활기찬 경남 행복한 도민

2022년 숲모기류의 병원체 감염실태 조사 결과 보고서

보건환경연구원
(질병조사팀 엄지영)

2022년 숲모기류의 병원체 감염실태 조사 결과 보고서

지카바이러스 감염증, 뎅기열 등을 매개하는 모기(숲모기류)채집 및 바이러스 감염률 조사로 도민보건 향상에 기여

1 사업 개요

❍(**추진배경**) 해외유행 감염병을 매개하는 숲모기류의 분포 및 바이러스 감염률 조사로 숲모기매개 감염병 지역토착화 감시 및 방제 관리의 기초 자료로 활용하기 위함

❍(**조사기간**) 2022. 4. 1. ~ 10. 31.(7개월)

❍(**조사지점**) 진주지역 2곳(서부청사, 금산면)

❍(**대상 병원체**) 지카바이러스(Zika virus), 뎅기바이러스(Dengeu virus), 황열바이러스(Yellow fever virus), 치쿤구니야바이러스(Chikungunya virus), 웨스트나일바이러스(West Nile virus)

< 모기매개 감염병 매개체 및 바이러스 >

모기매개 감염병 바이러스	Family	매개체
지카바이러스	플라비바이러스	숲모기류
뎅기바이러스		
황열바이러스		
치쿤구니야바이러스	토가바이러스	
웨스트나일바이러스	플라비바이러스	집모기류

❍(**검사방법**) 유전자 검사, 염기서열 분석

2 조사방법

▢ 조사 흐름도

< 숲모기류 병원체 보유여부 조사 흐름도 >

채집 및 분류	➡	전처리	➡	모기 조직 파쇄	➡	RNA 추출
BG-sentinel trap		RDL buffer suspension		Homogenizer		Clear-s total RNA extraction kit

➡	스크리닝 검사	➡	확인검사	➡	염기서열 분석
	Real-time RT-PCR		conventional RT-PCR		BIONICS 의뢰

❑ 시험내용 및 방법

❍ (모기채집 및 분류) 숲모기류 서식 가능 지역* 선정 후 BG-sentinel trap**을 사용하여 채집한 모기 분류

* 도심지역의 야산과 공원, 물고인 배수로, 대나무숲, 소나무지역, 인공 웅덩이 및 폐타이어 주변

** 젖산을 사용해 모기만을 선택적으로 유인하는 모기 채집기로서 옥테놀(사람이나 동물의 피부에서 나오는 휘발성 물질)과 이산화탄소를 유인제로 BG-sentinel trap에서 채취 가능

BG-Sentinel trap 구조	BG-sentinel trap을 이용한 채집 예시

❍(모기파쇄) 2mL 파쇄용 튜브에 종별 분류된 숲모기를 최대 30개체와 RDL buffer 350㎕를 첨가하고 Automatic homogenizer(Bertin Technologies)에 넣고 7,500rpm, 30초 작동한 후, Vortexing하고 10분 정치함

❍(상층액 분리) 4℃, 13,000rpm, 1min 원심분리

❍(RNA 추출) Clear-s total RNA extraction kit를 사용해 RNA 추출

❍(Screening test) Real-time RT-PCR, 이 단계에서 유전자가 검출되면 verification inspection 진행

- 지카바이러스, 뎅기바이러스, 치쿤구니야바이러스 검사

Screening Test

PowerCheck ZIKV/DENA/CHIKV Real-time PCR kit (KOGEN)

PCR Premix Reaction mixture	첨가량
premix	15 μL
Template RNA	5 μL
Total	20 μL

RT-PCR cycle		Temp.	Time
1cycle	cDNA synthesis	50℃	30min
	Inactivation of Reverse transcriptase	95℃	15min
45cycles	Denaturation	94℃	15sec
	Annealing	58℃	20sec
	Extension	72℃	30sec

- 지카바이러스, 뎅기열바이러스, 황열바이러스, 웨스트나일바이러스 검사

Screening Test

Clear-MD®
Flavivirus Real-time
RT-PCR detection kit
(INVIRUSTECH)

PCR reaction mixture	첨가량
2X qRT-PCR Master mix	10 μL
Detection primer mix	2μL
Template RNA(sample) or Control	5μL
Water	3μL
Total	20μL

RT-PCR cycle		Temp.	Time
1cycle	Reverse transcription	50℃	15min
	Enzyme activation	95℃	10min
45cycles	Denaturation	95℃	10sec
	Annealing	60℃	15sec
	Extension	72℃	10sec
	Signal reading	80℃	30sec

- Amplification plot 분석에서 보이는 형광시그널이 바이러스 특이산물인지 primer dimer나 비특이산물인지를 감별하기 위해 다음 조건으로 melt curve analysis(융해곡선분석)를 수행

Melt curve analysis	Temp.	Time
Denaturation	95℃	30sec
Melting	60℃	30sec
	95℃	30sec
Cooling	25℃	30sec

- 1 cycle 마다 0.5℃씩 올려 10초간 유지하며 형광시그널 읽음

❍ (Verification inspection) Conventional RT-PCR진행

Verification inspection

Clear-MD®
Flavivirus Real-time
RT-PCR detection kit
(INVIRUSTECH)

PCR reaction mixture	첨가량
2x PCR mix	10 μL
Nested primer mix(sequencing)	2 μL
DNA template (1st PCR product)	1 μL
Water	7 μL
Total	20 μL

PCR cycle		Temp.	Time
1cycle	Enzyme activation	95℃	3min
10cycles	Denaturation	95℃	30sec
	Annealing	50℃	30sec
	Extension	72℃	20sec
20cycles	Denaturation	95℃	30sec
	Annealing	60℃	30sec
	Extension	72℃	20sec
-	Store	12℃	∞

❍ Sequencing으로 최종 병원체 확인

3 결과

❏ 모기채집 결과

❍(전체 모기 채집 현황)

- 총 5속(genus) 7종(species) 1,040개체의 모기가 채집되었음
- 모기 종별 분포는 한국숲모기(441마리, 42.4%), 큰검정들모기(313마리, 30.1%), 흰줄숲모기(265마리, 25.5%), 빨간집모기(16마리, 1.5%), 작은빨간집모기(3마리, 0.3%), 얼룩날개모기속과 금빛숲모기(각각 1마리, 0.1%) 순으로 채집되었음

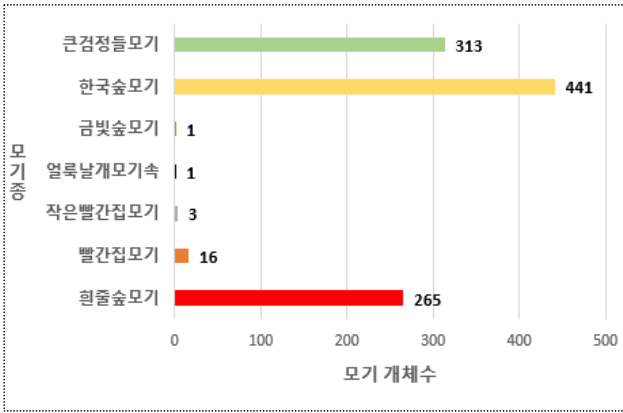
❍(월별 채집 현황)

- 6월에 모기가 첫 채집되어 증가세를 보이다가 8월에 360개체로 가장 많이 채집되었고 그 후 10월까지 점차 감소세를 보임
- 흰줄숲모기는 6월(19마리, 44.2%)부터 채집되었으며, 7월(72마리, 30.6%), 8월(54마리, 15.0%), 9월(84마리, 25.8%), 10월(36마리, 47.4%)로 지속적으로 채집되었고 총 265마리 채집되었음
- 흰줄숲모기가 6월에는 44.2%(19/43마리)로 채집 모기 중 가장 많은 비중을 차지하였고, 7월과 9월에는 한국숲모기가 각각 60.0%(141/235마리), 41.1%(134/326마리)로 가장 높은 비중을 차지하였으며, 8월과 10월에는 큰검정들모기가 각각 43.9%(158/360마리), 38.2%(29/76마리)로 가장 높은 비중을 차지하였음

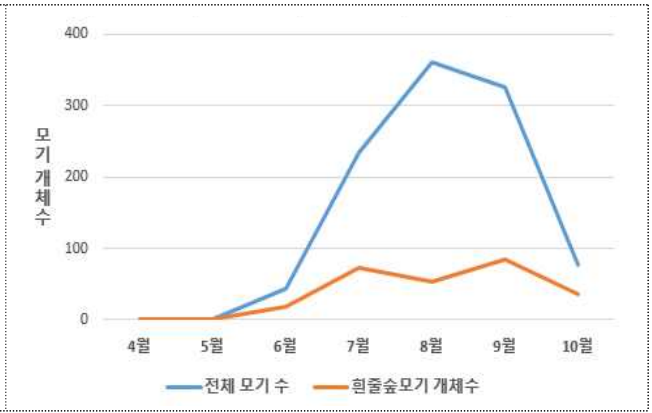
❍(지점별 채집 현황)

- 채집된 전체모기의 지점별 개체수는 서부청사에서 699마리(67.2%), 금산에서 341마리(32.8%) 채집되었음
- 흰줄숲모기는 서부청사에서 162마리(61.1%), 금산에서 103마리(38.9%) 채집되었음
- 모기 종별 분포를 보면 작은빨간집모기(서부청사 1마리, 금산 2마리)를 제외하고 나머지 6종 모기가 모두 서부청사에서 더 많이 채집되었음

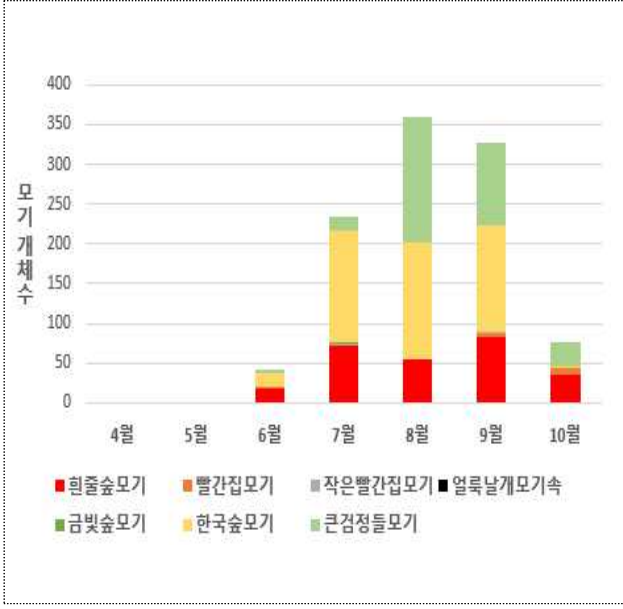
〈종별 채집 개체수 현황〉



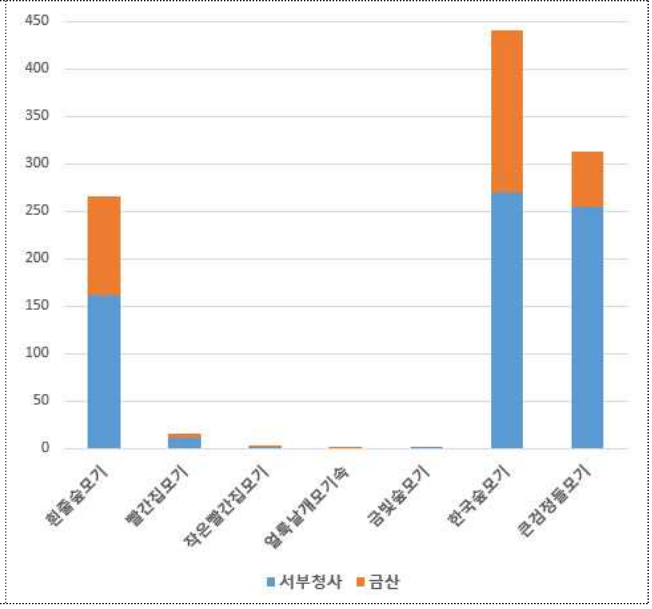
〈월별 전체모기/흰줄숲모기 개체수 현황〉



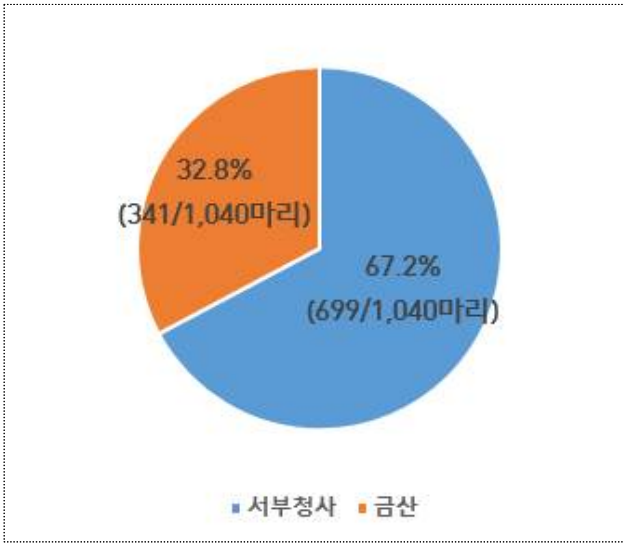
<월별 채집모기 현황〉



<지점별 채집모기 현황〉



〈채집 지점별 채집 모기 비율〉



〈채집 지점별 흰줄숲모기 채집 비율 〉

<2022년 채집조건 및 채집모기 종류 현황>

(개체)

채집조건							모기종류						
월	일자	장소	평균기온 (℃)	상대습도 (%)	일 강수량 (mm)	총계	*Ae.alb* 흰줄 숲모기	*Cx.pip* 빨간 집모기	*Cx.tri* 작은빨간 집모기	*An.spp* 얼룩날개 모기속	*Ae.vex* 금빛 숲모기	*Oc.okr* 한국 숲모기	*Ar.sub* 큰검정 들모기
4	25	서부청사	19.2	71.0	17.3	-	-	-	-	-	-	-	-
		금산면				-	-	-	-	-	-	-	-
	소계					**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
5	3	서부청사	13.1	61.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		금산면				-	-	-	-	-	-	-	-
	30	서부청사	22.9	63.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		금산면				-	-	-	-	-	-	-	-
	소계					**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
6	10	서부청사	16.1	74.5	-	1	1	-	-	-	-	-	-
		금산면				0	-	-	-	-	-	-	-
	29	서부청사	25.7	89.8	2.2	24	12	1	-	-	-	6	5
		금산면				18	6	-	-	-	-	11	1
	소계					**43**	**19**	**1**	**0**	**0**	**0**	**17**	**6**
7	1	서부청사	26.8	81.4	-	30	7	-	-	-	-	11	12
		금산면				14	3	-	-	-	-	8	3
	7	서부청사	28.5	81.8	-	7	4	-	1	-	1	1	-
		금산면				2	2	-	-	-	-	-	-
	20	서부청사	26.6	75.6	-	24	12	-	-	-	-	11	1
		금산면				49	8	1	-	1	-	39	-
	22	서부청사	25.5	74.5	-	27	8	-	-	-	-	19	-
		금산면				18	4	-	-	-	-	14	-
	29	서부청사	28.3	80.1	-	46	16	-	-	-	-	29	1
		금산면				18	8	-	-	-	-	9	1
	소계					**235**	**72**	**1**	**1**	**1**	**1**	**141**	**18**

(개체)

채집조건							모기종류						
월	일자	장소	평균기온 (℃)	상대습도 (%)	일 강수량 (mm)	총계	*Ae.alb* 흰줄 숲모기	*Cx.pip* 빨간 집모기	*Cx.tri* 작은빨간 집모기	*An.spp* 얼룩날개 모기속	*Ae.vex* 금빛 숲모기	*Oc.okr* 한국 숲모기	*Ar.sub* 큰검정 들모기
8	5	서부청사	28.4	84.5	-	54	7	1	-	-	-	20	26
		금산면				20	5	-	-	-	-	5	10
	8	서부청사	28.9	77.6	-	25	-	-	-	-	-	4	21
	10	서부청사	28.1	80.6	-	76	10	-	-	-	-	25	41
		금산면				37	3	-	-	-	-	34	-
	18	서부청사	25.2	80.3	-	123	23	-	-	-	-	44	56
		금산면				25	6	-	-	-	-	15	4
	소계					**360**	**54**	**1**	**0**	**0**	**0**	**147**	**158**
9	2	서부청사	20.6	93.8	4.7	67	25	1	-	-	-	22	19
		금산면				42	8	-	-	-	-	14	20
	15	서부청사	24.0	76.8	-	42	7	-	-	-	-	22	13
		금산면				30	16	1	-	-	-	8	5
	22	서부청사	18.0	25.9	-	54	5	-	-	-	-	38	11
		금산면				29	8	2	2	-	-	12	5
	29	서부청사	19.6	75.5	-	40	2	-	-	-	-	17	21
		금산면				22	13	-	-	-	-	1	8
	소계					**326**	**84**	**4**	**2**	**0**	**0**	**134**	**102**
10	14	서부청사	24.0	78.3	-	13	8	1	-	-	-	1	3
		금산면				8	7	-	-	-	-	1	-
	18	서부청사	10.6	50.5	-	27	5	2	-	-	-	-	20
		금산면				3	2	-	-	-	-	-	1
	28	서부청사	12.5	70.1	-	19	10	5	-	-	-	-	4
		금산면				6	4	1	-	-	-	-	1
	소계					**76**	**36**	**9**	**0**	**0**	**0**	**2**	**29**
총 계						**1,040**	**265 (25.5%)**	**16 (1.5%)**	**3 (0.3%)**	**1 (0.1%)**	**1 (0.1%)**	**441 (42.4%)**	**313 (30.1%)**

❑ 바이러스 보유 감염률 조사

❍(바이러스감염률 조사)

- 플라비바이러스(지카, 뎅기, 일본뇌염, 웨스트나일, 황열) 및 토가바이러스(치쿤구니야) 감염률 조사
- 날짜별, 지점별, 모기종류별로 30개체 이하를 1pool로 하여 병원체 검출을 위한 바이러스 유전자 검사 진행
- 유전자검사 전체 검체(pools)수: 109개 pools
- PowerCheck ZIKV/DENA/CHIKV Real-time PCR kit 검사 결과: **음성** 109개 pools에서 지카, 뎅기열, 치쿤구니야 바이러스의 유전자가 검출 되지 않음
- Clear-MD® Flavivirus Real-time RT-PCR detection kit 검사 결과: **음성** 109개 pools에서 지카, 뎅기열, 황열, 웨스트나일 바이러스의 유전자가 검출 되지 않음

❑ 최근 3년간 흰줄숲모기 등 검사 비교(2020년~2022년)

❍(모기채집 결과 비교)

- 최근 3년간 채집된 총 모기 개체 수 현황
  : '20년(67개체, 19pools) → '21년(95개체, 15pools) → '22년(1,040개체, 109pools)
- '22년도에 전체 채집 모기개체수가 크게 증가하였음. 이는 올해 모기 트랩 설치 개수 증가, 채집 장소 변경, 평균기온 및 강수량 변화 등에 의한 영향으로 생각됨
- 3년간 모기의 개체수가 증가하는 5~9월의 평균기온은*** 대체로 비슷하였으나, 평균 강수량은 매년 감소하였으며 2022년에 가장 적었음

  ***2020년(22.38℃, 297.7mm)→ 2021년(22.78℃, 204.1mm)→ 2022년(23.22℃, 132.82mm)

- 바이러스 보유 감염률 조사결과
  : 최근 3년간 지카, 뎅기열, 황열, 치쿤구니야, 웨스트나일 바이러스 유전자 분석 결과 5종 바이러스가 모두 검출되지 않음

<최근 3년간 평균기온 및 월 합계강수량>

구분	평균기온(℃)			월 합계강수량(mm)		
	2020년	2021년	2022년	2020년	2021년	2022년
3월	8.7	9.8	8.7	41.1	159.2	115.9
4월	11.4	13.6	14.3	67.9	82.2	69.5
5월	18.2	17.6	18.8	110.1	116.9	0.9
6월	23.0	22.2	22.7	234.2	101.7	121.3
7월	22.7	26.2	26.5	587.5	359.3	218.0
8월	27.3	26.0	26.3	356.7	320.2	157.3
9월	20.7	21.9	21.8	200.0	122.4	166.6
10월	14.5	15.9	15.1	28.6	46.2	22.3
11월	9.1	8.4	9.9	25.6	44.3	87.8
평균	17.3	18.0	18.2	183.5	150.3	106.6

4 결론

❍(현황)

- 현재까지 경남지역은 매개 모기에 의한 바이러스는 검출되지 않았음. 하지만 흰줄숲모기의 서식지는 전국으로 확대되고, 숲에서 도심 지역으로 서식지가 점점 옮겨가는 추세로 감시체계 유지 필요
- 국내 전 지역에 매개모기가 서식하고 있어, ‘환자 → 모기 → 사람’ 의 순환고리를 통한 매개모기 바이러스의 국내 토착화 위험 상론

❍(향후과제)

- 4~11월까지 계절별 모기 발생 양상 등 환경 및 기후변화에 따라 흰줄숲모기 등 숲모기 종들의 번식 및 생육에 대한 지속적인 조사가 필요
- 기후 또는 환경의 변화가 모기 서식지 확장과 모기 개체수 증가로 이어져 모기매개감염병 토착화 우려가 있어 지속적인 매개체 감시와 방역대책 필요