

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2018.01.004

# 2015—2016 年川南地区猪繁殖与呼吸综合征病毒遗传进化分析<sup>①</sup>

周英顺<sup>1</sup>, 谢波<sup>2</sup>, 陈敏<sup>3</sup>, 王光西<sup>1</sup>, 任定强<sup>3</sup>

1. 西南医科大学基础医学院病原生物学教研室, 四川 泸州 646000;

2. 成都正大农牧食品有限公司动物保健中心, 成都 611130; 3. 泸州市动物疫病预防与控制中心, 四川 泸州 646000

**摘要:** 猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)主要引起母猪繁殖障碍与生长猪呼吸障碍性疾病, 给养猪业造成严重损失. 为了解川南地区 2015—2016 年 PRRSV 遗传变异情况, 该研究收集了 85 份疑似感染 PRRSV 组织样品, 通过 RT-PCR 扩增 ORF5 基因, 对其进行克隆、序列测定和所测序列遗传进化分析. 获得 15 个 ORF5 序列, 其遗传距离与序列相似性为 0.0~0.25 和 81.1%~100%. 与 VR2332, JXA1, NADC30 和 JX1411 核酸序列相似性分别为 83.4%~89.1%, 83.4%~99.3%, 81.9%~95.7%和 81.4%~92.9%. 进化树分析显示, 15 个 ORF5 序列形成 3 个亚群, 8 个 ORF5 序列与 JXA1 形成 subcluster I, 5 个与 NADC30 like 形成 subcluster II, 2 个与 ZJ1503 like 毒株形成 subcluster III. 研究表明, 该地区 PRRSVs 毒株基因型日趋复杂, 建议通过合理疫苗免疫, 减少通过重组导致出现复杂的 PRRSV 基因型, 对 PRRSV 的防控具有重要意义.

**关键词:** 猪繁殖与呼吸综合征病毒; ORF5 基因; NADC30; 遗传进化

**中图分类号:** S852.65<sup>+</sup>1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-9868(2018)01-0021-06

猪繁殖与呼吸综合征病毒(porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV)主要导致母猪出现繁殖障碍和生长保育猪出现呼吸系统障碍疾病<sup>[1]</sup>. PRRSVs 20 世纪 80 年代在美国首次出现, 1991 年 Wensvoort 等<sup>[2]</sup>在欧洲首次分离到该病毒 LV(Lentivirus)疾毒株, 此后 PRRSV 全球流行. 1996 年我国兽医学专家郭宝清等<sup>[3]</sup>在流产的猪胎中首次分离到 PRRSV 病毒 CH-1a, 证明了中国大陆存在猪繁殖与呼吸综合征病毒感染. 2007 年, Tian 等<sup>[4]</sup>报道了导致 2006 年我国爆发高致病性蓝耳病, 以引起成年猪高热, 耳朵发蓝, 严重呼吸障碍, 高死亡率为特征的疾病, 对我国养猪业造成严重损失的 HP-PRRSV 类型毒株 JXA1, 此后我国分离到多株该类型毒株如 HuN4<sup>[5-6]</sup>. 近年来, 由于猪繁殖与呼吸综合征病毒具有广泛持续的遗传变异多样性特征, 特别是高致病性毒株新亚型和流行新毒株的不断出现, 给规模化猪场猪繁殖与呼吸综合征的防治带来了严重挑战, 导致该病广泛流行给养猪业造成严重危害<sup>[7-9]</sup>. 目前主要靠疫苗免疫如 HP-PRRSV 毒株的 JXA1, HUN4, TJ 和经典的 CH-1a 疫苗对该病进行防治. 但是大量研究表明, 现有的疫苗尚不能完全有效地预防所有 PRRSV 流行毒株. 尤其是近年来, 疫苗免疫压力和猪场种猪的引种导致我国出现 PRRSV 新亚型, 如近年来在我国出现的 NADC30 like 毒株, 所以开展该病毒遗传进化研究, 对猪场采取何种疫苗进行蓝耳病的防治具有重要意义. 赵津等<sup>[10]</sup>研究了猪病毒 PCV2, PEDV, TGEV, GAR 的复合 PCR 方法建立及应用; 陈燕君等<sup>[11]</sup>研究了猪诺如病毒巢式 RT-PCR 检测方法的建立与应用; Chen 等<sup>[12]</sup>指出猪繁殖与呼吸综合征病毒结构基因 ORF5 对该病毒分子流行病学、致病机理、疫苗研制和

① 收稿日期: 2017-01-08

基金项目: 四川省科技厅项目(2016JY0223); 四川省教育厅重大培育项目(15CZ0018); 西南医科大学联合项目(2015LZCYD-S09(7/8)).

作者简介: 周英顺(1985-), 男, 湖北恩施人, 博士, 副教授, 主要从事病原微生物学研究.

通信作者: 任定强, 高级兽医师.

鉴别诊断具有重要的意义. 因此, 本研究拟通过采集 2015—2016 年本地区疑似感染 PRRSV(病料、血清等)的猪群, 用 RT-PCR 扩增其 ORF5 基因, 并进行克隆、序列测定和遗传进化分析, 了解 2015—2016 川南感染 PRRSV 猪群中 ORF5 基因的遗传变异情况, 对该地区疫苗的选用及 PRRSV 防控提供依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 病料采集、处理及 PRRSV 检测

无菌采集疑似感染猪繁殖与呼吸综合征高热病猪血清样品、高热病死猪肺脏、淋巴结、脾脏等病料, 使用样品碾磨器将所采取组织研磨, 血清和所研磨组织液 2 000 r/min 离心 3 min, 取上清, 冻于 -80 °C 保存备用. 所处理的样品使用世纪元亨猪繁殖与呼吸综合征 RT-PCR 检测试剂盒进行检测, 操作步骤按照试剂盒说明书进行.

### 1.2 PRRSV 阳性样品 ORF5 基因扩增、克隆及序列测定

采用 Omega 公司 RNA 提取试剂盒 PRRSV 阳性样品全 RNA, 使用大连宝生物反转录试剂盒 prime-Script (Takara, 大连)对所提取 RNA 进行 cDNA 合成. 使用 ORF5 引物序列扩增 ORF5 基因<sup>[11]</sup>, 其 PCR 扩增程序为 94 °C 4 min; 94 °C 40 s, 53 °C 45 s, 72 °C 1 min, 共 29 个循环; 72 °C 10 min; 4 °C 保存. PCR 产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳观察结果(BIO-RAD). 将胶块中目的 DNA, 采用 Tiangen 胶回收试剂盒回收目的基因, 将所回收目的基因与大连宝生物 pMD-19T 载体进行 TA 克隆, 转化 DH5 $\alpha$ , 挑取阳性克隆鉴定, 阳性克隆子送上海生工测序. 并将所测定序列与 Genbank 进行比对, 去除猪场所使用疫苗 JXA1, HuN4, TJM-F92 和 CH-1a 毒株一致的序列后, 所剩序列为猪场感染病毒毒株基因.

### 1.3 ORF5 基因序列分析

将所测 ORF5 序列与在 Genbank 中所下载的国内外 28 条 ORF5 代表序列(表 1), 如 VR2332, CH-1a, JXA1, Hun4 等代表毒株使用 Lasergene 软件 Megalign 进行核酸序列相似性和氨基酸序列相似性分析, 使用 Mega 7.0 软件构建其遗传进化树.

表 1 本研究中所用到的 ORF5 基因序列详细信息

毒株名称	国家/年份	登录名	毒株名称	国家/年份	登录名
Lelystad virus	Netherlands/1993	M96262	BJ	China/2008	EU825723.1
VR2332	US/1995	U87392	TJ	China/2008	EU860248.1
CH-1a	China/1996	AY032626	BJ0706	China/2009	FJ800759
BJ-4	China/2002	AF331831.1	SCwhn09CD	China/2009	JN836553
EuroPRRSV	USA/2004	AY366525	JX1411	China/2014	KT961391
HB-1(sh)/2002	China/2004	AY150312	NADC30	USA/2012	JN654459
HB-2(sh)/2002	China/2004	AY262352.	FJ1502	China/2015	KT961418
RespPRRS MLV	USA/2005	AF066183	FJ1405	China/2015	KM453701
JXA1	China/2006	EF112445	ZJ1503	China/2015	KT961381
Henan-1	China/2007	EF398053	ZJ1407	China/2015	KT961383
SY0608	China/2007	EU144079.1	GD1404	China/2015	KT961415
HUN4	China/2007	EF635006.1	CHsx1401	China/2015	KP861625.1
GD2007	China/2007	EU880433.2	HLJ58	China/2015	KR706344
MN184C	USA/2008	EF488739	JL580	China/2015	KR706343

## 2 结 果

### 2.1 川南地区猪繁殖与呼吸综合征阳性结果

从所采集的 85 份标本中, 通过使用猪繁殖与呼吸综合征病毒检测试剂盒检测出 29 份 PRRSV PCR 阳性, 使用 ORF5 基因特异性引物扩增 29 份阳性样品的 ORF5 基因片段, 将所获得的 29 个基因片段送上海生工测序, 得到 29 个 ORF5 序列, 除掉 14 个与疫苗毒株 JXA1, TJ, HuN4 核酸序列 100% 相同外, 获得了 15 个猪繁殖与呼吸综合征病毒 ORF5 基因序列, 将其命名为 SC1501-SC1511, SC1601-SC1604.

## 2.2 川南地区猪繁殖与呼吸综合征 ORF5 序列同源性分析

将获得的 15 个 PRRSV 分离株的 ORF5 基因序列与从 Genbank 中下载的 ORF5 基因序列比较发现, 15 个 ORF5 基因序列均为北美型, 15 个 ORF5 遗传距离与序列相似性分别为 0.0~0.25 和 81.1%~100% (表 2), 与北美代表毒株 ATCC-VR2332 毒株的核酸序列相似性和氨基酸相似性分别为 83.4%~89.1% 和 82.1%~88.1%, 与我国 2007 年流行较广的 HP-PRRSV 代表毒株 JXA1-like 核酸序列相似性和氨基酸相似性分别为 83.4%~99.3% 和 83.1%~99.5%, 与近年来从北美流传来的 NACD30-like 毒株核酸序列相似性和氨基酸相似性分别为 81.9%~95.7% 和 80.6%~94.5%, 与我国东部新出现的 JX1411 核酸序列相似性和氨基酸相似性分别为 81.4%~92.9% 和 81.6%~92.5% (表 3)。

表 2 15 个 ORF5 之间遗传距离及序列相似性

A	B														
	SC1501	SC1502	SC1503	SC1504	SC1505	SC1506	SC1507	SC1508	SC1509	SC1510	SC1511	SC1601	SC1602	SC1603	SC1604
SC1501	二 C	98.3 <sup>D</sup> (98.0) <sup>E</sup>	85.7(85.6)	85.2(85.6)	85.4(85.6)	94.4(94.0)	82.9(82.6)	95.5(95.5)	82.9(84.6)	98.8(99.0)	98.7(98.5)	85.4(85.6)	82.9(82.6)	99.7(99.0)	98.5(98.5)
SC1502	0.017	—	85.6(85.1)	85.1(85.1)	85.2(85.1)	94.5(94.0)	83.3(82.6)	95.4(95.0)	82.9(84.1)	98.5(97.0)	98.3(96.5)	85.2(85.1)	83.3(82.6)	98(97.0)	99.8(99.5)
SC1503	0.175	0.177	—	99.5(99.0)	99.7(99.5)	83.9(85.1)	82.8(81.6)	84.7(86.1)	92.4(93.5)	85.9(85.6)	85.7(85.6)	99.7(99.5)	82.8(81.6)	85.7(85.6)	85.4(84.6)
SC1504	0.182	0.184	0.005	—	99.8(99.5)	83.7(85.6)	82.6(81.6)	84.2(86.1)	92.9(93.5)	85.4(85.6)	85.2(85.6)	99.8(99.5)	82.6(81.6)	85.2(85.6)	84.9(84.6)
SC1505	0.179	0.182	0.003	0.002	—	83.9(85.6)	82.8(81.6)	84.4(86.1)	92.7(93.5)	85.6(85.6)	85.4(85.6)	100(100)	82.8(81.6)	85.4(85.6)	85.1(84.6)
SC1506	0.061	0.059	0.203	0.206	0.203	—	81.1(81.6)	98.8(98.5)	81.4(84.1)	94.5(93.5)	94.4(93.0)	83.9(85.6)	81.1(81.6)	94.2(93.5)	94.4(93.5)
SC1507	0.219	0.213	0.221	0.224	0.221	0.25	—	82.1(82.1)	81.4(80.6)	83.1(82.1)	83.6(82.6)	82.8(81.6)	100(100)	82.6(81.6)	83.1(82.1)
SC1508	0.047	0.049	0.19	0.197	0.195	0.012	0.232	—	82.3(85.1)	95.7(95.0)	95.5(94.5)	84.4(86.1)	82.1(82.1)	95.4(95.0)	95.2(94.5)
SC1509	0.22	0.22	0.084	0.078	0.08	0.244	0.247	0.229	—	83.1(84.6)	83.6(85.1)	92.7(93.5)	81.4(80.6)	82.6(83.6)	82.8(83.6)
SC1510	0.012	0.015	0.172	0.179	0.177	0.059	0.216	0.046	0.218	—	99.2(98.5)	85.6(85.6)	83.1(82.1)	98.5(98.0)	98.7(97.5)
SC1511	0.013	0.017	0.175	0.182	0.18	0.061	0.209	0.048	0.209	0.008	—	85.4(85.6)	83.6(82.6)	98.3(97.5)	98.5(97.0)
SC1601	0.179	0.182	0.003	0.002	0	0.203	0.221	0.195	0.08	0.177	0.18	—	82.8(81.6)	85.4(85.6)	85.1(84.6)
SC1602	0.219	0.213	0.221	0.224	0.221	0.25	0	0.232	0.247	0.216	0.209	0.221	—	82.6(81.6)	83.1(82.1)
SC1603	0.003	0.02	0.175	0.182	0.18	0.062	0.224	0.049	0.226	0.015	0.017	0.18	0.224	—	98.2(97.5)
SC1604	0.015	0.002	0.179	0.187	0.184	0.061	0.216	0.051	0.223	0.013	0.015	0.184	0.216	0.019	—

注: A. 遗传距离, B. 序列同源性, C. 无, D. 核酸序列相似性, E. 氨基酸序列相似性。

表 3 15 个 ORF5 基因序列与 R2332, CH-1a, JXA1, NADC30, HLJ58, JX1411 及 Lelystad Virus 核酸序列相似性和氨基酸序列相似性比较结果

	VR2332	CH-1a	JXA1	NADC30	HLJ58	JX1411	Lelystad Virus	%
SC1501	88.9(88.1)	94.5(88.1)	99.2(99.5)	85.6(85.6)	84.6(83.6)	83.7(83.6)	63.5(58.4)	
SC1502	88.6(87.1)	94.9(87.1)	99.2(98.5)	85.4(85.1)	84.2(83.1)	83.7(83.6)	64.1(58.4)	
SC1503	85.4(84.1)	86.4(84.1)	86.2(86.1)	95.2(94.0)	93.7(92.5)	82.9(82.1)	62.4(54.8)	
SC1504	85.2(84.1)	86.2(84.1)	85.7(86.1)	95.7(94.0)	93.9(92.5)	82.8(82.1)	62.1(54.8)	
SC1505	85.2(84.1)	86.2(84.1)	85.7(86.1)	95.7(94.0)	93.9(92.5)	82.8(82.1)	62.1(54.8)	
SC1506	86.6(85.6)	92.0(85.6)	94.9(94.5)	83.9(85.1)	82.8(83.1)	81.9(83.1)	63.6(56.3)	
SC1507	83.4(82.1)	85.6(82.1)	83.4(83.1)	84.1(84.1)	81.9(80.6)	92.9(92.5)	62.3(53.8)	
SC1508	87.2(86.6)	93.2(86.6)	96.0(96.0)	84.7(86.1)	83.6(84.1)	82.9(84.1)	63.8(57.4)	
SC1509	85.2(83.6)	84.7(83.6)	83.4(85.1)	93.0(94.5)	91.5(84.1)	81.4(81.6)	64.0(54.8)	
SC1510	88.6(87.1)	94.7(87.1)	99.3(98.5)	85.7(86.1)	84.6(92.0)	83.7(83.1)	63.5(57.4)	
SC1511	89.1(87.6)	94.9(87.6)	99.2(98.0)	85.9(86.1)	85.1(84.1)	83.9(82.6)	64.3(57.9)	
SC1601	85.4(84.1)	86.4(84.1)	85.9(86.1)	95.5(94.0)	93.7(92.0)	82.9(82.1)	62.1(54.8)	
SC1602	83.4(82.1)	85.6(82.1)	83.4(83.1)	84.1(84.1)	93.7(80.6)	92.9(92.5)	62.3(53.8)	
SC1603	88.6(87.6)	94.2(87.6)	98.8(98.5)	85.2(84.6)	93.7(82.6)	83.4(82.6)	63.6(58.4)	
SC1604	88.7(87.6)	94.7(87.6)	99.0(98.0)	85.2(84.6)	93.7(82.6)	83.6(83.1)	64.1(58.4)	

### 2.3 川南地区猪繁殖与呼吸综合征 ORF 序列

遗传进化分析发现, 所测定的 15 个 ORF5 基因序列与 Genbank 中下载的序列形成 3 个亚群(图 1), SC1501, SC1502, SC1510, SC1511, SC1603, SC1604, SC1506, SC1508 等 8 个 ORF5 序列与 HP-PRRSV 类型如 JXA1, Hun4, SCwhn09CD 等毒株 ORF5 序列形成 1 个亚群(subcluster I), SC1503, SC1504, SC1505, SC1601, SC1509 等 5 个序列与 NADC30, HLJ58, JL580, ZJ1407, FJ1405, HN1502 和 CHsx1401 形成 1 个亚群(subcluster II); SC1507 和 SC1602 基因序列与 ZJ1503, FJ1502, JX1411, GD1404 和 HN1506 形成新的 1 个亚群 subcluster III.

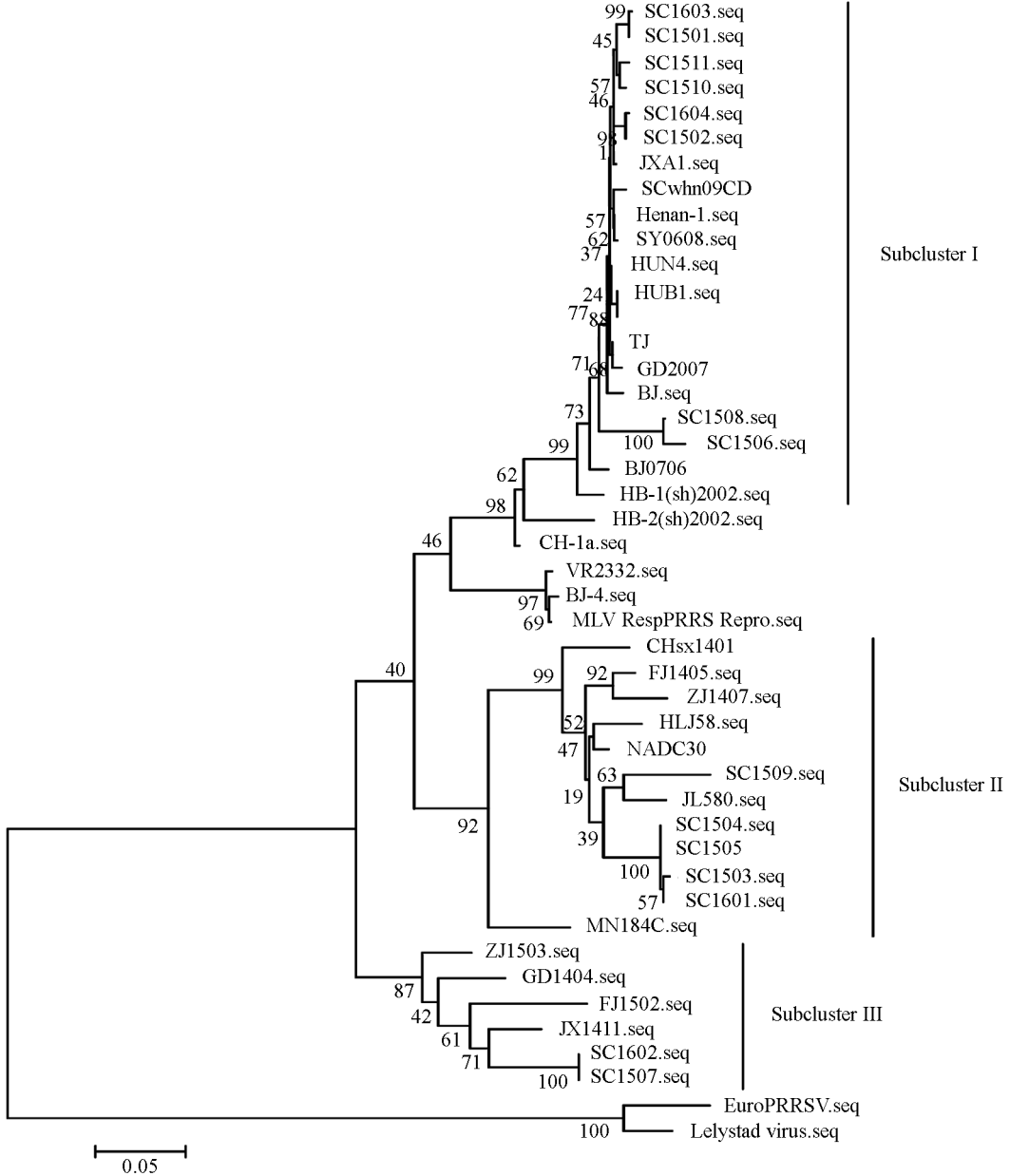


图 1 使用 Mega 7.0 软件构建的猪繁殖与呼吸综合征病毒 ORF5 遗传进化树

### 3 讨论

规模化猪场持续性感染猪繁殖与呼吸综合征病毒给养猪业带来严重的经济损失<sup>[6,13]</sup>. 尽管各国都采取了多种防疫措施如疫苗计划免疫与多种综合防疫, 但该病仍不断发生, 其主要原因是 PRRSV 遗传变异频率高, 对所免疫疫苗出现免疫逃避机制, 而现有疫苗的研究速度不能赶上病毒的变异. 此外, 由于引种等带

来的多基因型与本地区现有基因型发生重组而出现多种新的基因亚型, 如目前我国出现北美基因型的如 CH-1a, JXA1 及近年来在我国报道的 NADC30 毒株<sup>[7]</sup>. 本研究通过对获得的 15 个猪繁殖与呼吸综合征 ORF5 基因序列进行分析, 得出其均属于美洲型毒株, 其中 8 株 PRRSV 分离株与 HP-PRRSV 代表株 JXA1 和 HUN4 具有较高同源性, 表明本地区 HP-PRRSV 仍然是主要毒株类型. 此外, SC1503, SC1504, SC1505, SC1601, SC1509 等 5 个序列与 NADC30, HLJ58, JL580, ZJ1407, FJ1405, HN1502 和 CHsx1401 形成 1 个亚群. NADC30 毒株 2010 年在美国被首次发现<sup>[14]</sup>, 近 3 年我国不断有该类型毒株的报道, 如 HLJ58, JL580, ZJ1407, FJ1405, HN1502 和 CHsx1401, 这种情况可能与我国从北美进口种猪及猪肉等因素有关, 要加强进口种猪及肉制品的检验检疫工作. 但是, 这些 NADC30-like 毒株与 NADC30 序列存在变异现象, 容易形成新的毒株类型<sup>[7-8]</sup>. 前期研究表明, 通过进口种猪及肉制品, NADC30 毒株可能已经与我国的 HP-PRRSV like 毒株发生基因重组, 形成了新的基因型猪繁殖与呼吸综合征病毒如 ZJ1503, FJ1502, JX1411 等, 本地区也发现了此类型的 PRRSV 毒株, 如 SC1507 与 SC1602 等<sup>[9]</sup>.

川南地区所流行的猪繁殖与呼吸综合征病毒目前仍然以 HP-PRRSV 毒株为主, 存在可能通过引种及进口猪肉制品引进的 NADC30 类型的 PRRSV 毒株, 出现了可能由于以上 2 种类型毒株通过重组形成的新类型 PRRSV 的 ZJ1503-like 毒株. 笔者推测, 通过严格控制引种及肉制品引进, 减少新毒株与本地区毒株发生基因重组出现复杂的 PRRSV 基因型, 对 PRRSV 的防控具有重要意义.

#### 参考文献:

- [1] HAN M, YOO D. Engineering the PRRS Virus Genome: Updates and Perspectives [J]. *Vet Microbiol*, 2014, 174(3/4): 279–295.
- [2] WENSVOORT G, TERPSTRA C, POL J M, et al. Mystery Swine Disease in The Netherlands: the Isolation of Lelystad Virus [J]. *The Veterinary Quarterly*, 1991, 13(3): 121–130.
- [3] 郭宝清, 陈章水, 刘文兴, 等. 从疑似 PRRS 流产胎儿分离 PRRSV 的研究 [J]. *中国预防兽医学报*, 1996(2): 1–5.
- [4] TIAN K, YU X, ZHAO T, et al. Emergence of Fatal PRRSV Variants: Unparalleled Outbreaks of Atypical PRRS in China and Molecular Dissection of the Unique Hallmark [J]. *PLoS One*, 2007, 2(6): e526.
- [5] ZHOU L, ZHANG J, ZENG J, et al. The 30-Amino-Acid Deletion in the Nsp2 of Highly Pathogenic Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Emerging in China is Not Related to Its Virulence [J]. *Journal of Virology*, 2009, 83(10): 5156–5167.
- [6] ZHOU Y, YANG X, WANG H N, et al. Molecular Characterization of a Complete Genome and 12 Nsp2 Genes of PRRSV of Southwestern China [J]. *Food & Environmental Virology*, 2012, 4: 102–114.
- [7] LI C, ZHUANG J, WANG J, et al. Outbreak Investigation of NADC30-Like PRRSV in South-East China [J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2016, 63(5): 474–479.
- [8] ZHAO K, YE C, CHANG X B, et al. Importation and Recombination Are Responsible for the Latest Emergence of Highly Pathogenic Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus in China [J]. *Journal of Virology*, 2015, 89(20): 10712–10716.
- [9] ZHANG Q, XU X, YOU S, et al. Emerging of Two New Subgenotypes of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Viruses in Southeast China [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2016, 97: 27–33.
- [10] 赵津, 禹泽忠, 冯刚, 等. 猪病毒病 PCV2, PEDV, TGEV, GAR 的复合 PCR 方法建立及应用 [J]. *西南农业学报*, 2016, 29(4): 982–987.
- [11] 陈燕君, 唐玉新, 周信荣, 等. 猪诺如病毒式 RT-PCR 检测方法的建立与应用 [J]. *江西农业大学学报*, 2016, 38(2): 338–346.
- [12] CHEN N, TRIBLE B R, KERRIGAN M A, et al. Rowland RR ORF5 of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) is a Target of Diversifying Selection as Infection Progresses from Acute Infection to Virus Rebound [J]. *Infection Genetics & Evolution Journal of Molecular Epidemiology & Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 2016, 40: 167–175.

- [13] YIN G, GAO L, SHU X, et al. Genetic Diversity of the ORF5 Gene of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Isolates in Southwest China from 2007 to 2009 [J]. Plos One, 2012, 7(3): e33756.
- [14] BROCKMEIER S L, LOVING C L, VORWALD A C, et al. Genomic Sequence and Virulence Comparison of four Type 2 Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Strains [J]. Virus Res, 2012, 169(1): 212–221.

## Genetic Evolution of the ORF5 Gene of (PRRSV) in Sichuan, China from 2015 to 2016

ZHOU Ying-shun<sup>1</sup>, XIE Bo<sup>2</sup>, CHEN Min<sup>3</sup>,  
WANG Guang-xi<sup>1</sup>, REN Ding-qiang<sup>3</sup>

1. Department of Pathogenic Biology, School of Basic Medical Sciences,

Southwest Medical University, Luzhou Sichuan 646000, China;

2. The Animal Health Center of Chengdu Chia Tai Agriculture & Food Co., Ltd, Chengdu 611130, China;

3. Animal Disease Control and Prevent Center of Luzhou, Luzhou Sichuan 646000, China

**Abstract:** Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) is considered to be the most widespread viral disease in industrial swine production. It leads to reproductive failure in pregnant sows and respiratory distress in young pigs. In order to research the genetic variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Sichuan, China, eighty five clinical samples were collected and detected in 2015–2016. A total of fifteen ORF5 gene sequences were identified. Their pairwise-genetic distance and sequence homology were 0.00–0.25 and 81.1%–100%, respectively. These strains had 83.4%–89.1% identity with VR2332 at the nucleotide level and 82.1%–88.1% with amino acid level. What's more, those field sequences showed 83.4%–99.3% of nucleotide and 83.1%–99.5% of amino acid identity to JXA1 strain. In addition, those ORF5 gene sequences showed 81.9%–95.7% of nucleotide and 80.6%–94.5% of amino acid identity to the NADC30 strain. Moreover, those ORF5 gene sequences showed 81.4%–92.9% of nucleotide and 81.6%–92.5% of amino acid identity to the novel type PRRSV including JX1411 strain. Phylogenetic analysis revealed that the fifteen ORF5 gene sequences formed three sub-clusters. The first eight ORF5 genes and JXA1 belonged to subcluster I, In addition, five of them were subclustered with NADC30 strain into subcluster II, and the last two ORF5 gene sequences were subclustered with ZJ1503like to form a novel subcluster III. The above results suggest that the genotypes of the PRRSV in this region are becoming increasingly complex. It is recommended that proper immune vaccination be used to reduce the complicated genotypes of the wild strains. That will be of great significance for the control and prevention of PRRSV.

**Key words:** porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV); ORF5 gene; NADC30; genetic evolution

