Check for updates

JFMSE, 38(5), pp. 1028~1039, 2026.
수산해양교육연구, 제38권 제5호, 통권143호, 2026.
www.ksfme.or.kr
https://doi.org/10.13000/JFMSE.2026.10.38.5.1028

한국산 양식 메기 (*Silurus asotus*)에서 분리된 *Aeromonas veronii*의 동정 및 병원성 특성

김민수 · 강인선* · 임상범* · 김무현* · 강남이** · 최민순†
국립군산대학교(연구원 · *학생 · †교수) ·
**전북특별자치도 수산기술연구소 민물고기연구센터(연구사)

Identification and Pathogenic Characterization of *Aeromonas veronii* Isolated from Cultured Amur Catfish (*Silurus asotus*) in Korea

Min-Su KIM · In-Seon KANG* · Sang-Beom LIM* · Moo-Hyun KIM* · Nam-i KANG** · Min-Soon CHOI†
Kunsan National University(researcher · *student · †professor) ·
**Jellabuk State Fisheries Technology Research Institute(researcher)

Abstract

In March 2025, a mortality outbreak accompanied by skin ulceration, hemorrhage, and corneal opacity occurred in cultured catfish (*Silurus asotus*) at a fish farm in Jeollabuk-do, Korea. This study aimed to identify the causative bacterium and characterize its pathogenicity and antibiotic resistance. The isolate was identified as *Aeromonas veronii* based on biochemical and molecular analyses using 16S rRNA and *gyr*B gene sequences. The isolate exhibited β-hemolysis, gelatin and casein hydrolysis, and carried the virulence genes *act* and *hly*A. It was resistant to tetracycline, oxytetracycline, neomycin, and kanamycin, and the *tet(A)* gene was detected. Experimental infection by intramuscular injection and immersion reproduced mortality and clinical signs similar to those observed in naturally infected fish, and the same bacterium was re-isolated from infected fish. These findings support the pathogenicity of *A. veronii* in cultured catfish and suggest its possible enzootic occurrence in catfish farms in Jeollabuk-do.

Key words : *Aeromonas veronii*, Catfish, *Silurus asotus*, Tetracycline resistance, *Gyr* B, Hemolysin

Ⅰ. 서 론

메기(*Silurus asotus*)는 메기목(*Siluriformes*) 메기과(*Siluridae*)에 속하는 대표적인 담수 어종으로 대한민국, 중국, 일본 및 동아시아 지역에 널리 분포한다(Yang, 2019; Ching, 2022). 국내에서는 오래전부터 식용 및 보양식 재료로 이용되어 왔으며, 최근에는 높은 시장 수요와 경제적 가치로 인해 주요 내수면 양식 대상종으로 자리 잡고 있다(KOSIS, 2019). 특히 메기는 성장 속도가 빠르고 환경 적응력이 우수하여 지수식 및 순환여과식 양식 환경에서 활발히 사육되고 있으나, 고밀도 사육과 수질 변화로 인해 다양한 질병 발생 사례가 지속적으로 보고되고 있다 (Plumb and Hanson, 2011). 담수 양식어류에서 발생하는 세균성 질병은 양식 산업에 경제적 손실을 유발하는

† Corresponding author : Min Soon Choi 063-469-1883 E-mail; choims@kunsan.ac.kr
※ 본 논문은 2026년도 국립 군산대학교 연구년 지원 사업 및 2026년도 국립 군산대학교 수산과학연구소의 지원에 의하여 수행되었음.

주요 원인 중 하나로 알려져 있으며, 현재까지 *Aeromonas* spp. *Edwardsiella* spp. *Flavobacterium columnare* 및 *Streptococcus* spp. 등이 주요 병원체로 보고된 바 있다(Park and Kim, 1994; Yu et al., 2009; Declercq et al., 2013; Austin and Austin, 2016). 이 중 *Aeromonas* spp.는 담수 환경에 상재하는 Gram 음성 운동성 간균으로, 어류를 비롯한 양서류, 파충류 및 포유류에 감염을 유발할 수 있는 대표적인 조건성 병원세균이다(Beaz-Hidalgo and Figueras, 2013). 특히 *A. veronii*는 어류에서 출혈성 패혈증, 피부 궤양, 복수 및 장기 괴사를 유발하는 병원균으로 알려져 있으며, 최근 다양한 담수 양식어종에서 감염 사례가 증가하고 있다(Rasmussen-Ivey et al., 2016). 국내에서도 *Aeromonas* spp.에 의한 메기 질병 발생은 지속적으로 보고되고 있다. 특히 전북 및 충청 지역 메기 양식장에서 체표 출혈 및 궤양을 동반한 감염 사례가 확인되었으며, *Aeromonas* spp.는 메기 양식에서 가장 빈번하게 검출되는 세균성 병원체 중 하나로 알려져 있다(Kim et al., 2013; Kim et al., 2019; Kim et al., 2020). 또한 최근에는 메기뿐만 아니라 장어, 잉어 및 틸라피아 등 다양한 양식어종에서 *A. veronii* 감염 사례가 보고되면서 해당 균주의 병원학적 중요성이 증가하고 있다(Li et al., 2020). 한편, 양식 현장에서는 세균성 질병의 예방 및 치료를 위해 tetracycline 계열을 포함한 다양한 항생제가 지속적으로 사용되고 있으며, 이에 따른 항생제 내성균의 출현이 중요한 문제로 대두되고 있다(Santos and Ramos, 2018). 특히 *Aeromonas* spp.는 수계 환경 내에서 다양한 항생제 내성 유전자를 획득할 수 있는 것으로 알려져 있으며, tetracycline 계열 항생제에 대한 내성 유전자의 검출 사례가 지속적으로 보고되고 있다(Piotrowska and Popowska, 2015). 이러한 항생제 내성 특성은 양식 현장에서의 치료 효율 저하뿐만 아니라 수계 환경 내 내성균 확산 가능성과도 밀접한 관련이 있다(Cabello et al., 2016).

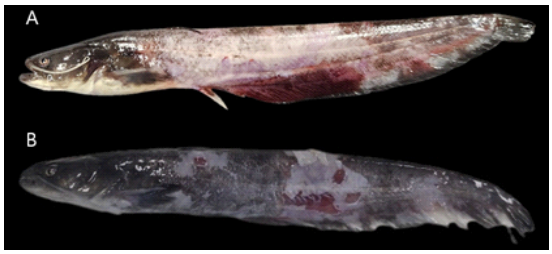
본 연구에서는 2025년 전라북도 고창 지역 메기 양식장에서 발생한 피부 궤양 및 출혈을 동반한 폐사 사례를 대상으로 원인균을 분리·동정하고, 병원성 인자 및 항생제 감수성 특성을 분석하였다. 또한 기존 국내 보고 사례와 비교하여 전북 지역 메기 양식장에서 발생하는 *A. veronii* 감염의 지속적 발생 양상과 tetracycline 내성 특성을 확인하고자 한다.

Ⅱ. 연구 방법

1. 현장 상황

2025년 3월부터 일교차가 10℃ 이상으로 크게 변동하는 환경에서, 전북특별자치도에 위치한 메기 양식장에서 체표 궤양과 안구 백탁 등 세균성 질병으로 의심되는 임상증상이 점진적으로 나타났으며, 이후 피부 궤양 및 체표 출혈을 동반한 폐사 사례가 발생하였다. 해당 양식장은 지수식 양식 형태로 운영되고 있었으며, 1호지당 100평 규모에서 약 5,000마리를 사육하고 있었다. 질병 발생 초기에는 일부 개체에서 체표 발적 및 국소적 출혈이 관찰되었으며, 증상이 진행됨에 따라 체표의 궤양 형성, 표피 탈락 및 근육 노출이 확인되었다. 또한 일부 개체에서는 복부 팽만과 유영 이상이 나타났으며, 전반적으로 활력 저하가 관찰되었다. 증상은 주로 수면부에 밀집된 개체에서 집중적으로 나타났으며, 체표의 울혈 및 궤양은 폐사 개체의 약 40%에서 확인되었다. 폐사를 인지한 시점에서 수온은 13~15℃ 범위였으며, 질병 발생은 약 2주간 지속적으로 나타났다. 폐사 개체에 대한 부검 결과, 근육층까지 침투한 궤양 병변과 함께 복강 내 체액 축적이 관찰되었으며, 간 및 신장 조직에서는 퇴색과 울혈이 확인되었다. 또한 병어의 미부정맥으로 부터 말초혈액을 채취하여 혈액도말 표본을 제작 후 Giemsa 염색을 실시하였으며, 광학현미경을 이용하여 혈액 내 세균 형태를 관찰하였다. 병어는 발생 양식장에서 채집 후 산소 포장 방법을 이용

하여 실험실로 이송하였으며([Fig. 1]), 이후 병원체 분리 및 분석에 사용하였다.



[Fig. 1] Naturally(A) and experimentally(B) infected catfish(*S. asotus*).

2. 세균의 배양 및 동정

세균 분리를 위해 병어의 병변 부위 및 간, 비장, 신장 조직을 무균적으로 채취하였다. 채취한 시료는 Tryptic Soy Agar(TSA; DIFCO™, Sparks, USA) 평판배지에 획선 도말한 후 25℃에서 24시간 배양하였다. 배양 후 형성된 집락 중 우점 집락을 선별하여 계대배양을 3회 반복함으로써 순수 분리하였다. 분리된 균주의 생화학적 특성을 확인하기 위해 IMViC 반응, Triple Sugar Iron(TSI) 반응, oxidase 및 catalase 반응, O/129 감수성, 가스 생성 여부, 운동성, 37℃에서의 성장 여부 및 염분 농도에 따른 성장 특성을 분석하였다. 분리균의 종 동정을 위해 species - specific PCR과 함께 16S rRNA 및 *gyrB* 유전자 염기서열 분석을 수행하였다. 증폭된 PCR 산물은 염기서열 분석을 수행한 후 NCBI BLAST를 이용하여 상동성 분석을 실시하였다. 또한 *A. veronii* - specific primer를 이용한 PCR을 수행하여 최종 동정을 확인하였다. 계통분석은 MEGA software를 이용하여 수행하였다. PCR 증폭은 각 primer set의 조건에 따라 수행하였으며, 증폭산물은 1.5% agarose gel에서 전기영동 후 확인하였다.

3. 원인균의 병원성 검사

분리균의 병원성 특성을 평가하기 위해 외부 효소 활성 및 병원성 관련 유전자 분석을 수행하였다. 외부 효소 활성 분석으로 casein 분해능은 Skim milk agar 배지를 이용하여 확인하였으며, gelatin 분해능을 추가로 평가하였다. 또한 혈액배지에서 용혈성(Hemolysis)을 확인하여 용혈 독소 생성 여부를 육안적으로 관찰하였다. 병원성 관련 유전자 분석은 enterotoxin 유전자인 *act, ast* 및 *alt*와 hemolysin 유전자인 *aerA* 및 *hlyA*를 대상으로 PCR을 수행하였다.

4. 항생제 감수성 검사

분리된 균주의 항생제 감수성은 Mueller-Hinton agar(MHA; DIFCO™, Sparks, USA)를 이용한 Kirby-Bauer 디스크 확산법(disc diffusion method)에 따라 수행하였다 (Bauer et al., 1966). 균 현탁액은 0.5 McFarland standard로 조정한 후 MHA 배지에 균일하게 도말하고, 항생제 디스크를 배치한 후 35℃에서 18시간 배양하였다. 배양 후 형성된 저지대(inhibition zone)의 직경(mm)을 측정하였으며, 시험 방법 및 조건은 Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI) M45 (3rd edition, 2015) 가이드라인을 참고하였다. 본 연구에서는 inhibition zone 직경을 기반으로 정량적 수치를 제시하였다. 사용된 항생제는 총 13종으로, ampicillin(10 ㎍), piperacillin-tazobactam(110 ㎍), cefepime(30 ㎍), cefuroxime sodium(30 ㎍), aztreonam (30 ㎍), meropenem(10 ㎍), amikacin(30 ㎍), gentamicin(10 ㎍), Neomycin(10 ㎍), tetracycline(30 ㎍), oxytetracycline(30 ㎍), ciprofloxacin(5 ㎍) 및 chloramphenicol(30 ㎍)이었으며, 모든 항생제 디스크는 Oxoid (Hampshire, UK) 제품을 사용하였다.

5. Tetracyline의 내성 유전자 탐색

분리균의 tetracycline 내성 유전자 보유 여부는 PCR을 통해 확인하였다. tetracycline 내성 관련 유전자인 *tet*(A), *tet*(E) 및 *tet*(S)를 대상으로 분석을 수행하였으며, 사용된 primer 정보는 <Table

1>에 제시하였다.

<Table 1> PCR primers used in this study

Primer			Primer Sequence 5'-3'	Product Size (bp)	Reference
Isolation and Identification	16s rRNA primer	27F	F: AGAGTTTGATCMTGGCTCAG	1,456	Weisburg et al., 1991
		1492R	R: ACGGTTACCTTGTTACGACTT		
	A. veronii specific primer	A-ver F	F: CGTGCCGGCTTTGAAGTC	232	Persson et al., 2015
		A-ver R	R: GATCACGTACTTGCCTTCTTCAATA		
	gyrB primer	3F	F: TCCGGCGGTCTGCACGGCGT	1,151	Soler et al., 2004
		14R	R: TTGTCCGGGTTGTACTCGTC		
Virulence gene	Entero toxin genes	*act*	F: AGAAGGTGACCACCAAGAACA	232	Nawaz et al., 2010
			R: AACTGACATCGGCCTTGAACTC		
		alt	F: TGACCCAGTCCTGGCACGGC	442	
			R: GGTGATCGATCACCACCAGC		
		ast	F: TCTCCATGCTTCCCTTCCACT		
			R: GTGTAGGGATTGAAGAAGCCG	331	
	Hemo lytic toxins genes	*aerA*	F: CCCGCCGATCTGCAACCGGG	489	
			R: CTGGTCTGGATAGACGGGCTCTGCC		
		hlyA	F: GGCCGGTGGCCCGAAGATACGGG	597	
			R: GGCGGCGCCGGACGAGACGGG		
Tetarcycline resistance gene	*tet*(A), *tet*(E)	TETF[a]	GCGCTNTATGCGTTGATGCA		Aminov et al., 2001
		TAR	ACAGCCCGTCAGGAAATT	387	
		TER	ATGTGTCCTGGATTCCT	246	
	tet(S)	TSR-F	GAAAGCTTACTATACAGTAGC	169	
		TSR-R	AGGAGTATCTACAATATTTAC		

TETF[a] designed from the conserved region of different *tet* genes and used as the common sense primer for PCR amplifaication.

6. 병원성 검사

분리균의 병원성을 평가하기 위해 건강한 메기를 대상으로 인위감염 시험을 실시하였다. 실험어는 질병 발생 이력이 없는 충청도 지역 양식장에서 분양받아 약 1개월간 순치 후 사용하였다. 시험어의 평균 체중은 약 20 ± 2 g이었으며, 45 × 30 × 25 cm 크기의 사각 수조(약 10 L)에 수조당 10마리씩 수용하여 사육하였다. 실험 기간 동안 수온은 25 ± 1℃로 유지하였으며, 용존산소는 4.78 ± 1 ppm으로 유지하였다. 실험에 사용된 *A. veronii*는 Tryptic Soy Broth(TSB) 배지에서 27℃, 24시간 동안 배양한 후, Phosphate-Buffered Saline(PBS, pH 7.2)을 이용하여 6,000 rpm에서 5분간 원심분리 후 3회 세척하였다. 이후 PBS를 이용하여 최종 균 현탁액을 제조하였으며, 균 농도는 단계 희석법을 통해 조정하였다. 병원성 평가는 근육주사법(intramuscular injection)과 침지법(immersion method)을 이용하여 수행하였다. 근육주사법에서는 7.55×10^6, 7.55×10^5, 7.55×10^4 및 7.55×10^3 CFU/mL 농도의 균 현탁액을 각각 0.1 mL씩 등 근육 부위에 주사하였다. 침지법에서는 9.7×10^6, 9.7×10^5 및 9.7×10^4

<Table 2> Biochemical characteristics of the isolated strain.

Characteristics	Present study
Gram stain	-
Growth at Nacl 1%	+
Growth at Nacl 3%	-
Growth at Nacl 5%	-
H2S production	-
Indole production	-
Mobility test	+
Methyl red test	+
VP reaction	-
Citrate utilization	-
Production of acid from D-Glucose	+
Production of acid from D-Sucrose	+
Production of acid from Lactose	+
Gas production test	+
Degradation of Tween 20	-
Gelatin liquefaction	+
Growth on MacConkey	+
Growth on Sheep blood agar	β-hemolysin
Degradation of Casein	+
String test	-
O/129 test	-
Cytochrome oxidase	+
Production of Catalase	+

CFU/mL 농도 균 현탁액으로 조정한 수조에 시험어를 2시간 동안 침지 처리한 후 감염 시험을 수행하였다. 침지 처리 동안에는 지속적으로 산소를 공급하였다. 대조군은 PBS만 처리하였다. 감염 후 7일 동안 폐사 여부 및 임상증상을 매일 관찰하여 누적 폐사율을 기록하였다. 폐사 개체는 즉시 수거하여 간, 비장 및 신장을 무균적으로 채취한 후 TSA 배지에 도말·배양하였다. 이후 재분리된 균주는 *A. veronii* - specific primer를 이용한 PCR을 수행하여 접종균과 동일한 균주임을 확인하였다.

Ⅲ. 연구 결과

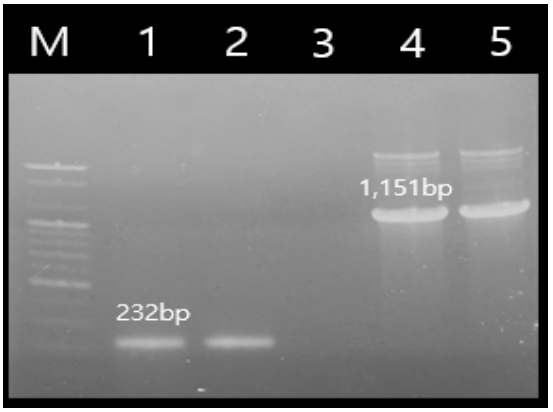
1. 분리균 동정

분리균의 생화학적 특성 분석 결과는 <Table 2>에 제시하였다. 분리균은 Gram 음성 간균으로 확인되었으며, cytochrome oxidase 및 Production of Catalase에서 양성(+)을 나타냈다. 또한 Mobility test, Methyl red test, Production of acid from D-Glucose, Production of acid from D-Sucrose 및 Production of acid from Lactose, Gas production test, gelatin liquefaction 및 Degredation of Casein에서 양성(+) 반응을 나타냈으며, 혈액배지에서는 β-hemolysin을 확인하였다. 반면, Indole production, VP reaction, Citrate utilization, H2S production 및 Degredation of Tween 20에서는 음성(-) 반응을 나타냈으며, string test와 37℃에서의 성장도 음성으로 확인되었다. 염분 농도에 따른 성장에서는 1% NaCl 조건에서만 성장이 확인되었으며, 3% 및 5% NaCl에서는 성장이 나타나지 않았다. 또한 MacConkey agar에서 성장이 확인되어 lactose 발효 능력을 가진 균주로 판단되었다. 이러한 생화학적 특성은 *Aeromonas* spp.의 전형적인 특성과 전반적으로 일치하는 양상을 보였다(Abbott et al., 2003; Pessoa et al., 2019). 특히 oxidase 양성, 운동성 및 다양한 당 발효 능력은 *Aeromonas* 속 세균의 대표적인 특징으로 알려져 있으며, gelatin 및 casein 분해능은 단백질 분해 효소 활성과 관련된 특성으로 보고된 바 있다(Abbott et al., 2003). 또한 혈액배지에서 나타난 β-용혈성은 hemolysin과 같은 병원성 인자의 존재 가능성을 시사한다(Pessoa et al., 2019). 한편, 본 연구에서 분리균은 Indole 음성 반응을 나타내어 일반적으로 보고되는 *A. veronii*의 특성과 차이를 보였다. 그러나 Lake Erie에서 분리된 *A. veronii* 83주 중 10주(12.0%)에서도 Indole 음성이 확인된 바 있어, 일부 *A. veronii* 균주에서는 비전형적인 생화학적 반응이 나타날 수 있는 것으로 보고되었다(Skwor et al., 2014). 따라서 본 연구에서 확인된 Indole 음성

결과는 *A. veronii*의 균주 간 생화학적 특성 차이에 의해 나타난 비전형적 특성으로 판단하였다. 한편, string test 음성 결과는 *Vibrio* spp.와의 감별에 유용한 특징으로 알려져 있으며, 저염 조건에서만 성장한 결과는 해당 균주가 담수 환경에 적응된 세균임을 나타낸다. 그러나 *Aeromonas* spp.는 종(species) 간 생화학적 특성의 유사성이 높아, 생화학적 방법만으로는 정확한 종 수준 동정에 한계가 있는 것으로 알려져 있다(Abbott et al., 2003). 따라서 본 연구에서는 16S rRNA 및 *gyr*B 유전자 염기서열 분석을 추가로 수행하였다. 그 결과, 16S rRNA 유전자 분석에서는 *Aeromonas* 속과 높은 상동성을 나타냈으나 species 수준에서의 명확한 구분에는 제한이 있었다. 반면, *gyr*B 유전자 분석에서는 *A. veronii*와 98% 이상의 높은 상동성을 나타내어 최종적으로 *A. veronii*로 동정되었다[Fig.2]. 또한 *A. veronii* - specific PCR에서도 특이적인 band가 확인되어 분리균의 종 동정 결과를 추가적으로 뒷받침하였다([Fig. 3]). 이러한 결과는 *Aeromonas* spp.의 높은 유전적 유사성과 계통학적 복잡성으로 인해 생화학적 방법만으로는 정확한 종 동정이 어려운 것으로 보고된 기존 연구와 일치한다(Abbott et al., 2003). 또한 *gyr*B 유전자는 16S rRNA에 비해 종 간 변이가 큰 housekeeping gene으로 알려져 있으며, *Aeromonas* spp.의 species 수준 동정에 유용한 분자생물학적 지표로 보고된 바 있다(Soler et al., 2004). 따라서 *Aeromonas* spp.의 정확한 동정을 위해서는 생화학적 특성과 함께 분자생물학적 분석을 병행하는 것이 중요한 것으로 판단된다.

2. *A. veronii*의 병원성 인자 확인

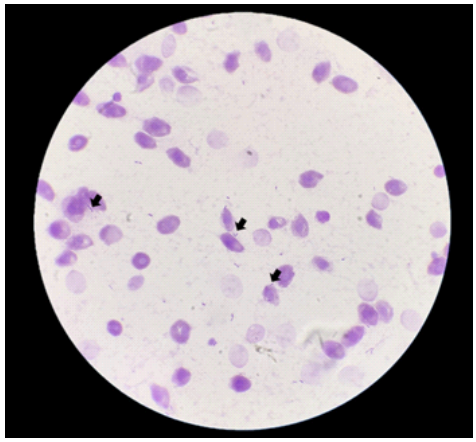
분리균의 병원성 특성을 평가하기 위해 virulence gene 검출 및 효소 활성 분석을 수행하였다. 병원성 관련 유전자 분석에서는 enterotoxin 유전자(*act, ast, alt*)와 hemolysin 유전자(*aerA, hlyA*)를 대상으로 PCR을 실시하였다. 그 결과,



[Fig. 3] PCR amplification of *A. veronii*-specific and *gyrB* genes from the isolated strain. Lane M, DNA marker; lanes 1–2, A. veronii-specific PCR products(232 bp); lane 3, negative control; lanes 4–5, *gyrB* PCR products(1,151 bp).

*hlyA*와 *act* 유전자가 검출되었으며, enterotoxin 유전자인 *ast* 및 *alt*는 검출되지 않았다. 효소 활성 분석 결과, 분리균은 casein 및 gelatin 분해능을 나타내었으며, 혈액배지에서 β-용혈(β-hemolysis)을 나타내는 것으로 확인되었다. 또한 자연감염 개체의 말초혈액 도말 표본을 Giemsa 염색 후 관찰한 결과, 적혈구 사이에서 다수의 간균 형태 세균이 확인되었다([Fig. 4]). 혈액 내에서 관찰된 세균은 분리균과 유사한 형태를 나타냈으며, 이는 세균성 패혈증과 관련된 소견으로 판단되었다. 본 연구에서 분리된 *A. veronii*는 hemolysin 관련 유전자인 *hlyA*를 보유하고 있었으며, 혈액배지에서 β-hemolysin을 나타내어 용혈 독소 생성 능력을 가진 것으로 확인되었다. 이러한 결과는 *Aeromonas* spp.에서 hemolysin이 주요 병원성 인자로 작용한다는 기존 보고와 일치한다(Nawaz et al., 2010; Tomás, 2012). 특히 hemolysin은 적혈구 용혈뿐만 아니라 숙주 조직 손상 및 세포 독성과도 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다(Tomás, 2012). 본 연구에서 확인된 혈액 내 세균 존재 역시 hemolysin과 같은 병원성 인

자에 의한 혈관 손상 및 조직 침습과 관련될 가능성이 있는 것으로 판단된다. 한편, casein 및 gelatin 분해능이 확인된 점은 분리균이 단백질 분해 효소를 통해 숙주 조직을 손상 시키고 감염을 확산시킬 수 있음을 시사한다. 이러한 외부 효소 활성은 *Aeromonas* spp.의 병원성과 밀접한 관련이 있는 것으로 보고된 바 있다(Janda and Abbott, 2010). 반면, enterotoxin 유전자(*ast, alt*)는 검출되지 않았으며, 이는 본 균주의 병원성이 주로 용혈 독소 및 조직 분해 효소에 의해 발현될 가능성을 시사한다. 또한 *act* 유전자의 검출은 본 균주가 cytotoxic enterotoxin을 보유하고 있음을 의미하며, 이는 조직 손상 및 세포 독성과 관련될 가능성이 있다(Nawaz et al., 2010). 이러한 결과는 *Aeromonas* spp.의 병원성이 특정 유전자 조합에 따라 다양하게 나타날 수 있음을 보여준다. 따라서 본 연구에서 분리된 균주는 hemolysin 유전자와 단백질 분해 효소 활성을 기반으로 한 병원성 특성을 가지며, 혈액 내 세균 검출 결과와 함께 관찰된 조직 괴사 및 궤양 형성과 밀접한 관련이 있는 것으로 판단된다.



[Fig. 4] Giemsa-stained peripheral blood smear from naturally infected catfish. Rod-shaped bacterial cells (arrows) were observed among erythrocytes, suggesting septicemic bacterial infection.

3. 항생제 감수성 검사

분리된 *A. veronii* 균주의 항생제 감수성은 디스크 확산법(disc diffusion method)을 통해 평가하였으며, 각 항생제에 대한 inhibition zone 직경은 평균 ± 표준편차로 나타났으며, 3회 반복 수행을 하였다(<Table 3>).

<Table 3> Result of antimicrobial susceptibility test of isolated *A. veronii*

Antibiotics		isolated *A. veronii*
Penicilliums	Piperacillin-tazobactam	6 mm
Cephems	Cefepime	29.67 ± 1.53 mm
	Cefuroxime sodium	27.67 ± 2.08 mm
Carbapenems	Meropenem	28.33 ± 0.58 mm
	Aztreonam	31.00 ± 1.00 mm
Aminoglycosides	Amikacin	21.33 ± 1.53 mm
	Kanamycin	6 mm
	Gentamicin	20.33 ± 3.21 mm
	Neomycin	10.17 ± 1.87 mm
Tetracyclines	Tetracycline	9.00 ± 1.00 mm
	Oxytetracycline	10.33 ± 0.58 mm
Quinolone	Ciprofloxacin	25.33 ± 1.53 mm
Phenicols	Chloramphenicol	30.33 ± 0.58 mm

그 결과, cefepime(29.67 ± 1.53 mm), meropenem (28.33 ± 0.58 mm), aztreonam(31.00 ± 1.00 mm), ciprofloxacin(25.33 ± 1.53 mm), chloramphenicol(30.33 ± 0.58 mm), amikacin (21.33 ± 1.53 mm) 및 gentamicin(20.33 ± 3.21 mm)에서는 비교적 넓은 inhibition zone이 확인되었다. 반면, neomycin(10.17 ± 1.87 mm), tetracycline(9.00 ± 1.00 mm) 및 oxytetracycline(10.33 ± 0.58 mm)에서는 inhibition zone이 현저히 작게 측정되어 내성 경향을 보였으며, 특히 tetracycline 계열 항생제에서 일관된 낮은 감수성이 확인되었다. 또한 kanamycin의 경우 6 mm로 inhibition zone 형성이 거의 나타나지 않아 높은 내성 수준을 보였다. 이에 따라 tetracycline 내성 유전자 보유 여부를 확인하기 위해 *tet*(A), *tet*(E) 및 *tet*(S)를 대상으로 PCR 분석을 수행하였다. 그 결과, *tet*(A) 유전자에서만 특이적인 amplicon이 확인되었으며, *tet*(E)와 *tet*(S)는 검출되지 않았다. 따라서 본 연구에서 분리된 *A. veronii*의 tetracycline 내성은 *tet*(A) 유전자에 의해 매개된 것으로 판단된다. *tet*(A)는 대표적인 efflux pump 관련 내성 유전자로 알려져 있으며, 세포 내로 유입된 tetracycline을 외부로 배출함으로써 항생제 효과를 감소시키는 기전을 가진다(Aminov et al., 2001). 또한 oxytetracycline에서도 유사한 내성 양상이 나타난 점은 동일 계열 항생제 간 교차 내성(cross-resistance)이 발생했음을 시사한다. 한편, neomycin 및 kanamycin에 대한 내성 역시 확인되었으나, 본 연구에서는 관련 내성 유전자 분석이 수행되지 않아 이에 대한 기전 규명을 위해 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다. 이러한 결과는 tetracycline 내성 유전자의 존재와 표현형적 항생제 내성 결과 간의 일치성을 보여주며, 양식 환경에서 항생제 선택압(selection pressure)에 의해 내성균이 유지 및 확산될 가능성을 시사한다(Cabello, 2006). 본 연구 결과를 기존 국내 보고와 비교할 때, 전라북도 지역 메기 양식장에서 *A. veronii* 감염은 단발적인 발생이 아닌 반복적으로 보고되고 있는 양상을 보인다. 2011년, 2018년 및 2019년 연구에서 유사한 임상증상과 함께 *A. veronii* 감염이 보고되었으며(Kim et al., 2013; Kim et al., 2019; Kim et al., 2020), 특히 2019년 연구에서는 Tetracycline 내성 유전자인 *tet*(A)와 *tet*(E)가 동시에 검출된 바 있다. 반면, 본 연구에서 분리된 *A. veronii*는 *tet*(A) 유전자만을 보유하는 것으로 나타났으며, 이러한 차이는 동일 지역 내에서도 균주 간 유전적 다양성이 존재함을 시사한다. 이는 tetracycline 내성 기전이 다양한 유전자 조합에 의해 발현될 수 있으며, 항생제 사용에 따른 선택압에 의해 지속적으로 변화하고 있음을 반영하는 결과로 판단된다. 따라서 전북 지역 메기 양식장에서 *A. veronii* 감염은 지속적으로 발생하는 경향을 보이며, 항생제 내성 특성과 함께 장기적으로 유지되고 있을 가능성이 있으며, 향후 지속적인 질병 모니터링과 함께 항생제 사용 관리 및 대체 방제 전략 수립이 필요할 것으로 사료된다.

4. 병원성 검사

분리된 *A. veronii*의 병원성을 평가하기 위해 근육주사법(intramuscular injection)과 침지법(immersion method)을 이용한 인위감염 시험을 수행하였다 (<Table 4>, <Table 5>). 근육주사법에서는 7.55×10^5 CFU/mL 처리군에서 총 8마리(80%)의 폐사가 발생하여 가장 높은 폐사율을 나타냈다(<Table 4>). 반면, 7.55×10^4 CFU/mL 및 7.55×10^3 CFU/mL 처리군에서는 각각 4마리(40%)의 폐사가 확인되었으며, PBS 처리 대조군에서는 폐사가 관찰되지 않았다. 폐사는 주로 감염 후 1~3일 사이에 집중적으로 발생하였으며, 이후 일부 개체에서 추가적인 폐사가 확인되었다. 침지법에서도 유사한 경향이 확인되었다. 9.7×10^6 CFU/mL 처리군에서 총 8마리(80%)의 폐사가 발생하였으며, 9.7×10^5 CFU/mL 및 9.7×10^4 CFU/mL 처리군에서는 각각 4마리(40%)의 폐사가 확인되었다. 반면 PBS 처리군에서는 폐사가 나타나지 않았다(<Table 5>).

<Table 4> Results of experimental intramuscular injection challenge in catfish with *A. veronii*

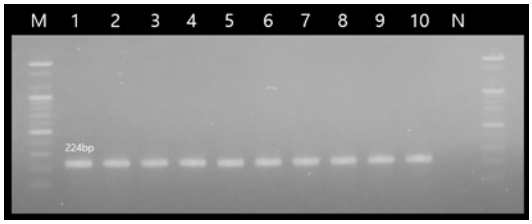
Temp. (°C)	No. of fish used	Bacteria suspension (CFU/ml)	No. of dead fish: day after challenge							Total no. of dead fish	Mortality (%)
			1	2	3	4	5	6	7		
25°C	10	7.55 x 10^5	0	0	2	2	2	1	1	8	80
	10	7.55 x 10^4	2	2	0	0	0	0	0	4	40
	10	7.55 x 10^3	2	0	0	2	0	0	0	4	40
	10	PBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0

<Table 5> Results of experimental immersion challenge in catfish with *A. veronii*

Temp. (°C)	No. of fish used	Bacteria suspension (CFU/ml)	No. of dead fish: day after challenge							Total no. of dead fish	Mortality (%)
			1	2	3	4	5	6	7		
25°C	10	9.7 x 10^6	0	0	2	3	0	2	1	8	80
	10	9.7 x 10^5	0	0	2	0	1	0	1	4	40
	10	9.7 x 10^4	0	0	2	0	1	0	1	4	40
	10	PBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0

감염 후 폐사 개체에서는 자연감염 개체와 유사한 체표 출혈, 피부 궤양 및 활력 저하가 관찰되었다. 또한 폐사 개체의 간, 비장 및 신장 조직으로부터 동일한 균주가 재분리되었으며, species - specific PCR 결과 접종균과 동일한 *A. veronii*임을 확인하였다([Fig. 5]). 한편, 본 연구에서 자연감염이 확인된 시기의 양식장 수온은 13-15℃였으나, 인위감염 시험은 별도의 수온 처리 조건을 설정하지 않고 실험실 내 상온 조건에서 수행되어 수온을 25 ± 1℃로 유지하였다. 따라서 본 인위감염 시험의 폐사율을 자연발생 당시의 13-15℃ 환경에서 나타난 병원성과 직접적으로 동일하게 해석하는 데에는 한계가 있다. 본 시험은 수온에 따른 병원성 차이를 평가하기 위한 목적이 아니라, 자연감염 개체에서 분리된 *A. veronii*의 병원성 여부를 확인하기 위한 목적으로 수행되었다. 그럼에도 불구하고 25 ± 1℃ 조건에서 근육주사법과 침지법 모두에서 자연감염 개체와 유사한 임상증상 및 폐사가 재현되었다는 점은 해당 분리균의 병원성을 뒷받침하는 결과로 판단된다. 실제 양식환경에서 세균성 질병의 발생과 진행에는 수온뿐만 아니라 일교차, 사육밀도, 수질 및 숙주의 생리적 상태 등 다양한 요인이 복합적으로 영향을 미칠 수 있다. 특히 본 연구에서는 13-15℃의 비교적 낮은 수온에서 자연감염이 발생하였다는 점에서, 향후에는 13-15℃를 포함한 다양한 수온 조건에서 *A. veronii*의 병원성을 비교하여 수온과 감염 발생 및 폐사 간의 관계를 규명할 필요가 있을 것으로 사료된다. 또한 자연감염 개체의 혈액도말 표본에서 세균이 직접 관찰된 점은 본 균주가 국소 감염뿐만 아니라 전신성 패혈증(septicemia)을 유발할 가능성을 뒷받침한다. 이러한 결과는 본 연구에서 분리된 *A. veronii*가 메기에 대해 높은 병원성을 가지는 것을 시사한다. 특히 근육주사법과 침지법 모두에서 폐사가 재현된 점은 해당 균주가 단순한 기회감염균이 아닌 실제 병원체로 작용할 가능성을 뒷받침한다. 또한 감염 농도가 증가함에 따라 폐사율이 증가하는 경향이 나타났으며, 이는 균 농도 의존적인 병원성 특성을 반영하는 것으로 판단된다 (Janda and Abbott, 2010). 침지법에서도 폐사가 확인된 점은 자연환경에서도 수계 전파를 통해 감염이 가능함을 시사하며, 실제 양식 현장에서의 지속적 발생과 연관될 가능성이 있다. 특

히 감염 후 나타난 체표 출혈 및 궤양 증상은 자연발병 개체에서 관찰된 병변과 유사하였으며, 이는 Koch's postulate를 충족하는 결과로 판단된다. 따라서 본 연구에서 분리된 균주는 메기에서 실제 질병을 유발할 수 있는 병원성 세균임을 뒷받침하는 것으로 사료된다.



[Fig. 5] Species-specific PCR of *A. veronii* re-isolated from experimentally infected catfish. Lane M, DNA marker; lanes 1–10, re-isolated isolates; lane N, negative control.

Ⅳ. 결 론

2025년 3월, 전북특별자치도에 위치한 메기(*S. asotus*) 양식장에서 체표 궤양, 출혈 및 안구 백탁을 동반한 폐사 사례가 발생하였다. 본 연구에서는 병어로부터 원인균을 분리·동정하고, 병원성 특성 및 항생제 감수성을 분석하여 국내 메기 양식장에서 발생하는 *A. veronii* 감염증의 특성을 규명하고자 하였다. 병변 부위 및 내부 장기로부터 분리된 균주는 Gram 음성 간균으로 확인되었으며, 생화학적 특성 분석 결과 *Aeromonas* spp.의 특성과 유사한 반응 양상을 나타냈다. 분자생물학적 동정을 위해 16S rRNA 및 *gyr*B 유전자 염기서열 분석을 수행한 결과, *gyr*B 유전자 분석에서 *A. veronii*와 높은 상동성을 나타내어 최종적으로 *A. veronii*로 동정되었다. 또한 분리균은 β-용혈성, gelatin 및 casein 분해능을 나타냈으며, 병원성 관련 유전자 분석 결과 *act* 및 *hly*A 유전자가 검출되었다. 항생제 감수성 검사 결과, tetracycline, oxytetracycline, neomycin 및 kanamycin에서 내성을 나타내었다. 특히 tetracycline 계열 항생제에 대한 내성이 확인되었으며, 내성 유전자 분석 결과 *tet*(A) 유전자만 검출되었다. 이는 tetracycline 계열 항생제에 대한 내성이 efflux pump 기전에 의해 매개될 가능성을 시사한다. 병원성 평가를 위해 근육주사법과 침지법을 이용한 인위감염을 수행한 결과, 두 방법 모두에서 체표 출혈 및 피부 궤양을 동반한 폐사가 재현되었으며, 폐사 개체로부터 동일 균주가 재분리되었다. 이는 본 연구에서 분리된 *A. veronii*가 메기에 대해 높은 병원성을 가지는 실제 병원체임을 입증하는 결과로 판단된다. 한편, 본 연구 결과를 기존 국내 보고와 비교할 때, 전라북도 지역 메기 양식장에서 *A. veronii* 감염은 반복적으로 보고되고 있으며, tetracycline 내성 특성과 함께 지속적으로 유지되고 있는 것으로 판단된다. 따라서 전북 지역 메기 양식장에서 발생하는 *A. veronii* 감염은 향후 지속적인 질병 모니터링과 항생제 사용 관리가 필요할 것으로 사료된다.

References

Abbott SL, Cheung WKW and Janda JM(2003). The Genus Aeromonas: Biochemical Characteristics, Atypical Reactions, and Phenotypic Identification Schemes. Journal of Clinical Microbiology, 41(6), 2348~2357. https://doi.org/10.1128/JCM.41.6.2348-2357.2003

Aminov RI, Garrigues-Jeanjean N and Mackie RI(2001). Molecular Ecology of Tetracycline Resistance: Development and Validation of Primers for Detection of Tetracycline Resistance Genes Encoding Ribosomal Protection Proteins. Applied and Environmental Microbiology, 67(1), 22~32. https://doi.org/10.1128/AEM.67.1.22-32.2001

Austin B and Austin DA(2016). Bacterial Fish Pathogens: Disease of Farmed and Wild Fish. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-32674-0

Beaz-Hidalgo R and Figueras MJ(2013). *Aeromonas* spp. whole genomes and virulence factors

implicated in fish disease. Journal of Fish Diseases, 36(4), 371~388.
https://doi.org/10.1111/jfd.12025

Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC and Turck M(1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology, 45(4), 493~496.

Cabello FC(2006). Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. Environmental Microbiology, 8(7), 1137~1144.
https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01054.x

Cabello FC, Godfrey HP, Buschmann AH and Dölz HJ(2016). Aquaculture as yet another environmental gateway to the development and globalisation of antimicrobial resistance. The Lancet Infectious Diseases, 16(7), 127~133.
https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00100-6

Ching FF(2023). Silurus asotus (Amur catfish). In: CABI Compendium. CABI Publishing.
https://doi.org/10.1079/cabicompendium.64278

Clinical and Laboratory Standards Institute(2016). Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria. 3rd ed. CLSI guideline M45. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Declercq AM, Haesebrouck F, Van den Broeck W, Bossier P and Decostere A(2013). Columnaris disease in fish: a review with emphasis on bacterium-host interactions. Veterinary Research, 44(1), 27.
https://doi.org/10.1186/1297-9716-44-27

Dorsch M, Ashbolt NJ, Cox PT and Goodman AE(1994). Rapid identification of Aeromonas species using 16S rDNA targeted oligonucleotide primers: a molecular approach based on screening of environmental isolates. Journal of Applied Bacteriology, 77(6), 722~726.
https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1994.tb02825.x

Gonçalves Pessoa RB, de Oliveira WF, Marques DSC, dos Santos Correia MT, de Carvalho EVMM and Coelho LCBB(2019). The genus Aeromonas: A general approach. Microbial Pathogenesis, 130, 81~94.
https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.036

Janda JM and Abbott SL(2010). The Genus Aeromonas: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. Clinical Microbiology Reviews, 23(1), 35~73.
https://doi.org/10.1128/CMR.00039-09

Joseph SW and Carnahan A(1994). The isolation, identification, and systematics of the motile Aeromonas species. Annual Review of Fish Diseases, 4, 315~343.
https://doi.org/10.1016/0959-8030(94)90033-7

Kim DH, Lim BS, Ki JS and Park SW(2020). Disease Pathogen Detection Status of the Cultured Catfish, Silurus asotus in Chungcheong and Jeolla Provinces during 2004-2018. Journal of Fisheries and Marine Sciences Education, 32(4), 879~890.
https://doi.org/10.13000/JFMSE.2020.8.32.4.879

Kim HY, Jun JW, Lim SR, Park SY, Han JE, Park SC and Kim JH(2019). First report of tetracycline-resistant Aeromonas veronii infection in Amur catfish (Silurus asotus) cultured in Korea. Korean Journal of Veterinary Research, 59(4), 207~211.
https://doi.org/10.14405/KJVR.2019.59.4.207

Kim JD, Do JW, Choi HS, Seo JS, Jung SH, Jo HI, Park MA, Lee NS and Park SW(2013). Pathological changes in cultured Korean catfish (Silurus asotus) artificially infected with Aeromonas veronii. Korean Journal of Environmental Biology, 31(4), 486~492.
https://doi.org/10.11626/KJEB.2013.31.4.486

KOSIS(2019). Korean Statistical Information Service. Available from: http://kosis.kr/index/index.do

Li T, Raza SHA, Yang B, Sun Y, Wang G, Sun W, Qian A, Wang C, Kang Y and Shan X(2020). *Aeromonas veronii* infection in commercial freshwater fish: A potential threat to public health. Animals, 10(4), 608.
https://doi.org/10.3390/ani10040608

Nawaz M, Khan SA, Khan AA, Sung K, Tran Q, Kerdahi K and Steele R(2006). Biochemical and molecular characterization of tetracycline-resistant *Aeromonas veronii* isolates from catfish. Applied and Environmental Microbiology, 72(10), 6461~6466.
https://doi.org/10.1128/AEM.00271-06

Nawaz M, Khan SA, Khan AA, Sung K, Tran Q, Kerdahi K and Steele R(2010). Detection and characterization of virulence genes and integrons in *Aeromonas veronii* isolated from catfish. Food Microbiology, 27(3), 327~331.

https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.11.007

Park SW and Kim YG(1994). Studies on disease of catfish, Silurus asotus, in Korea: 3. Edwardsiella ictaluri infection. Journal of Fish Pathology, 7, 105~112.

Persson S, Al-Shuweli S, Yapici S, Jensen JN and Olsen KEP(2015). Identification of clinical Aeromonas species by rpoB and gyrB sequencing and development of a multiplex PCR method for detection of Aeromonas hydrophila, A. caviae, A. veronii, and A. media. Journal of Clinical Microbiology, 53(2), 653~656. https://doi.org/10.1128/JCM.01963-14

Piotrowska M and Popowska M(2015). Insight into the mobilome of Aeromonas strains. Frontiers in Microbiology, 6, 494. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00494

Plumb JA and Hanson LA(2011). Health Maintenance and Principal Microbial Diseases of Cultured Fishes. 3rd ed. Wiley-Blackwell. https://doi.org/10.1002/9780470958353

Rasmussen-Ivey CR, Figueras MJ, McGarey D and Liles MR(2016). Virulence factors of Aeromonas hydrophila: In the wake of reclassification. Frontiers in Microbiology, 7, 1337. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01337

Santos L and Ramos F(2018). Antimicrobial resistance in aquaculture: Current knowledge and alternatives to tackle the problem. International Journal of Antimicrobial Agents, 52(2), 135~143. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.03.010

Soler L, Yáñez MA, Chacon MR, Aguilera-Arreola MG, Catalán V, Figueras MJ and Martínez-Murcia AJ(2004). Phylogenetic analysis of the genus Aeromonas based on two housekeeping genes. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 54(5), 1511~1519. https://doi.org/10.1099/ijs.0.03048-0

Skwor T, Shinko J, Augustyniak A, Gee C and Andraso G(2014). Aeromonas hydrophila and Aeromonas veronii predominate among potentially pathogenic ciprofloxacin- and tetracycline-resistant aeromonas isolates from Lake Erie. Applied and environmental microbiology, 80(3), 841~848. https://doi.org/10.1128/AEM.03645-13

Tomás JM(2012). The main Aeromonas pathogenic factors. ISRN Microbiology, 2012, 1~22. https://doi.org/10.5402/2012/256261

Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA and Lane DJ(1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. Journal of Bacteriology, 173(2), 697~703. https://doi.org/10.1128/JB.173.2.697-703.1991

Yang N, Li Y, Liu Z, Chen Q and Shen Y(2019). The complete mitochondrial genome of Silurus asotus (Siluriformes: Siluridae: Silurus) and its phylogenetic analysis. Mitochondrial DNA Part B, 4(2), 2377~2378. https://doi.org/10.1080/23802359.2019.1630335

Yu JH, Han JJ, Park KS, Park KH and Park SW(2009). Edwardsiella tarda infection in Korean catfish, Silurus asotus, in a Korean fish farm. Aquaculture Research, 41(1), 19~26. https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02296.x

• Received : 29 June, 2026
• Revised : 12 August, 2026
• Accepted : 24 August, 2026