 분리된 *A. salmonicida*의 항생제 내성 패턴을 분석한 선행 연구(Kim et al., 2011)에 따르면, 당시 분리주들은 oxytetracycline 및 oxolinic acid에 대한 높은 내성을 나타낸 반면, florfenicol에 대해서는 전 균주가 감수성(MIC 0.12–2 μg/mL)을 유지하고 있었다. 그러나 본 연구의 왕연어 유래 분리주 중 ASS-2, ASS-3, ASS-4 균주는 oxytetracycline (8 μg/mL) 및 oxolinic acid (4 μg/mL) 내성과 더불어 florfenicol에서도 32 μg/mL의 높은 MIC 값을 나타내었다. ASS-1 균주는 대부분의 항생제에 감수성을 보였고, ASS-5는 oxolinic acid에 내성(R), oxytetracycline에 중간(I) 수준을 나타내어 동일 발생지 내에서도 항생제 감수성 결과가 상이하였다. 따라서 현장에서 항생제 투약 시 반드시 감수성 검사에 기반한 철저한 항생제 선정이 요구된다.

ASS는 감염 초기 임상 증상이 발현되기 전 약 3–4일의 잠복기부터 수중으로 다량의 세균을 방출하여 사육수 내 수평 전파를 급격하게 유발하는 대표적인 고위험 병원체이다(Ogut and

Reno, 2005). 특히 유수식 수조 내 고밀도 사육 조건은 개체 간 병원체 전파 위험을 극대화하므로, 수질 환경 관리, 사육 밀도 조절, 급이 관리 및 모니터링 강화를 포함한 종합적 질병 관리 체계로의 전환이 시급하다.

결론적으로, 본 연구는 국내 육상 유수식 양식 왕연어에서 절창병 원인균인 전형적 ASS의 자연 감염 사례를 최초로 보고하고, 심외막염 등 병리조직 손상 양상, 13종 독력·대사 인자의 보존성, 그리고 균주 간 표현형 및 약제 내성 다변성을 종합적으로 규명하였다. 본 연구 결과는 향후 국내 연어과 어류 양식 산업에서 발생할 수 있는 절창병의 조기 진단, 예방 백신 개발 및 맞춤형 질병 제어 전략 수립을 위한 핵심 기초 자료로 유용하게 활용될 것으로 기대된다.

사 사

이 연구는 국립수산과학원 수산과학연구사업「연어류 맞춤형 백신 개발(2026)」(R2026061)에 의해 수행되었습니다.

References

Brennan JS, Higgins KF, Cordell JR and Stamatiou VA. 2004. Juvenile salmon composition, timing, distribution, and diet in marine nearshore waters of central Puget Sound in 2001-2002. King County Department of Natural Resources and Parks, Seattle, WA, U.S.A., 1-164.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2020a. Methods for Antimicrobial Broth Dilution and Disk Diffusion Susceptibility Testing of Bacteria Isolated From Aquatic Animals. 2nd ed. CLSI guideline VET03. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, U.S.A.

CLSI. 2020b. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacteria Isolated From Aquatic Animals. 3rd ed. CLSI supplement VET04. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, U.S.A.

Dallaire-Dufresne S, Tanaka KH, Trudel MV, Lafaille A and Charette SJ. 2014. Virulence, genomic features, and plasticity of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, the causative agent of fish furunculosis. Vet Microbiol 169, 1-7. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.06.025.

Desbois AP, Cook KJ and Buba E. 2020. Antibiotics modulate biofilm formation in fish pathogenic isolates of atypical *Aeromonas salmonicida*. J Fish Dis 43, 1373-1379. https://doi.org/10.1111/jfd.13232.

Diamanka A, Loch TP, Cipriano RC and Faisal M. 2013. Polyphasic characterization of *Aeromonas salmonicida* isolates recovered from salmonid and non-salmonid fish. J Fish Dis 36, 949-963. https://doi.org/10.1111/jfd.12092.

Du Y, Yi M, Xiao P, Meng L, Li X, Sun G and Liu Y. 2015. The impact of *Aeromonas salmonicida* infection on innate immune parameters of Atlantic salmon (*Salmo salar* L). Fish Shellfish Immunol 44, 307-315. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.02.029.

Frank JA, Reich CI, Sharma S, Weisbaum JS, Wilson BA and Olsen GJ. 2008. Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S rRNA genes. Appl Environ Microbiol 74, 2461-2470. https://doi.org/10.1128/AEM.02272-07.

Hänninen ML, Ridell J and Hirvelä-Koski V. 1995. Phenotypic and molecular characteristics of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* isolated in southern and northern Finland. J Appl Microbiol 79, 12-21. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1995.tb03118.x.

Heppell J, Berthiaume L, Tarrab E, Lecomte J and Arella M. 1992. Evidence of genomic variations between infectious pancreatic necrosis virus strains determined by restriction fragment profiles. J Gen Virol 73, 2863-2870. https://doi.org/10.1099/0022-1317-73-11-2863.

Kim JH, Hwang SY, Son JS, Han JE, Jun JW, Shin SP, Choresca Jr C, Choi YJ, Park YH and Park SC. 2011. Molecular characterization of tetracycline- and quinolone-resistant *Aeromonas salmonicida* isolated in Korea. J Vet Sci 12, 41-48. https://doi.org/10.4142/jvs.2011.12.1.41.

Kim Y and Kim PK. 2022. Effects of photoperiods and body size on the off-season smolt production of Atlantic salmon *Salmo salar* in a recirculating aquaculture system. Korean J Fish Aquat Sci 55, 894-902. https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0894.

Lagadec E, Mjølnerød EB, Jensen ØM, Plarre H and Nylund A. 2024. Multiple *Aeromonas* strains isolated from Atlantic salmon (*Salmo salar*) displaying red skin disease signs in Scandinavian rivers. J Fish Dis 47, e13870. https://doi.org/10.1111/jfd.13870.

Lund V and Mikkelsen H. 2004. Genetic diversity among A-proteins of atypical strains of *Aeromonas salmonicida*. Dis Aquat Organ 61, 257-262. https://doi.org/10.3354/dao061257.

McIntosh D, Cunningham M, Ji B, Fekete FA, Parry EM, Clark SE, Zalinger ZB, Gilg IC, Danner GR, Johnson KA, Beattie M and Ritchie R. 2008. Transferable, multiple antibiotic and mercury resistance in Atlantic Canadian isolates of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* is associated with carriage of an IncA/C plasmid similar to the *Salmonella enterica* plasmid pSN254. J Antimicrob Chemother 61, 1221-1228. https://doi.org/10.1093/jac/dkn123.

Ogut H and Reno PW. 2005. Evaluation of an experimental *Aeromonas salmonicida* epidemic in chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). J Fish Dis 28, 263-269. https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2005.00626.x.

Park SY, Han JE, Kwon H, Park SC and Kim JH. 2020. Recent insights into *Aeromonas salmonicida* and its bacteriophages in aquaculture: A comprehensive review. J Microbiol Biotechnol 30, 1443-1457. https://doi.org/10.4014/

jmb.2005.05040.
Pirhonen J, Schreck CB, Reno PW and Ögüt H. 2003. Effect of fasting on feed intake, growth and mortality of chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, during an induced *Aeromonas salmonicida* epizootic. Aquaculture 216, 31-38. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00435-0.
Pradhan SK, Devi R, Khan MIR, Kamilya D, Gon Choudhury T and Parhi J. 2023. Isolation of *Aeromonas salmonicida* subspecies *salmonicida* from aquaculture environment in India: Polyphasic identification, virulence characterization, and antibiotic susceptibility. Microb Pathog 179, 106100. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106100.
Qin X, Li Z, Guo J, Bai F and Ling X. 2025. Beyond fish pathogens: A comprehensive overview of *Aeromonas salmonicida*. Microbiol Res 16, 157. https://doi.org/10.3390/microbiolres16070157.
Quiñones RA, Fuentes M, Montes RM, Soto D and León-Muñoz J. 2019. Environmental issues in Chilean salmon farming: A review. Rev Aquac 11, 375-402. https://doi.org/10.1111/raq.12337.
Ringø E, Jutfelt F, Kanapathippillai P, Bakken Y, Sundell K, Glette J, Mayhew TM, Myklebust R and Olsen RE. 2004. Damaging effect of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* ssp. *salmonicida* on intestinal enterocytes of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Cell Tissue Res 318, 305-311. https://doi.org/10.1007/s00441-004-0934-2.
Ringø E, Salinas I, Olsen RE, Nyhaug A, Myklebust R and Mayhew TM. 2007. Histological changes in intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) following in vitro exposure to pathogenic and probiotic bacterial strains. Cell Tissue Res 328, 109-116. https://doi.org/10.1007/s00441-006-0323-0.
Romstad AB, Reitan LJ, Midtlyng P, Gravningen K and Evensen Ø. 2013. Antibody responses correlate with antigen dose and in vivo protection for oil-adjuvanted, experimental furunculosis (*Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*) vaccines in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and can be used for batch potency testing of vaccines. Vaccine 31, 791-796. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.11.069.
Schmidt AS, Bruun MS, Dalsgaard I and Larsen JL. 2001. Incidence, distribution, and spread of tetracycline resistance determinants and integron-associated antibiotic resistance genes among motile aeromonads from a fish farming environment. Appl Environ Microbiol 67, 5675-5682. https://doi.org/10.1128/AEM.67.12.5675-5682.2001.
WOAH (World Organisation for Animal Health). 2021. Chapter 2.3.5. Infection with infectious haematopoietic necrosis virus. In: Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals. WOAH, Paris, France. Retrieved from https://www.woah.org/en/disease/infectious-haematopoietic-necrosis/ on July 1, 2026.

Table S1. Molecular confirmation and sequence similarity of 13 virulence- and metabolism-related genes in *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* isolates from Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)

Target gene	Encoded protein function	Reference strain (accession no.)	Amplicon size (bp)	Query cover (%)	Identity (%)	Positive rate (*n*=5)
aerA	aerolysin	*Aeromonas salmonicida* NCIMB 1102 (OY731355.1)	489	100	100	5/5 (100%)
act	cytotoxic enterotoxin	*A. salmonicida* NCIMB 1102 (OY731355.1)	232	100	100	5/5 (100%)
hlyA	hemolysin	*A. salmonicida* NCIMB 1102 (OY731355.1)	597	100	100	5/5 (100%)
exsA	Type III secretion system transcriptional regulator	*A. salmonicida* NCIMB 1102 (OY731355.1)	435	100	100	4/5 (80%)
carB	carbamoyl-phosphate synthase large chain	*A. salmonicida* NCIMB 1102 (OY731355.1)	1,000	100	100	5/5 (100%)
lon	ATP-dependent protease La type I	*A. salmonicida* ASA04 (CP139915.1)	913	100	100	5/5 (100%)
gmhA	D-sedoheptulose 7-phosphate isomerase	*A. salmonicida* SAIC94 (OY731392.1)	334	100	100	5/5 (100%)
fur	ferric uptake regulation protein	*A. salmonicida* ASA04 (CP139915.1)	322	100	100	5/5 (100%)
rfbA	glucose-1-phosphate thymidylyltransferase	*A. salmonicida* ASA04 (CP139915.1)	684	100	100	5/5 (100%)
dctA	Na^+/H^+-dicarboxylate symporter	*A. salmonicida* ASA04 (CP139915.1)	711	100	100	5/5 (100%)
mglA	galactose/methyl galactoside ABC transporter ATP-binding protein	*A. salmonicida* ASA04 (CP139915.1)	967	100	99.87	5/5 (100%)
rpoS	RNA polymerase sigma factor RpoS	*A. salmonicida* NCIMB 1102 (OY731355.1)	597	100	100	5/5 (100%)
purD	phosphoribosylamine-glycine ligase	*A. salmonicida* ASA04 (CP139915.1)	997	100	100	5/5 (100%)