

2012~2017년 강원지역에서 채집된 모기의 계절적 발생소장과 플라비바이러스 감염률

정세진* · 고석현 · 고은미 · 임은주 · 김영수 · 이육교¹ · 이동규²

강원도보건환경연구원, ¹질병관리본부 매개체분석과, ²고신대학교 보건환경학부

Mosquito Prevalence and Flavivirus Infection Rates in Gangwon-do, Republic of Korea

Se-Jin Chung*, Seuk-Hyun Ko, Eun-Mi Ko, Eun-Joo Lim, Young-Su Kim, Wook-Gyo Lee¹ and Dong-Kyu Lee²

Gangwon Institute of Health and Environment, Chuncheon 24203, Korea

¹Division of Vectors and Parasitic Diseases, Korea Centers for Disease Control and Prevention, Cheongju 28159, Korea

²Department of Health and Environment, Kosin University, Busan 49104, Korea

ABSTRACT: In total, 654,362 adult mosquitoes were captured using black light traps in Gangwon-do Province of the Republic of Korea from 2012 to 2017. The collected mosquitoes were identified to the species level, placed in pools of up to 50 mosquitoes each, by species and date of collection, and screened for flaviviruses using a reverse transcription-polymerase chain reaction assay. A total of 276,224 adult mosquitoes were grouped in 7,721 pools for virus testing, and 68 flavivirus positive pools (0.9%) were detected. Flavivirus-positive products were confirmed by DNA sequencing. Japanese encephalitis viruses were detected in single pools collected from Chuncheon (2012, 2017: *Culex pipiens*, 2,728 and 1,111 mosquitoes, respectively), Hoengseong (2013: *Culex orientalis*, 19), and Gangneung (2017: *C. pipiens*, 724). All the Japanese encephalitis viruses detected were revealed as genotype V. Chaoyang viruses were detected in 63 pools of 5,055 *Aedes vexans nipponii* and a single pool of 585 *C. pipiens* collected in Gangwon-do Province from 2012 to 2017. Chuncheon was the region with the highest minimum infection rates (MIR, 0.32) and maximum likelihood estimate (MLE, 0.33; confidence interval (CI) 95%, 0.23-0.46) of *A. vexans nipponii* for Chaoyang virus, followed by Hoengseong (MIR 0.30, MLE 0.30, CI 0.16-0.52) and Gangneung (MIR 0.21, MLE 0.21, CI 0.13-0.31). Monthly MIR and MLE values of *A. vexans nipponii* for Chaoyang virus were the highest in October (MIR 0.38, MLE 0.38, CI 0.07-1.25).

Key words: Chaoyang virus, Gangwon-do, Minimum infection rates (MIR), Maximum likelihood estimate (MLE), Mosquito flavivirus

초 록: 2012~2017년까지 강원도 3개 시·군(춘천시, 강릉시, 횡성군)에서 채집된 모기는 총 6속 13종, 654,362마리가 채집되었다. 채집된 모기는 분류하여 얼룩날개모기속을 제외하고 종별, 채집일, 채집 장소에 따라 최대 50마리를 1개 실험군으로 reverse transcription-polymerase chain reaction, 염기서열 분석방법으로 플라비바이러스 감염여부를 조사하였다. 채집모기 276,224마리에 대해 7,721개 실험군을 검사한 결과 68개 실험군(0.9%)에서 플라비바이러스 유전자가 검출되었다. 검출된 플라비바이러스의 염기서열 분석결과 4개 실험군은 일본뇌염바이러스(Japanese encephalitis virus), 64개 실험군은 차오양바이러스(Chaoyang virus)로 확인되었다. 일본뇌염바이러스는 2012년 춘천시에서 채집된 2,728마리의 빨간집모기 중 1개 실험군, 2013년 횡성군에서 채집된 19마리의 동양집모기 중 1개 실험군, 2017년 춘천시에서 채집된 1,111마리의 빨간집모기 중 1개 실험군, 강릉시에서 채집된 빨간집모기 724마리 중 1개 실험군에서 검출되었다. 검출된 일본뇌염바이러스의 유전형은 모두 V형 바이러스였다. 차오양바이러스는 강원도 내에서 6년간 채집된 금빛숲모기 232,871마리, 5,055개 실험군을 대상으로 검사한 결과 63개 실험군에서 검출되었으며, 춘천지역에서 채집된 빨간집모기 585개 실험군 중 1개 실험군에서 검출되었다. 채집지역별 금빛숲모기의 차오양바이러스 감염률이 가장 높은 지역은 MIR (최소감염률) 0.32, MLE (최대우도법) 0.33 (CI 0.23~0.46) 감염률을 보인 춘천시였다. 그 뒤로 횡성군 MIR 0.30, MLE 0.30 (CI 0.16~0.52)과 강릉시 MIR 0.21, MLE 0.21 (CI 0.13~0.31)순이었다. 월별 금빛숲모기의 차오양바이러스 감염률은 10월에 MIR 0.38, MLE 0.38 (CI 0.07~1.25)로 가장 높은 감염률을 나타내었다.

검색어: 차오양바이러스, 강원도, MIR (최소감염률), MLE (최대우도법), 모기 플라비바이러스

*Corresponding author: sejin47@korea.kr

Received January 29 2019; Revised February 26 2019

Accepted March 12 2019

플라비바이러스(Flavivirus)는 플라비바이러스과(Flaviviridae)에 속하는 양성 단일가닥 RNA (positive sense single strand RNA)를 유전물질로 갖는 구형 바이러스이다(Heinz and Stiasny, 2012). 현재 항원성이 다른 70여종의 바이러스가 보고되어 있으며, 모기매개 바이러스와 진드기매개 바이러스로 구분된다(Kuno, 1998). 사람에게 질병을 일으키는 모기매개 플라비바이러스에는 황열바이러스(Yellow fever virus), 뎅기바이러스(Dengue virus, serotypes I-IV), 일본뇌염바이러스, 웨스트나일 바이러스(West Nile virus), 치쿤구니아바이러스(Chikungunya virus), 그리고 지카바이러스(Zika virus) 등이 있다. 기후변화에 따라 매개체 발생 분포가 확대되어, 일본뇌염 등 국내 토착성 질환 발생이 증가하고 있으며, 해외여행 급증 및 국제교류 증가로 인하여 해외유입 모기 매개성 감염성질환(뎅기열, 지카바이러스 감염증, 웨스트나일열 등)의 유입가능성도 점차 늘어나고 있다. 뎅기열 유행에 관한 연구에 의하면 128개국 39억 명 인구가 뎅기바이러스에 감염될 위험이 있다고 보고하였다(Brady et al., 2012; Ward, 1992). 웨스트나일열은 우간다 웨스트나일주에서 처음 확인되었으며 주로 아프리카, 중동, 유럽 등에서 유행하던 감염병이었으나, 1999년 뉴욕에서 첫 환자가 보고된 이후 불과 3년만인 2002년 4,156명의 환자가 발생하였고 이로 인해 284명이 사망하였다(Gubler, 2007).

모기매개 감염병은 매개모기의 병원체 감염률, 서식밀도, 모기의 주된 활동 시간 및 계절적 발생양상, 숙주 특이성, 전파주기(transmission cycle) 등과 밀접한 연관성이 있고(Cynthia et al., 2006), 백신접종이나 효율적인 모기 감시시스템이 없다면, 짧은 시간 동안 전 세계적인 대규모 유행이 발생할 위험이 있다. 따라서 여행객, 철새 또는 국제무역을 통해 운반된 다양한 매개체에 의한 플라비바이러스의 유입에 대한 적극적인 감시가 요구된다.

국내에서 발생하는 모기매개 주요 감염병은 얼룩날개모기류(*Anopheles* spp.)에 의해 매개되는 말라리아와 작은빨간집모기(*Culex tritaeniorhynchus*)에 의해 매개되는 일본뇌염이 대표적이다. 그 외 국내 감염사례는 없지만, 해외에서 감염되어 입국한 뎅기열, 지카바이러스 감염증, 치쿤구니아열 환자 발생이 매년 증가하고 있다(KCDC, N.D.). 또한 이들 감염병을 매개할 수 있는 모기가 국내에도 서식하고 있기 때문에 이들 감염병의 국내발생 가능성은 항상 존재하고 있다. 따라서 매개모기의 계절적 발생소장 및 병원체 감염에 대한 선제적인 감시는 매우 중요하다.

자연계 내에서 병원체 감염률이 낮은 모기를 검출하기 위하여 방대한 시료를 검사해야 하며 이 경우 많은 조사비용과 시간이 소요되므로 매개체 감시시스템에서는 주로 합병시료(Pooled

sample)를 검사한다(Chiang and Reeves, 1962; Cowling et al., 1999; Graham, 1996). 합병시료에 대한 검사결과를 분석하는 방법으로는 MIR (최소감염률, Minimum Infection Rates per 1,000)과 MLE (최대우도법, Maximum Likelihood Estimate per 1,000)의 두 가지 방법이 대표적으로 사용된다. MIR은 매개체 감염률 추정에 가장 널리 사용되는 방법이며 양성 실험군에 오직 1개의 감염개체가 있다는 가정 하에 사용하는 방법으로 감염률이 매우 낮을 때 유효한 분석법이다(Chiang and Reeves, 1962; Gu et al., 2003). 반면, MLE는 합병시료에서 감염개체 비율을 추정하는 방법으로 MIR의 방법을 보완하여 보다 신뢰할 수 있는 구간추정치를 얻을 수 있는 장점이 있으며, 감염률이 높거나 합병시료의 크기가 클 때 더 정확한 추정방법이다(Graham, 1996; Park, 2012).

본 조사는 강원도 내 3개 지역(춘천시, 강릉시, 횡성군) 농가 우사에서 모기를 채집하여 모기의 계절적 발생소장과 매개체에서 대표적인 모기매개 감염성 바이러스(일본뇌염바이러스, 황열바이러스, 뎅기바이러스, 웨스트나일바이러스 그리고 기타 플라비바이러스)의 감염률을 조사하여, 모기매개 감염병에 대한 효율적인 유행예측 및 관리대책을 수립할 수 있는 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

모기 채집

2012~2017년까지 매년 4~10월, 매주 2회씩 강원도 3개 시·군(춘천시, 강릉시, 횡성군) 농가 우사 입구에 지면으로 부터 1.5~2.0 m 높이에 유문등(Black light trap; SC2000, 신영통상 시스템, Korea)을 설치하여 저녁 6시부터 다음날 아침 8시까지 채집하였다. 채집된 모기는 -20°C 냉동고에서 사멸시킨 후 건조하여 분류 동정하였다(Nam, 2013). 모기매개 바이러스의 RNA는 실온에서 수일간 보존가능하기 때문에(Andrews and Turell, 2016; Burkhalter and Savage, 2017; Turell et al., 2002), 실온에서 짧은 시간(30분 이내) 수행된 건조로 인한 플라비바이러스 RNA 검출에는 영향이 없을 것으로 판단된다. 채집된 모기의 분류·동정을 통해 강원도 내 주요 발생하는 모기종과 계절적 발생소장을 분석하였다.

모기 체내 Flavivirus 조사

채집된 모기는 분류하여 flavivirus와 관계없는 얼룩날개모기속(*Anopheles* spp.)을 제외하고 중별, 채집 날짜, 채집 장소에

따라 최대 50마리를 1개 실험군(pool)로 합병(pooling)하여 플라비바이러스 감염여부를 조사하였다. 2012년은 춘천시, 강릉시 채집모기 중 매월 2회(첫 주와 셋째 주) 채집된 모기 중 얼룩날개모기류를 제외한 모든 모기를 대상으로 조사하였고, 횡성군은 매월 2회(첫 주와 셋째 주) 채집모기 중 작은빨간집모기만을 대상으로 조사하였다. 2013~2017년은 주 2회 채집된 얼룩날개모기류를 제외한 모든 채집된 모기를 대상으로 플라비바이러스 검사를 실시하였다. 합병된 검체는 Automatic homogenizer (QIAGEN, TissueLyser II, Germany)로 모기조직을 파쇄한 후, QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Germany)로 viral RNA를 추출하였다.

플라비바이러스(황열바이러스, 뎅기바이러스, 일본뇌염바이러스, 웨스트나일바이러스) 유전자를 검출하기 위하여 추출된 RNA로부터 Verso SYBR Green 1-Step QRT-PCR Low ROX kit (Thermo Scientific, USA)를 사용하여 7500 Fast Real Time PCR System (Applied Biosystem, USA)에서 one-step SYBR Green real-time RT-PCR을 수행하였다. 플라비바이러스의 비구조 단백질 5 유전자(nonstructural protein 5 (NS 5) gene)의 공통 부위를 표적으로 하는 primer FL-F1 (5'-GCC ATA TGG TAC ATG TGG CTG GGA GC-3', sense), FL-R3 (5'-GTK ATT CTT GTG TCC CAW CCG GCT GTG TCA TC-3', antisense), FL-R4 (5'-GTG ATG CGR GTG TCC CAG CCR GCK GTG TCA TC-3', antisense)을 이용하여 플라비바이러스 유전자를 검출하였다(Yang et al., 2010).

증폭곡선(amplification plot) 분석에서 보이는 형광시그널이 바이러스 특이적 산물인지 아니면 primer dimer나 비특이적 산물인지를 감별하기 위해 용해곡선 분석(melting curve analysis)을 수행하였다. 반응조건은 Table 1과 같다. 증폭곡선에서 형광시그널이 확인되고, 용해곡선 분석결과 바이러스 특이적인 용해온도(일본뇌염바이러스 및 웨스트나일바이러스 Tm값 83~84,

뎅기바이러스 Tm값 81~82)가 확인되면 양성으로 판정하였고, 차오양바이러스는 일본뇌염 바이러스와 유사한 용해곡선을 보이는 경우 양성으로 추정하고 conventional PCR로 212 bp의 band 확인 후 염기서열 분석을 통해 최종 판정하였다.

데이터 분석

강원 지역에서 채집된 모기의 병원체 감염률을 조사하기 위하여 MIR과 MLE를 통하여 감염률을 추정하였다. MIR은 양성 실험군의 개수를 총 검사 모기 개체수(1~50/실험군)로 나누어 모기 1,000마리 당 감염률을 계산하였다. 합병시료에서 감염체체의 비율을 추정하는 MLE 확률모형은 Mosquito Surveillance Software (CDC, N.D.; Biggerstaff, 2005)을 이용하여 감염률과 95% 신뢰구간을 추정하였다.

결과 및 고찰

모기의 계절적 소장

2012년부터 2017년까지 6년간 강원도 내 3개 지역(춘천시, 강릉시, 횡성군)에서 채집된 모기는 총 6속 13종 654,362마리의 모기가 채집되었으며(trap night: 1,130), 일야당 한 개의 트랩에서 채집된 평균 채집모기수인 TI (Trap Index; Individuals/trap/night)는 579.1이었다. 연도별 TI는 2012년 522.4마리, 2013년 448.1마리, 2014년 553.1마리, 2015년 670.0마리, 2016년 747.5마리, 그리고 2017년은 540.1마리로 2012~2016년까지 연도별로 개체수가 증가하는 추세를 보였다. 그러나 2017년에는 채집모기 개체수가 전년도 대비 27.8% 감소하였다(Table 2). 2017년도 모기개체수 감소의 주요 원인은 얼룩날개모기의 발생 감소 때문으로 추정되었다. 얼룩날개모기의 발생

Table 1. Real time RT-PCR conditions and melt curve program for the detection of flaviviruses

	RT-PCR cycle	Temperature	Time
1 cycle	cDNA synthesis	50°C	30 min
	Inactivation of reverse transcriptase	95°C	15 min
45 cycles	Denaturation	94°C	15 sec
	Annealing	58°C	20 sec
	Extension	72°C	30 sec
1 cycle	Denaturation	95°C	30 sec
1 cycle	Starting temp.	60°C	30 sec
	Melting step ^a	60°C	10 sec

^aIncrease in temperature set at 0.5°C per cycle.

Table 2. Summary of trap index (TI) for mosquitoes collected by light traps at three study sites in Gangwon-do, the Republic of Korea, from 2012 to 2017

Species	2012	2013	2014	2015	2016	2017	Mean TI	Total No. (%)
<i>Culex bitaeniorhynchus</i>	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	106 (0.02)
<i>Culex orientalis</i>	0.3	0.4	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3	318 (0.05)
<i>Culex pipiens</i>	26.9	23.7	22.2	33.4	33.3	11.2	25.1	28,375 (4.24)
<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	1.6	2.8	3.4	1.5	14.2	30.0	8.8	9,980 (1.53)
<i>Culex vagans</i>					0.1	0.2	0.1	56 (0.01)
<i>Mansonia uniformis</i>				0.5	1.2	0.7	0.4	450 (0.07)
<i>Anopheles sinensis</i>	399.9	265.5	306.6	371.0	381.7	195.7	320.3	361,955 (55.31)
<i>Aedes albopictus</i>	0.3	0.7	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	273 (0.04)
<i>Aedes vexans</i>	87.9	142.9	216.2	257.2	307.9	297.0	216.8	245,026 (37.45)
<i>Aedes lineatopennis</i>						1	0.0	1 (0.00)
<i>Ochlerotatus hatorii</i>					1		0.0	1 (0.00)
<i>Ochlerotatus koreicus</i>	1.5	2.3	0.6	0.7	1.6	1.5	1.4	1,552 (0.24)
<i>Armigeres subalbatus</i>	4.0	9.9	3.7	5.5	6.8	3.4	5.6	6,269 (1.00)
No. of trap night	194	192	186	186	186	186		1,130
No. of female	101,343	86,026	102,873	124,623	139,036	100,461		654,362
No. species	9	9	9	10	12	12		12
Mean TI	522.4	448.1	553.1	670.0	747.5	540.1		579.1

량은 대기온도와 강수량에 크게 영향을 받으며(Ree and Lee, 1993), 모기의 주요 발생시기인 6~7월의 누적강수량이 500 mm 일 때 모기 발생량이 크게 증가하고, 500 mm 보다 많거나 적은 경우에 모기 발생량이 감소되는 경향을 나타내는데(Kim et al., 2016), 2017년 6~7월 강릉지역 누적강수량이 265.3 mm (KMA, N.D.)로 적은 강수량에 의해 산란장소 등이 줄어들어 개체수가 감소된 것으로 추정하였다. 반면 춘천지역의 6~7월 누적강수량은 619.3 mm로 많은 강수량(KMA, N.D.)으로 인하여 모기 알과 유충이 손실되어 모기 발생량이 크게 감소한 것으로 분석된다.

연도별로 금빛숲모기 [*Aedes vexans nipponii* (Theobald)]의 증가가 컸는데, 2012년 TI 87.9마리였으나 매년 증가하여 2017년 297.0마리로 6년 사이 약 3.4배 늘어났다(Table 2). 금빛숲모기는 일명 ‘홍수모기(Floodwater mosquitoes)’라 불리며 전 세계에 널리 분포하고 있으며, 강우 후 범람한 강이나 물웅덩이에서 대량으로 발생한다(Lee, 2017). 금빛숲모기는 온도가 20~25°C 일 때 알에서부터 성충까지 9~11일 정도밖에 걸리지 않고(Read and Moon, 1996), 유충의 생존률도 높았다(Trpis and Shemanchuck, 1970). 조사기간 동안 일 평균온도가 20°C 이상인 날이 평년(2000~2011년: 105.4일)에 비해 3.2~18.2일(KMA, N.D.) 늘어났으며, 평균 기온도 0.6~0.8°C 상승하였다. 평균 기온의 상승으로 금빛숲모기 생활사(Life cycle)가 빨라지고 유

충의 생존율이 높아지면서 성충발생량이 늘어난 것으로 추정된다.

조사기간 중 2015년 춘천시, 강릉시, 횡성군에서 반점날개 높모기 [*Mansonia uniformis* (Theobald)], 2016년 횡성군에서 하도리숲모기 (*Ochlerotatus hatorii* Yamada), 2017년 횡성군에서 금빛어깨숲모기 [*Aedes lineatopennis* (Ludlow)]가 강원도 내에서 첫 채집되어, 도내 서식하는 모기종이 차츰 다양화되고 있음을 확인하였다. 2012~2017년 채집모기 중 말라리아를 매개하는 얼룩날개모기류 (*Anopheles* spp.)가 총 361,955마리가 채집되어, 전체 채집모기의 55.3%로 가장 높은 밀도를 나타냈으며, 그 뒤로 금빛숲모기와 빨간집모기 (*Culex pipiens* complex)가 각각 245,026마리(37.5%)와 28,375마리(4.2%) 순으로 채집되었다(Table 2). 조사기간에 채집된 전체 모기의 92.8%가 얼룩날개모기류, 금빛숲모기 2종이 차지하였다. 주요 모기종의 계절별 발생소장을 살펴보면, 얼룩날개모기류는 4월 1주(14주)에 출현하기 시작하여 7월 1주(27주)에 1차 고점을, 8월 5주(35주)에 2차 고점을 이루고, 그 후에 현저한 감소 추세를 나타냈다(Fig. 1). 금빛숲모기는 국내에서는 아직까지 감염병을 매개하지는 않지만, 최근 북미에서 유행하고 있는 웨스트나일 바이러스의 주요 매개종으로 알려져 있고(Tiawsirisup et al., 2008), 본 조사 결과 강원도 내에서 발생밀도가 크게 증가하고 있는 모기종이었다. 금빛숲모기는 5월 1주(18주)부터 출현하기 시작

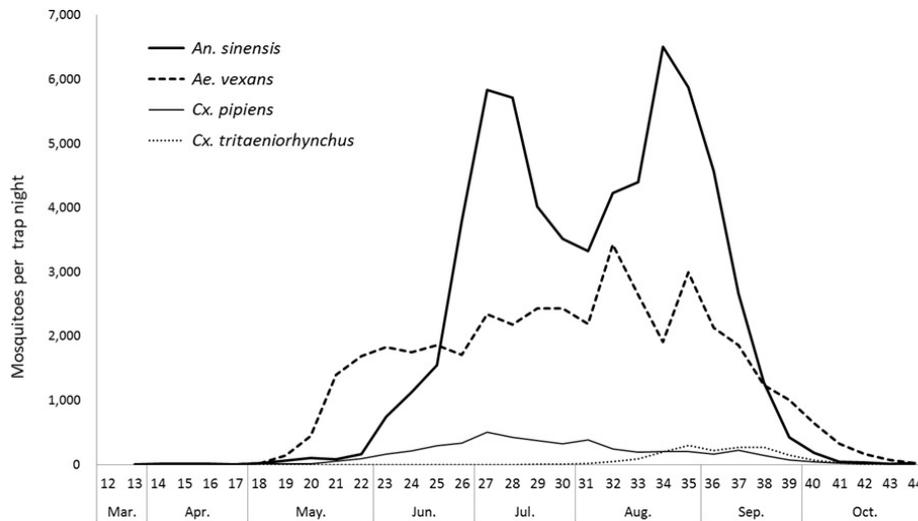


Fig. 1. Distribution of female mosquitoes collected weekly at the three study sites, from 2012 to 2017.

하여 5월 5주(22주)~9월 3주(38주)까지 꾸준히 높은 채집수를 보였다. 빨간집모기 역시 웨스트나일 바이러스의 주요 매개종으로 알려져 있으며(Hamer et al., 2008), 근래는 빨간집모기에서 일본뇌염바이러스 분리가 지속적으로 보고되고 있어 일본뇌염을 매개할 수 있는 잠재적인 매개체 중 하나로 주목 받고 있다(Kim et al., 2015; Wispelaere et al., 2017). 빨간집모기는 4월에 첫 출현하여 7월 1주(27주)에 최대 발생밀도를 보였으며, 8월 2주(32주)부터 점차 감소하였고, 10월 1주(40주)에 급감하였다. 일본뇌염을 매개하는 작은빨간집모기는 전체 채집모기의 1.5% 중 비율을 보였으며, 7월에 첫 채집되어 8월 1주(31주)부터 서서히 채집 개체수가 높아지기 시작하여 8월 5주(35주)~9월 3주(38주)까지 최대 피크를 나타냈다. 땡기열 및 지카바이러스 감염증 매개모기로 알려진 흰줄숲모기[*Aedes albopictus* (Skuse)]는 최근 일본뇌염바이러스를 전파할 수 있는 매개체로 보고되기도 하였다(Wispelaere et al., 2017). 흰줄숲모기는 조사기간 동안 강원도 내 채집된 전체모기의 0.04% 낮은 중비율을 보였다. 흰줄숲모기는 유문등에는 잘 채집되지 않고, 주간에 숲과 공원에서 많이 활동하는 종으로, 농가 우사에서 야간 동안 유문등을 설치하여 채집한 본 조사에서는 채집밀도가 낮았던 것으로 분석된다. 흰줄숲모기의 계절별 발생은 6월에 첫 출현하여 9월에 생육 활동이 가장 활발하게 나타났다(Data not shown).

모기의 Flavivirus 보유율

채집한 모기 중 플라비바이러스를 매개할 수 있는 모기를 대상으로 종별, 채집일, 채집 장소에 따라 분류·합병하여 플라비

바이러스를 검사한 결과는 다음과 같다. 총 276,224마리, 7,721개 실험군을 검사한 결과 빨간집모기 4개, 동양집모기(*Culex orientalis* Edwards) 1개, 금빛숲모기 63개 실험군에서 플라비바이러스 유전자가 검출되었다(Tables 3 and 6). 검출된 플라비바이러스를 conventional PCR과 염기서열 분석을 통하여 확인한 결과, 빨간집모기(3개)와 동양집모기(1개)에서 검출된 플라비바이러스는 일본뇌염바이러스로 금빛숲모기(63개)와 빨간집모기(1개)에서 검출된 플라비바이러스는 차오양바이러스로 확인되었다. 그 외 황열바이러스, 웨스트나일바이러스 그리고 땡기바이러스는 검출되지 않았다.

일본뇌염바이러스 감염률

일본뇌염바이러스는 2012, 2017년 춘천시, 2017년 강릉시에서 채집한 빨간집모기에서 검출되었으며, 2013년 횡성군에서 채집한 동양집모기에서도 검출되었다. 연도별 채집지역별 일본뇌염바이러스 감염률은 횡성군에서 2013년 채집된 동양집모기 19마리, 12개 실험군 중 1개의 실험군에서 검출되어 MIR 52.63, MLE 55.64 (CI 3.13~253.01)로 가장 높은 감염률을 보였으며, 2017년 강릉시에서 채집된 빨간집모기 MIR 1.38, MLE 1.37 (CI 0.08~6.56), 2017년 춘천시에서 채집된 빨간집모기 MIR 0.90, MLE 0.90 (CI 0.05~4.34), 2012년 춘천시에서 채집된 빨간집모기 MIR 0.37, MLE 0.37 (CI 0.02~1.78) 순이었다. 2014~2016년에 채집된 매개모기에서는 일본뇌염바이러스가 검출되지 않았다(Table 4). 검출된 일본뇌염바이러스의 유전형은 모두 V형 바이러스였다. 조사기간 동안 강원지역에서 일본뇌염 환자 발생은 2건(2013년 9월, 2017년 8월)이 보고

Table 3. Total number of specimens and pools^a for flavivirus detection in Gangwon-do, the Republic of Korea, from 2012 to 2017

Species		<i>Cx. bit.</i> ^b	<i>Cx. ori.</i> ^c	<i>Cx. pip.</i> ^d	<i>Cx. tri.</i> ^e	<i>Cx. vag.</i> ^f	<i>Man. uni.</i> ^g	<i>Ae. alb.</i> ^h	<i>Ae. vex.</i> ⁱ	<i>Oc. kor.</i> ^j	<i>Ar. sub.</i> ^k	<i>Oc. hat.</i> ^l	Total
Chuncheon	No.	6	61	21,427	324	23	214	31	98,534	679	2,419	-	113,835
	Pools ^a	0/6	0/49	3/585	0/65	0/9	0/59	0/26	32/2,108	0/173	0/192	-	35/3,272
Gangneung	No.	54	226	3,454	9,356	21	4	205	97,599	539	2,377	-	123,718
	Pools ^a	0/36	0/90	1/262	0/277	0/9	0/4	0/70	20/2,092	0/141	0/200	-	21/3,181
Hoeongseong	No.	30	58	1,062	392	11	229	4	36,738	40	106	1	38,671
	Pools ^a	0/19	1/37	0/198	0/39	0/4	0/47	0/2	11/855	0/24	0/42	0/1	12/1,268
Total	No.	90	345	25,943	10,072	55	447	240	232,871	1,258	4,902	1	276,224
	Pools ^a	0/61	1/176	4/1,045	0/381	0/22	0/110	0/98	63/5,055	0/338	0/434	0/1	68/7,721

^aPools: No. of positive pools / No. of tested pools.

^b*Cx. bit.*: *Culex bitaeniorhynchus*.

^c*Cx. ori.*: *Culex orientalis*.

^d*Cx. pip.*: *Culex pipiens*.

^e*Cx. tri.*: *Culex tritaeniorhynchus*.

^f*Cx. vag.*: *Culex vagans*.

^g*Man. uni.*: *Mansonia uniformis*.

^h*Ae. alb.*: *Aedes albopictus*.

ⁱ*Ae. vex.*: *Aedes vexans*.

^j*Oc. kor.*: *Ochlerotatus koreicus*.

^k*Ar. sub.*: *Armigeres subalbatus*.

^l*Oc. hat.*: *Ochlerotatus hatorii*.

Table 4. Summary of Japanese encephalitis virus infection rates using MIR and MLE values for three regions in Gangwon-do, the Republic of Korea, from 2012 to 2017

Year	Study site	Positive species	No. of mosquitoes	No. of tested pools	No. of positive pools	Genotype	MIR ^a	MLE ^b (CI ^c)
2012	Chuncheon	<i>Culex pipiens</i>	2,728	131	1	V	0.37	0.37 (0.02-1.78)
2013	Hoengseong	<i>Culex orientalis</i>	19	12	1	V	52.63	55.64 (3.13-253.01)
2017	Chuncheon	<i>Culex pipiens</i>	1,111	55	1	V	0.90	0.90 (0.05-4.34)
	Gangneung	<i>Culex pipiens</i>	724	54	1	V	1.38	1.37 (0.08-6.56)

^aMIR: minimum infection rates per 1,000.

^bMLE: maximum likelihood estimate per 1,000.

^cCI: 95% confidence interval.

되었으며, 일본뇌염바이러스는 8월 초부터 10월 초까지 채집된 모기에서 검출되어 일본뇌염 환자 발생시기와 일치하였다.

그 동안, 국내에서 일본뇌염을 매개하는 주요 모기는 작은빨간집모기로 알려져 있었다(Hamer et al., 2008). 과거 일본뇌염 환자 발생은 작은빨간집모기의 발생지역과 일치하였으나, 최근 일본뇌염 환자 발생이 작은빨간집모기의 분포 패턴과 다르게 나타났다. 그 예로 2010년 국내 발생한 26건의 일본뇌염 환자 중 5명이 강원도에서 발생하였는데(Choi, 2011), 강원도는 2010년 작은빨간집모기의 평균 발생밀도가 8.5%로 전국 평균 28.9% 대비 매우 낮은 지역이었다. 최근 일본뇌염 바이러스 매개모기에 관한 연구에 의하면, 작은빨간집모기 이외에 빨간집모기(Kim et al., 2015), 반점날개집모기(Seo et al., 2013;

Self et al., 1973), 동양집모기(Kim et al., 2015), 큰검정들모기(Takhampunya et al., 2014), 흰줄숲모기(Wispelaere et al., 2017)에서 일본뇌염바이러스 검출이 보고되었다. 본 조사에서도 춘천시, 강릉시, 횡성군에서 채집된 빨간집모기와 동양집모기에서 일본뇌염바이러스가 확인되었다. 일본뇌염바이러스의 대표적인 증폭숙주는 돼지로 알려져 있으나, 최근 발생하는 일본뇌염환자는 돼지 농가가 적은 대도시를 중심으로 발생하고 있어 도심지역 내 일본뇌염 환자 발생과 관련하여 돼지가 중요한 역할을 하지 않음을 추정하였다. Bae et al. (2018)의 연구에 의하면 시도별 왜가리 동지수와 일본뇌염 환자수간의 상관관계를 확인하여 야생조류가 도심 내 일본뇌염 전파에 주요한 요인이 될 수 있음을 제시하였다. 이러한 결과는 국내 일본뇌염환자

발생분포가 작은빨간집모기의 밀도가 높은 남쪽지방과 돼지 농가가 많은 지역에서 주로 발생하지 않고, 대도시를 중심으로 전국에서 산발적인 형태로 발생하는 이유를 설명할 수 있는 근거를 제시한다. 따라서, 국내 일본뇌염바이러스의 전파는 작은빨간집모기를 포함한 여러 종류의 모기가 매개하며, 증폭숙주로 돼지보다는 왜가리 등 야생조류가 기여하고 있을 것으로 추정된다. 또한, 각 모기종별 인체흡혈 기호성 및 개체군 밀도 그리고 병원체 감염률 등이 중요한 역할을 할 것으로 판단되며, 이에 관한 추가적인 연구가 필요하겠다. 본 조사는 강원도 내 일본뇌염 유행예측사업의 일환으로 일본뇌염바이러스 매개모기의 감시를 위하여, 채집방법을 농가 우사에 유문 등을 설치하여 채집하였다. 모기 채집은 채집환경, 시간, 트랩유형 등에 따라 크게 영향을 받기 때문에 본 조사는 자연계에 분포되어 있는 다양한 모기종의 밀도 및 감염률을 반영하지 못하였다. 따라서, 자연에서 일본뇌염바이러스 순환과정을 정확하게 이해하기 위하여 다양한 서식지, 채집방법, 채집시간 등을 고려한 후속 조사가 필요하겠다. 또한 일본뇌염바이러스 매개 모기의 다양성을 반영하여 국내 일본뇌염 유행예측 감시사업의 재검토가 필요할 것으로 생각된다.

차오양바이러스 감염률

기타 플라비바이러스 속에 속하는 차오양바이러스는 매년 전 조사지역에서 채집된 모기로부터 검출되고 있으며, 차오양바이러스의 주된 매개체는 금빛숲모기였다. 차오양바이러스는 플라비바이러스 속에 속하는 바이러스로 절지동물 특이 바이러스이며 중국 랴오닝 성(Liaoning province) 차오양 지방에서 처음 분리되었다(Wang et al., 2009). 척추동물에서의 감염성이나 병원성은 알려져 있지 않으나 모기 침샘세포주인 C6/36 세포에서 배양되며 세포병변 및 세포사멸을 보이는 것으로 보고되었다(Liu et al., 2011). 국내에서는 2003년 비무장 지대 미

국 훈련지역에서 채집된 금빛숲모기에서 처음 분리되었다(Lee et al., 2013). 강원도 내에 2012년부터 계속된 매개체 연구에서 금빛숲모기를 주종으로 차오양바이러스가 지속적으로 검출되는 것으로 볼 때, 국내에 토착화된 것으로 보인다. 강원도 내에서 6년간 채집된 금빛숲모기 232,871마리, 5,055실험군 검사결과 평균 MIR 0.27, MLE 0.28 (CI 0.21~0.35) 감염률을 보였다. 채집지역별 금빛숲모기의 차오양바이러스 감염률이 가장 높은 지역은 MIR 0.32, MLE 0.33 (CI 0.23~0.46) 감염률을 보인 춘천시였다. 그 뒤로 횡성군 MIR 0.30, MLE 0.30 (CI 0.16~0.52)과 강릉시 MIR 0.21, MLE 0.21 (CI 0.13~0.31) 순이었다(Table 5).

차오양바이러스는 금빛숲모기, 흰줄숲모기, 배꾸숲모기(*Aedes bekku* Mogi), 빨간집모기, 중국얼룩날개모기(*Anopheles sinensis* Wiedemann)의 5개 종에서도 검출되었다는 보고가 있으나(Wang et al., 2009; Lee et al., 2013), 본 조사에서는 금빛숲모기와 빨간집모기를 제외한 기타 모기에서는 차오양바이러스가 검출되지 않았다. 이는 채집방법 및 장소에 따라 채집되는 주요종이 다르기 때문으로 보인다. 본 조사에서 사용된 유문등은 작은빨간집모기나 금빛숲모기와 같은 모기종 채집에는 효과적이거나, 주로 낮에 활동하는 특징을 지닌 숲모기 채집에는 비효율적이기 때문에 차오양바이러스의 광범위한 숙주특이성을 확인하기 위해 다양한 채집방법 및 장소에서 채집된 모기를 대상으로 한 추가적인 감시가 필요할 것으로 보인다.

금빛숲모기에서 차오양바이러스는 주로 이른 봄과 여름에 검출되는 것으로 알려져 있으나(Takhampunya et al., 2014), 본 조사에서 월별 차오양바이러스 검출시험군은 8월에 19개 실험군으로 가장 높게 나타났으며, 7월에 17개, 6월에 11개, 9월에 10개, 5월에 4개, 10월 2개 실험군 순으로 확인되었다(Tables 6 and 7). 월별 금빛숲모기의 차오양바이러스 감염률은 10월 5,239마리에서 2개 실험군에서 차오양바이러스가 검출되어 MIR 0.38, MLE 0.38 (CI 0.07~1.25)로 가장 높은 감염률을 나타내었고, 7월 MIR 0.30, MLE 0.30 (CI 0.18~0.47), 9월

Table 5. Summary of Chaoyang virus infection rates using MIR and MLE values for three regions in Gangwon-do, the Republic of Korea, from 2012 to 2017

Study site	Positive species	No. of mosquitoes	No. of tested pools	No. of positive pools	MIR ^a	MLE ^b (CI ^c)
Chuncheon	<i>Aedes vexans</i>	98,534	2,108	32	0.32	0.33 (0.23-0.46)
	<i>Culex pipiens</i>	21,427	585	1	0.05	0.05 (0.00-0.23)
Gangneung	<i>Aedes vexans</i>	97,599	2,092	20	0.21	0.21 (0.13-0.31)
Hoengseong	<i>Aedes vexans</i>	36,738	855	11	0.30	0.30 (0.16-0.52)

^aMIR: minimum infection rates per 1,000.

^bMLE: maximum likelihood estimate per 1,000.

^cCI: 95% confidence interval.

MIR 0.29, MLE 0.29 (0.15~0.51), 8월 MIR 0.27, MLE 0.27 (CI 0.17~0.42), 6월 MIR 0.24, MLE 0.25 (CI 0.13~0.43), 5월 MIR 0.19, MLE 0.19 (CI 0.06~0.47) 순이었다 (Table 7). 7~9월

까지 검출률은 금빛숲모기의 월별 발생밀도와 연관성이 있는 것으로 보였으나, 10월에 채집된 금빛숲모기의 차오양바이러스 감염률은 다른 시기에 비해 다소 높은 것으로 확인되었다.

Table 6. Collection sites and dates, and mosquito species for flavivirus-positive mosquito pools, from 2012 to 2017

Study site	Collection Date	Species	Pathogen
Chuncheon	29 May 2012	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	13 August 2012	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	11 September 2012	<i>Culex pipiens</i>	Japanese encephalitis virus
Chuncheon	15 July 2013	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	22 July 2013	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Hoengseong	02 September 2013	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Hoengseong	02 September 2013	<i>Culex orientalis</i>	Japanese encephalitis virus
Hoengseong	09 September 2013	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Hoengseong	16 September 2013	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	23 September 2013	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	14 October 2013	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	27 May 2014	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	02 June 2014	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	03 June 2014	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	06 June 2014	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	16 June 2014	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Hoengseong	23 June 2014	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	30 June 2014	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	21 July 2014	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	04 August 2014	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	11 August 2014	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	25 August 2014	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	25 August 2014	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Hoengseong	18 May 2015	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Hoengseong	06 July 2015	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	27 July 2015	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	24 August 2015	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	21 September 2015	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	13 June 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	14 June 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	20 June 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Hoengseong	28 June 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	12 July 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	12 July 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	12 July 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	19 July 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	26 July 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	02 August 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus

Table 6. Continued

Study site	Collection Date	Species	Pathogen
Gangneung	09 August 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	09 August 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Hoengseong	16 August 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Hoengseong	17 August 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	30 August 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	12 September 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	16 September 2016	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	10 May 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	27 June 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	27 June 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	07 July 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	07 July 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	08 July 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	17 July 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	17 July 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	20 July 2017	<i>Culex pipiens</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	20 July 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	7 August 2017	<i>Culex pipiens</i>	Japanese encephalitis virus
Chuncheon	7 August 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	7 August 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	7 August 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	10 August 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	17 August 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	28 August 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Hoengseong	29 August 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	13 September 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Hoengseong	11 September 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Gangneung	12 September 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus
Chuncheon	2 October 2017	<i>Culex pipiens</i>	Japanese encephalitis virus
Gangneung	12 October 2017	<i>Aedes vexans</i>	Chaoyang virus

Table 7. Summary of MIR and MLE of Chaoyang virus infection rates by month in Gangwon-do, the Republic of Korea, from 2012 to 2017

Month	No. of mosquitoes	No. of tested pools	No. of positive pools	MIR ^a	MLE ^b (CI ^c)
April	39	6	0	0.00	-
May	20,592	481	4	0.19	0.19 (0.06-0.47)
June	45,048	967	11	0.24	0.25 (0.13-0.43)
July	57,118	1,210	17	0.30	0.30 (0.18-0.47)
August	69,758	1,460	19	0.27	0.27 (0.17-0.42)
September	35,077	764	10	0.29	0.29 (0.15-0.51)
October	5,239	167	2	0.38	0.38 (0.07-1.25)

^aMIR: minimum infection rates per 1,000.

^bMLE: maximum likelihood estimate per 1,000.

^cCI: 95% confidence interval.

결론

강원도 3개 지역에 서식하는 모기를 대상으로 모기매개 플라비바이러스를 조사한 결과, 빨간집모기와 동양집모기가 일본뇌염바이러스를 전파시킬 수 있는 잠재적인 매개체임을 확인하였으며, 검출된 일본뇌염바이러스 유전자형은 모두 V형이었다. 매개체 내 일본뇌염바이러스 유전자 검출시기는 8~10월까지로 실제 일본뇌염 환자 발생시기와 일치하였다.

플라비바이러스의 일종인 차오양바이러스가 금빛숲모기를 주종으로 강원도 전 지역에서 매년 검출되어, 강원도 내 토착화된 것으로 판단된다. 6년간 금빛숲모기의 차오양바이러스 감염률은 MIR 0.27, MLE 0.28 (CI 95%: 0.21~0.35)으로 추정하였다. 금빛숲모기의 차오양바이러스 지역별 감염률은 춘천시와 횡성군은 큰 차이가 없었고, 강릉시의 감염률은 춘천시와 횡성군에 비해 낮게 나타났다. 차오양바이러스는 5월 중순부터 10월 중순까지 꾸준히 검출되었고 월별 양성 실험군은 8월이 가장 많았으며, 금빛숲모기의 차오양바이러스 감염률이 가장 높은 시기는 10월이었다. 아직까지 차오양바이러스의 병원성은 알려져 있지 않지만, 국내에 토착화된 바이러스로 척추동물에서의 병원성을 완전히 배제하기 위해서는 보다 철저한 연구와 바이러스 유전자 변이 및 인체감염 위험성에 대한 지속적인 모니터링이 필요하겠다.

Literature Cited

Andrews, E.S., Turell, M.J., 2016. Effect of holding conditions on the detection of chikungunya and Venezuelan equine encephalitis viruses in mosquito pools. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 32, 51-54.

Bae, W., Kim, J.H., Kim, J., Lee, J., Hwang, E.S., 2018. Changes of epidemiological characteristics of Japanese encephalitis viral infection and birds as a potential viral transmitter in Korea. *J. Korean Med. Sci.* 33, e70.

Biggerstaff, B., 2005. PooledInfRate software. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 5, 420-421.

Brady, O.J., Gething, P.W., Bhatt, S., Messina, J.P., Brownstein, J.S., Hoen, A.G., Moyes, C.L., Farlow, A.W., Scott, T.W., Hay, S.I., 2012. Refining the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 6, e1760.

Burkhalter, K.L., Savage, H.M., 2017. Detection of Zika virus in desiccated mosquitoes by real-time reverse transcription PCR and plaque assay. *Emerg. Infect. Dis.* 23, 680-681.

CDC (Center for Disease Control and Prevention), N.D. Mosquito Surveillance Software. <https://www.cdc.gov/westnile/resource/pages/mosqSurvSoft.html>. Accessed on 12 March, 2018.

Chiang, C.L., Reeves, W.C., 1962. Statistical estimation of virus infection rates in mosquito vector populations. *Am. J. Hyg.* 75, 377-391.

Choi, Y.J., 2011. Status of Japanese Encephalitis in Korea, 2010. *Public Health Weekly Report KCDC* 49, 149-151.

Cowling, D.W., Gardner, I.A., Johnson, W.O., 1999. Comparison of methods for estimation of individual-level prevalence based on pooled samples. *Prev. Vet. Med.* 39, 211-225.

Gu, W., Lampman, R., Novak, R.J., 2003. Problems in estimating mosquito infection rates using minimum infection rate. *J. Med. Entomol.* 40, 595-596.

Gubler, D.J., 2007. The continuing spread of West Nile virus in the western hemisphere. *Clin. Infect. Dis.* 45, 1039-1046.

Hamer, G.L., Kitron, U.D., Brawn, J.D., Loss, S.R., Ruiz, M.O., Goldberg, T.L., Walker, E.D., 2008. *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae): a bridge vector of West Nile virus to humans. *J. Med. Entomol.* 45, 125-128.

Heinz, F.X., Stiasny, K., 2012. Flaviviruses and their antigenic structure. *J. Clin. Virol.* 55, 289-295.

Hepworth, G., 1996. Exact confidence intervals for proportions estimated by group testing. *Biometrics* 52, 1134-1146.

KCDC (Korea Centers for Disease Control and Prevention), N.D. KCDC Infectious Disease Portal website. <http://www.cdc.go.kr/npt/>. Accessed on 29 January 2018.

Kim, H.W., Cha, G.W., Jeong, Y., Lee, W.G., Chang, K.S., Roh, J.Y., Yang, C.Y., Park, M.Y., Park, C., Shin, E.Y., 2015. Detection of Japanese encephalitis virus genotype V in *Culex orientalis* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in Korea. *PLoS One* 10, e0116547.

Kim, Y.S., Ko, S.H., Ko, E.M., Chung, S.J., 2016. Vector surveillance against climate change in Gangwon-do, Annual Research Report, Gangwon Institute of Public Health and Environment Research, 118-121.

KMA (Korea Meteorological Administration), N.D. KMA Open weather data portal website. <https://data.kma.go.kr/cmmn/main.do>. Accessed on 5 March 2018.

Kuno, G., 1998. Universal diagnostic RT-PCR protocol for arboviruses. *J. Virol. Meth.* 72, 27-41.

Lee, D.K., 2017. Ecological characteristics and current status of infectious disease vectors in South Korea. *J. Korean Med. Assoc.* 60, 458-467.

Lee, J.S., Grubaugh, N.D., Kondig, J.P., Turell, M.J., Kim, H.C., Klein, T.A., O'Guinn, M.L., 2013. Isolation and genomic characterization of Chaoyang virus strain ROK144 from *Aedes vexans nipponii* from the Republic of Korea. *Virology* 435, 220-224.

Liu, H., Gao, X., Liang, G., 2011. Newly recognized mosquito-associated viruses in mainland China, in the last two decades. *Virol. J.* 8, 68-80.

Lord, C.C., Rutledge, C.R., Tabachnick, W.J., 2006. Relationships between host viremia and vector susceptibility for arboviruses. *J. Med. Entomol.* 43, 623-630.

- Nam, J.G., 2013. Flavivirus surveillance in mosquitoes collected from the quarantine area of Incheon National Airport, 2012. Public Health Weekly Report, KCDC 6, 21-25.
- Park, S.I., 2012. A sampling strategy for estimating infection rate in vector mosquitos of mosquito borne bovine viral diseases. J. Vet. Clin. 29, 63-67.
- Read, N.R., Moon, R.D., 1996. Simulation of development and survival of *Aedes vexans* (Diptera: Culicidae) larvae and pupae. Environ. Entomol. 25, 1113-1121.
- Ree, H.I., Lee, S.K., 1993. Studies on mosquito population dynamics in Chollabug-do, Korea (1985-1990). Factors influencing population sizes of *Culex tritaeniorhynchus* and *Anopheles sinensis*. Korean J. Entomol. 23, 185-194.
- Self, L.S., Shin, H.K., Kim, K.H., Lee, K.W., Chow, C.Y., Hong, H.K., 1973. Ecological studies on *Culex tritaeniorhynchus* as a vector of Japanese encephalitis. Bull. World Health Organ. 49, 41-47.
- Seo, H.J., Kim, H.C., Klein, T.A., Ramey, A.M., Lee, J.H., Kyung, S.G., Park, J.Y., Cho, Y.S., Cho, I.S., Yeh, J.Y., 2013. Molecular detection and genotyping of Japanese encephalitis virus in mosquitoes during a 2010 outbreak in the Republic of Korea. PLoS One 8, e55165.
- Takhampunya, R., Kim, H.C., Tippayachai, B., Lee, D.K., Lee, W.J., Chong, S.T., Kim, M.S., Lee, J.S., Klein, T.A., 2014. Distribution and mosquito hosts of Chaoyang virus, a newly reported flavivirus from the Republic of Korea, 2008-2011. J. Med. Entomol. 51, 464-474.
- Tiawsirisup, S., Kinley, J.R., Tucker, B.J., Evans, R.B., Rowley, W.A., Platt, K.B., 2008. Vector competence of *Aedes vexans* (Diptera: Culicidae) for West Nile virus and potential as an enzootic vector. J. Med. Entomol. 45, 452-457.
- Trpiš, M., Shemanchuk, J.A., 1970. Effect of constant temperature on the larval development of *aedes vexans* (Diptera: Culicidae). Can. Entomol. 102, 1048-1051.
- Turell, M.J., Spring, A.R., Miller, M.K., Cannon, C.E., 2002. Effect of holding conditions on the detection of West Nile viral RNA by reverse transcriptase-polymerase chain reaction from mosquito (Diptera: Culicidae) pools. J. Med. Entomol. 39, 1-3.
- Wang, Z.S., An, S.Y., Wang, Y., Han, Y., Guo, J., 2009. A new virus of flavivirus: Chaoyang virus isolated in Liaoning province. Chin. J. Pub. Health 25, 769-772.
- Ward, R.A., 1992. Third supplement to "A catalog of the mosquitoes of the world" (Diptera: Culicidae). Mosq. Syst. 24, 177-230.
- Wispelaere, M., Desprès, P., Choumet, V., 2017. European *Aedes albopictus* and *Culex pipiens* are competent vectors for Japanese encephalitis virus. PLoS Negl. Trop. Dis. 13, e0005294.
- Yang, C.F., Chen, C.F., Su, C.L., Teng, H.J., Lu, L.C., Lin, C., Wang, C.Y., Shu, P.Y., Huang, J.H., Wu, H.S., 2010. Screening of mosquitoes using SYBR Green I-based real-time RT-PCR with group-specific primers for detection of Flaviviruses and Alphaviruses in Taiwan. J. Virol. Methods 168, 147-151.