



วารสารแก่นเกษตร
THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj>



การศึกษาความหลากหลายและความสัมพันธ์ของยีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องต่อการขับเชื้อ
ซัลโมเนลลาในอุจจาระของสุกร

Polymorphism and association study of candidate genes on *Salmonella* fecal shedding in pigs

ณัฐริกา สุวรรณวงศ์^{1,2}, อัจฉรา ธรรมรัตน์³, ธัญจิรา เทพรัตน์^{1,2} และ พิชยานิภา พงษ์พานิช^{1,2*}

Nattariga Suwannawong^{1,2}, Uschara Thumarat³, Thunchira Thepparat¹ and
Pitchayanipa Phongphanich^{1,2*}

¹ สาขาวิชาวนวัฒนกรรมการผลิตสัตว์และการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จ.สงขลา 90110

² Animal Production Innovation and Management division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkhla University, Songkhla 90110

³ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการ การ
อุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900

² Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok 10900, Thailand

³ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จ.สงขลา 90110

³ Faculty of Agro-Industry, Prince of Songkhla University, Songkhla 90110

บทคัดย่อ: การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายของยีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้อง จำนวน 4 ยีน ประกอบด้วย Chaperonin Containing TCP1 Subunit 7 (CCT7), Alpha-1-Fucosyltransferase (FUT1), Neutrophil Cytosolic Factor 2 (NCF2) และ Tolllike receptors 4 (TLR4) และความสัมพันธ์รูปแบบจีโนไทป์กับคะแนนอุจจาระและการขับเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระสุกร การศึกษาครั้งนี้ใช้สุกรพันธุ์ลูกผสม (50% ดุริโอก x 25% ลาร์จไวท์ x 25% แลนดเรซ) ใช้สุกรหย่านมเร็วที่ช่วงอายุ 15-21 วัน จำนวน 40 ตัว ทำการป้อนเชื้อซัลโมเนลลา (*Salmonella Typhimurium*) ทางปากให้กับสุกร ทำการบันทึกคะแนนอุจจาระและปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระ ในวันที่ 2, 7, 14 และ 21 หลังได้รับเชื้อ ความหลากหลายของยีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องได้รับการตรวจสอบจีโนไทป์ ด้วยเทคนิค PCR-RFLP วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขับเชื้อด้วยวิธี Cochran-Mantel-Haenszel test และปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระ ด้วยวิธี General linear model procedure (GLM) ผลการศึกษา พบว่า คะแนนอุจจาระในสุกรภายหลังจากได้รับเชื้อไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระของสุกร ภายหลังจากได้รับเชื้อมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) โดยสุกรมีปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลลาสูงสุดในวันที่ 7 ภายหลังจากได้รับเชื้อซัลโมเนลลา พบความหลากหลายของยีน CCT7 จำนวน 3 จีโนไทป์ ยีน FUT1 พบจำนวน 2 จีโนไทป์ ส่วนยีน NCF2 และ TLR4 ไม่พบความผันแปรทางพันธุกรรม การวิเคราะห์ความสัมพันธ์แสดงให้เห็นว่ารูปแบบจีโนไทป์ของยีน CCT7 และ FUT1 ไม่มีความสัมพันธ์ของกับคะแนนอุจจาระ แต่พบความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบจีโนไทป์ของยีน CCT7 กับปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระของสุกร ($P<0.05$) โดยจีโนไทป์ AA มีปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระสูงสุดในวันที่ 2 หลังการได้รับเชื้อ (3.05×10^4 CFU/ml) ดังนั้นยีน CCT7 อาจมีความเป็นไปได้ที่จะนำไปศึกษาเพื่อพัฒนาเป็นยีนเครื่องหมายช่วยในการคัดเลือกสุกรที่ต้านทานต่อการติดเชื้อซัลโมเนลลาในสุกร

คำสำคัญ: ยีน CCT7; ซัลโมเนลลา; ท้องเสีย; สุกร

* Corresponding author: pitchayanipa.k@psu.ac.th

Received: date; April 30, 2024 Revised: date; January 9, 2025

Accepted: date; January 10, 2025 Published: date; May 30, 2025

ABSTRACT: The objective of this study was to investigate the genetic polymorphism in four candidate genes, consisting of: Chaperonin Containing TCP1 Subunit 7 (*CCT7*) gene, Alpha-1-Fucosyltransferase (*FUT1*) gene, Neutrophil Cytosolic Factor 2 (*NCF2*) gene and Toll-like receptors 4 (*TLR4*) gene and their association with fecal score and salmonella fecal shedding in pigs. In this study, 40 crossbred pigs (50% Duroc x 25% Large White x 25% Landrace) at 15-21 days of age were oral inoculated with Salmonella (*Salmonella Typhimurium*) and recorded for fecal scores and salmonella fecal shedding on 2, 7, 14- and 21-days post inoculation (dpi). The polymorphism of four candidate genes were genotyped using PCR-RFLP method. Analysis of the association between functional candidate genes and diarrhea scores using Cochran-Mantel-Haenszel test and *Salmonella* shedding levels using General Linear Model procedure (GLM). The result showed that there was no statistical difference in the fecal scores of pigs after day post inoculation ($P>0.05$). The amount of Salmonella shedding after day post inoculation was statistically different. ($P<0.05$) which pigs had the highest level of shedding of Salmonella on the 7 dpi. The polymorphism of *CCT7* gene showed three genotypic variations and *FUT1* gene showed two genotypic variations. Meanwhile, the *NCF2* gene and *TLR4* gene had monomorphic. Association analysis showed that no significant between fecal score and genotype pattern of *CCT7* and *FUT1* but the polymorphisms of *CCT7* gene significant associations with salmonella fecal shedding. Genotype AA had highest salmonella fecal shedding at 2 dpi (3.05×10^4 CFU/ml). Therefore, *CCT7* genes may be used as a candidate marker gene for genetic improvement of salmonella infection resistance in pigs.

Keywords: *CCT7*; salmonella; diarrhea; pig

บทนำ

การติดเชื้อซัลโมเนลล่าในสุกรระยะอนุบาลและสุกรรุ่นเป็นสาเหตุของการเกิดท้องเสียแบบเฉียบพลัน หรือเรื้อรัง โดยมีอัตราการป่วยประมาณ 10-15 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการตายสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (กิจจา, 2535) ซิโรทัยป์ที่พบมากในประเทศไทย คือ *Salmonella Typhimurium* และ *Salmonella Rissen* (Trongjit et al., 2017; Phongaran et al., 2019) ซึ่งส่งผลให้สุกรมีอาการ การเจริญเติบโตลดลง และส่งผลต่อประสิทธิภาพการผลิต ซึ่งหากสามารถลดการสูญเสียเหล่านี้ได้จะทำให้สุกรระยะอนุบาลมีสุขภาพที่ แข็งแรง มีอัตราการเจริญเติบโตที่ดี ทำให้สามารถลดระยะเวลาในการเลี้ยงสุกรขุนเพื่อให้ได้น้ำหนักตัวที่เหมาะสมในการจำหน่ายได้ (Julius and Basbaum, 2001) และหากมีการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลล่าในเนื้อสุกร อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคอีกด้วย อย่างไรก็ตาม การจัดการทั่วไปในฟาร์มสุกรเมื่อสุกรเกิดโรคท้องเสีย ทำได้โดยให้ยาปฏิชีวนะแก่ลูกสุกรในระหว่างการเลี้ยง โดยยา ปฏิชีวนะที่นิยมใช้ ได้แก่ kanamycin, gentamicin, tetracycline และ norfloxacin เป็นต้น ซึ่งข้อเสียของการใช้ยาปฏิชีวนะสามารถ ทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งปัญหาการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียนอกจากจะส่งผลเสียภัยกับอุตสาหกรรมเลี้ยงสุกรแล้ว ยังมี อาจเกิดการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อสัตว์อีกด้วย ซึ่งมีผลกระทบโดยตรงต่อผู้ที่บริโภคเนื้อสุกร โดยสามารถทำให้เกิดการดื้อยาใน มนุษย์ได้ ปัจจุบันจึงมีการศึกษาวิธีการเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้ยาปฏิชีวนะในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ เช่น การใช้สารสกัดจากพืช การ เสริมจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโปรไบโอติกในอาหารสัตว์ และการคัดเลือกสุกรที่มีลักษณะพันธุกรรมต้านทานโรค เป็นต้น

ลักษณะความต้านทานโรคจัดเป็นลักษณะที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอย่างหนึ่งในปัจจุบัน การคัดเลือกสุกรที่มีพันธุกรรม ต้านทานโรค โดยอาศัยข้อมูล Immunogenomics ยังมีค่อนข้างน้อย อย่างไรก็ตาม มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับยีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้อง กับระบบภูมิคุ้มกันต่อการต้านทานโรคท้องเสียในสุกรด้วยกันหลายยีน เช่น Chaperonin Containing TCP1 Subunit 7 (*CCT7*), Alpha-1-Fucosyltransferase (*FUT1*), Neutrophil Cytosolic Factor 2 (*NCF2*) และ Toll-like receptors 4 (*TLR4*) เป็นต้น จากรายงานของ Uthe et al. (2009) พบความสัมพันธ์ระหว่าง Single nucleotide polymorphism (SNP) ของยีน Chaperonin Containing TCP1 Subunit 7 (*CCT7*) กับการขับเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระในสุกร ยีน Alpha-1-Fucosyltransferase (*FUT1*) เป็น ยีนที่มีความเกี่ยวข้องกับความต้านทานหรือความไวของเยื่อผิวลำไส้ขนาดเล็ก ซึ่งควบคุมการแสดงออกของ *Escherichia coli* F18 receptor (*ECF18R*) บนเยื่อผิวลำไส้ขนาดเล็ก ซึ่งมีส่วนร่วมในการแพร่กระจายเชื้อ และการตอบสนองภูมิคุ้มกัน (Bao et al., 2012) โดยเฉพาะตัวรับ F18 ในลำไส้ของ *E. coli* (ETEC) ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคที่ทำให้เกิดอาการบวมน้ำและท้องร่วงหลังหย่านม และมีรายงานว่า SNP ของยีน *FUT1* มีความสัมพันธ์กับการต้านทานต่อการติดเชื้อ *E. coli* (ETEC) (Poulsen et al., 2018; Bao et al., 2008) ในสุกร ยีน Neutrophil Cytosolic Factor 2 (*NCF2*) เป็นยีนที่มีความเกี่ยวข้องกับการตอบสนองภูมิคุ้มกันที่มีมาแต่กำเนิด โดยจะมีการเพิ่มจำนวนของ นิวโทรฟิล เมื่อสัตว์มีอาการติดเชื้อ และมีรายงานเกี่ยว SNP ของยีน *NCF2* ที่มีความสัมพันธ์กับการขับเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระสุกร

(Sancho-Shimizu and Malo, 2006; Uthe et al., 2011) และยีน Toll-like receptors4 (*TLR4*) มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 1 อยู่ในเป็นกลุ่มของ *TLR* ที่รับรู้โมเลกุลเช่นโปรตีนและไขมันจากแบคทีเรียและแสดงออกบนพื้นผิวของเซลล์ภูมิคุ้มกัน (*TLR1*, *TLR2*, *TLR4*, *TLR5* และ *TLR6*) ยีนที่ทำหน้าที่เป็นเซ็นเซอร์สำคัญของการติดเชื้อจุลินทรีย์ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่สามารถจดจำองค์ประกอบโครงสร้างที่เป็นเอกลักษณ์ของแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส ในแบคทีเรียมีผลต่อตัวรับ Lipopolysaccharide (LPS) จากแบคทีเรียแกรมลบ มีรายงานว่าความแปรปรวนของยีนส่งผลให้การตอบสนองต่อลิพอไลแซ็กคาไรด์แตกต่างกัน ซึ่งอาจทำให้การต้านทานการติดเชื้อเซลล์โมเนลล่าในสุกรแตกต่างกัน (Clop et al., 2016; Splichal et al., 2020) และ SNP ในยีน *TLR4* มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อเซลล์โมเนลล่าในอุจจาระ (Kich et al., 2014)

ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทำการตรวจสอบความหลากหลายและตรวจสอบความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *CCT7*, *FUT1*, *NCF2* และ *TLR4* ต่อลักษณะอาการและปริมาณการติดเชื้อเซลล์โมเนลล่าในสุกรโดยใช้เทคนิคทางด้านพันธุศาสตร์โมเลกุล สำหรับเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นเครื่องหมายพันธุกรรมเพื่อปรับปรุงลักษณะการต้านทานโรคท้องเสียที่เกิดจากการติดเชื้อเซลล์โมเนลล่าในสุกรต่อไป

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลองและการเก็บตัวอย่าง

สุกรลูกผสมดิวอี้ x ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ คณะเพศ จำนวน 40 ตัว ใช้สุกรหย่านมเร็วในช่วงอายุ 15-21 วัน สุกรที่เลือกมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นสุกรที่มีสุขภาพดี ไม่มีอาการท้องเสีย จากบริษัทเอกชนแห่งหนึ่งภายใต้ฟาร์มสุกรสาขาวิชาสัตวกรรมการผลิตสัตว์และการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขต หาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา สุกรทุกตัวได้รับให้อาหารที่มีโภชนาการครบถ้วนและได้รับน้ำสะอาดอย่างเต็มที่ ทำการเก็บตัวอย่างเลือดสุกรจากบริเวณเส้นเลือดดำใหญ่บริเวณคอ (Jugular vein) แล้วบรรจุเลือดในหลอดป้องกันการแข็งตัวของเลือด จำนวน 10 มิลลิลิตร เพื่อนำมาใช้ในการสกัดจีโนมิกส์ดีเอ็นเอปล่อยให้สุกรปรับสภาพก่อนการทดลองเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำการเตรียมเชื้อและการป้อนเชื้อ *Salmonella typhimurium* ที่ได้จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยใช้ความเข้มข้น 10^9 CFU/ml โดยการป้อนทางปาก (Oral inoculation) ให้กับสุกร จำนวน 2 มิลลิลิตร/ตัว หลังจากทำการป้อนเชื้อ *Salmonella Typhimurium* ให้กับสุกรแล้ว จากนั้นบันทึกและสังเกตอาการท้องเสีย โดยทำการเก็บอุจจาระ ในวันที่ 0, 2, 7, 14 และ 21 หลังได้รับเชื้อ เพื่อนำไปประเมินคะแนนอุจจาระ

การสกัดดีเอ็นเอและตรวจสอบจีโนไทป์ด้วยเทคนิค PCR-RFLP

นำหลอดที่บรรจุเลือดทั้งหมดจากนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,500 rpm เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นดูดเอาชั้นบางๆ สีขาว (buffy coat) ซึ่งอยู่บนชั้นของเม็ดเลือดแดง (Goud et al., 2018) เพื่อนำมาสกัดจีโนมิกส์ดีเอ็นเอโดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอของ GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit (Thermo Fisher Scientific Baltics UAB, Lithuania) และนำจีโนมิกส์ดีเอ็นเอที่มีความเข้มข้น 20 mg/ul ไปเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีนซึ่งประกอบด้วย Chaperonin Containing TCP1 Subunit 7 (*CCT7*), Alpha-1-Fucosyltransferase (*FUT1*), Neutrophil Cytosolic Factor 2 (*NCF2*) และ Tolllike receptors 4 (*TLR4*) ด้วยเทคนิค PCR ในแต่ละปฏิกิริยา ประกอบด้วยจีโนมิกส์ดีเอ็นเอ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, 10X PCR-buffer ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, 25 mM MgCl₂ ปริมาตร 0.4 ไมโครลิตร, 10mM dNTPs (1.0 mM/each) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, Primer forward และ Primer reverse (Table 1) ปริมาตรอย่างละ 1 ไมโครลิตร, 5 U/μl Taq DNA Polymerase (Thermo scientific) ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร และปรับปริมาตรด้วย sterile water ปริมาตร 4.5 ไมโครลิตร โดยมีปริมาตรรวมทั้งสิ้น 10 ไมโครลิตร โดยมีวงรอบการทำ PCR ดังนี้ เริ่ม initial denaturation ที่อุณหภูมิ 95 °C 3 นาที จากนั้นทำปฏิกิริยา 35 รอบ รายละเอียดดังนี้ denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส 45 วินาที โดยมีช่วง primer annealing ที่อุณหภูมิ 56-60 องศาเซลเซียส 30 วินาที primer extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 45 วินาที และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 5 นาที หลังจากสิ้นสุดปฏิกิริยาแล้วทำการ ตรวจสอบ PCR product ด้วย 2 % agarose gel เมื่อได้ชิ้นส่วนยีนตามที่ต้องการแล้วทำการย่อยชิ้นส่วนยีนด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (Table 1) โดยบ่มเอนไซม์ที่

อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นตรวจสอบรูปแบบจีโนไทป์ของยีนด้วย 3% agarose gel แล้วนำไปย้อมด้วย Gel star และบันทึกภาพแถบดีเอ็นเอภายใต้แสง UV ด้วยเครื่อง Gel Documentation

การเก็บอุจจาระของสุกรและการประเมินคะแนนอุจจาระ

ทำการเก็บอุจจาระของสุกรโดยใช้ไม้สวอป (swab) เก็บอุจจาระบริเวณทวารหนัก หลังจากที่ได้เก็บอุจจาระแล้วทำการใส่ไม้ swab ลงในหลอดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เก็บตัวอย่างลงในกระติกน้ำแข็งที่มีอุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส และบันทึกคะแนนอุจจาระ โดยแบ่งคะแนนอุจจาระออกเป็น 5 ระดับ คือ ระดับที่ 1 อุจจาระมีลักษณะแข็ง ระดับที่ 2 อุจจาระมีลักษณะกึ่งแข็งไม่มีเลือดปน ระดับที่ 3 อุจจาระมีลักษณะเหลวเป็นน้ำไม่มีเลือดปน ระดับที่ 4 อุจจาระมีลักษณะกึ่งแข็งมีเลือดปน และระดับที่ 5 อุจจาระมีลักษณะเหลวเป็นน้ำมีเลือดปน (Spiehs et al., 2008)

การวัดปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระสุกรโดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ

ชั่งตัวอย่างอุจจาระสุกรปริมาณ 1 กรัม ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Phosphate Buffer Saline (PBS) 10 มิลลิลิตร หรือในอัตราส่วน 1:10 ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นทำ serial dilution ใน 0.8% NaCl ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} จากนั้นดูการละลายตัวอย่าง แต่ละ dilution ดูตาม 1 มิลลิลิตร แต่ละหลอด ใส่ลงในอาหารเลี้ยง Salmonella differential selective agar แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีที่มีลักษณะโคโลนีสีชมพูแดง ซึ่งโคโลนีที่มีสีชมพูแดงเป็นโคโลนีของเชื้อซัลโมเนลลา (Brichta-Harhay et al., 2007)

Table 1 Primers sequences, PCR conditions, restriction enzymes and digestion product sizes used for this study

Gene name ¹	Primer sequence (5'-3')	PCR product size (bp)	Restriction enzyme	Digestion product sizes	Reference
<i>CCT7</i>	F: TCCAGACCACTGTGAATGC R: CCACCACGGAGGATGATAG	533 bp	<i>Cfr13I</i>	AA = 413, 120 bp, GG = 413, 85, 35 bp and GA = 413, 120, 85, 35 bp	Uthe et al. (2009)
<i>FUT1</i>	F: CCAACGCCTCCGATTCCTGT R: GTGCATGGCAGGCTGGATGA	161 bp	<i>Hin6I</i>	GG = 117, 44 bp, AA = 161 bp and AG = 161, 117, 44 bp	Bao et al. (2011)
<i>NCF2</i>	F: CCACAGAACCTCACCTAAAG R: ATGATGTCCCTTCCAGAAAG	101 bp	<i>AclI</i>	TT = 101 bp, TC = 101, 59, 30, 12 bp and CC = 59, 30, 12 bp	Uthe et al. (2011)
<i>TLR4</i>	F: ATTCAAGGTCTGGCTGGTTC R: TGAAGACATCAGGAAGCAAG	739 bp	<i>FatI</i>	GG = 739 bp, GA = 739, 491, 244 and 4 bp and AA = 491, 244 and 4 bp, 688 bp	Kich et al. (2014)

¹ Chaperonin Containing TCP1 Subunit 7 (*CCT7*), Alpha-1-Fucosyltransferase (*FUT1*), Neutrophil Cytosolic Factor 2 (*NCF2*) และ Tolllike receptors 4 (*TLR4*)

การวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม

นำรูปแบบจีโนไทป์ของยีนที่เกี่ยวข้องทั้งหมดที่ตรวจสอบได้มาวิเคราะห์ค่าความถี่จีโนไทป์ (Genotype frequency) ความถี่อัลลีล (Allele frequency) ค่าคาดหวังโรโซโกตที่คาดหวัง (Expected Heterozygosity; H_e) และค่าคาดหวังโรโซโกตที่ตรวจพบ (Observed Heterozygosity; H_o) เพื่อประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม และทดสอบสมมติฐานของยีนในประชากรสุกร Hardy-

Wein-berg equilibrium ด้วย Chi-square test (Falconer and Mackey, 1996) โดยใช้โปรแกรม GENALEX Version 6.51 (Peakall and Smouse, 2012)

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์กับคะแนนอุจจาระและปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระสุกรวันที่ 2, 7, 14 และ 21 หลังการได้รับเชื้อ

ข้อมูลคะแนนอาการท้องเสียซึ่งเป็นข้อมูลแบบจัดอันดับ (ordinal data) ถูกนำมาดำเนินการวิเคราะห์โดยใช้การทดสอบ Cochran-Mantel-Haenszel test โดยทำการวิเคราะห์แยกตามช่วงเวลาทำการเก็บข้อมูล และนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์และคะแนนอุจจาระที่วันที่ 2, 7, 14 และ 21 หลังการให้เชื้อ โดยใช้โปรแกรม SAS (SAS Institute, Cary, NC, USA) (Rhouma et al., 2017)

ขณะที่ปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระที่ถูกตรวจวัดที่วันที่ 2, 7, 14 และ 21 หลังการให้เชื้อ ถูกนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบวัดซ้ำ (Repeated measures ANOVA) วิเคราะห์ความสัมพันธ์รูปแบบจีโนไทป์ต่อปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลลา ด้วยวิธี General linear model procedure (GLM) โดยใช้โปรแกรม SAS (SAS Institute, Cary, NC, USA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโมเดล ดังนี้

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

เมื่อ Y_{ijk} คือ ปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระของสุกรได้รับเชื้อซัลโมเนลลาที่วันที่ 2, 7, 14 และ 21 วัน, μ คือ ค่าเฉลี่ยรวม (overall mean), α_i คือ อิทธิพลของจีโนไทป์ที่ระดับ i ($i = 1, 2, \dots, n$), β_j คือ อิทธิพลของเพศที่ระดับ j ($j = 1, 2$), $(\alpha\beta)_{ij}$ คือ อิทธิพลร่วมระหว่างจีโนไทป์และเพศ และ ε_{ijk} คือ ความคลาดเคลื่อนของงานทดลอง โดยที่ $\varepsilon_{ijk} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$

ผลการศึกษา

คะแนนอุจจาระ

จากการเก็บคะแนนอุจจาระในวันที่ 0 ก่อนได้รับเชื้อจะเห็นได้ว่า สุกรทุกตัวมีคะแนนอุจจาระอยู่ในระดับ 1 คือ อุจจาระมีลักษณะแข็ง ซึ่งเป็นลักษณะอุจจาระของสัตว์ที่มีสุขภาพปกติ ในวันที่ 2, 7, 14 และ 21 ของสุกรที่ได้รับเชื้อซัลโมเนลลา สุกรมีคะแนนอุจจาระเฉลี่ยเท่ากับ 2.97 ± 0.69 , 3.20 ± 0.79 , 2.89 ± 0.92 และ 2.87 ± 0.72 ตามลำดับ โดยวันที่ 7 ของการได้รับเชื้อมีคะแนนอุจจาระสูงสุด แต่ไม่มีความแตกต่างกันของคะแนนอุจจาระกับวันที่ได้รับเชื้อ ($P=0.55$) หลังจากนั้นคะแนนอุจจาระค่อยๆ ลดลงและคงที่ในวันที่ 14 และ 21 ของการได้รับเชื้อแสดงใน **Figure 1** การศึกษาครั้งนี้ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเพศกับคะแนนอุจจาระและปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระของสุกร ($P>0.05$)

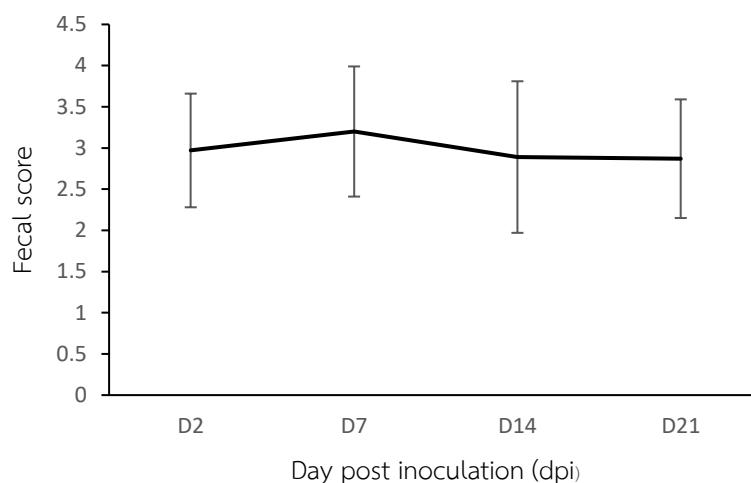


Figure 1 Fecal scores in pigs following *Salmonella* inoculation. Fecal scores were monitored at 2, 7, 14, and 21 days post-inoculation (dpi). Data are presented as mean $\pm$ standard deviation (n = 39).

ปริมาณเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระ

จากการเก็บอุจจาระในวันที่ 0 ก่อนได้รับเชื้อ พบว่าอุจจาระของสุกรทุกตัวไม่พบเชื้อซัลโมเนลล่า โดยในวันที่ 2, 7, 14 และ 21 ของการได้รับเชื้อ พบปริมาณเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ $1.07 \pm 0.30 \times 10^4$ CFU/ml, $1.78 \pm 0.25 \times 10^4$ CFU/ml, $1.45 \pm 0.24 \times 10^4$ CFU/ml และ $0.60 \pm 0.12 \times 10^4$ CFU/ml ตามลำดับ โดยพบว่ามี ความแตกต่างกันทางสถิติของปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลล่ากับวันที่ได้รับเชื้อ ($P < 0.05$) ซึ่งในวันที่ 7 มีปริมาณเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระสูงที่สุด และหลังจากนั้นปริมาณเชื้อเริ่มลดลงในวันที่ 14 และวันที่ 21 ตามลำดับ แสดงใน **Figure 2**

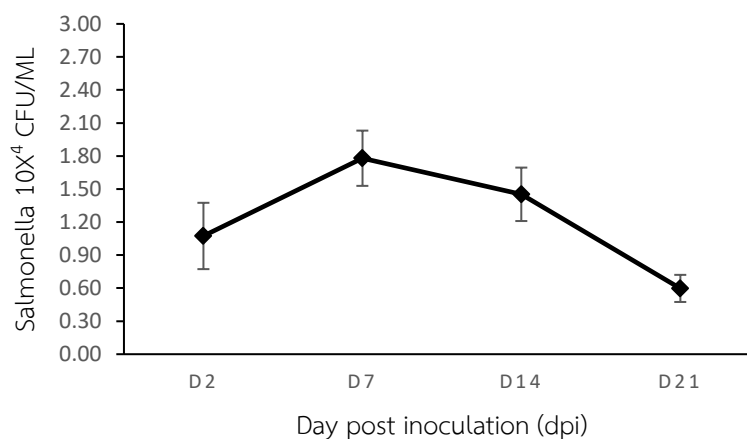


Figure 2 Fecal *Salmonella* shedding levels were monitored at 2, 7, 14, and 21 days post-inoculation (dpi). Data are presented as mean $\pm$ standard deviation (n = 39).

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *CCT7* *FUT1* *NCF2* และ *TLR4*

จากการตรวจสอบรูปแบบของยีน *CCT7* *FUT1* *NCF2* และ *TLR4* ด้วยเทคนิค PCR-RFLP พบว่ายีน *CCT7* มีรูปแบบจีโนไทป์ที่ตรวจพบจำนวน 3 รูปแบบ คือ GG GA และ AA ยีน *FUT1* พบจำนวน 2 จีโนไทป์ คือ GG และ AG ส่วนยีน *TLR4* และ *NCF2* พบ

เพียง 1 รูปแบบ คือ TT และ AA แสดงดัง **Figure 3** โดยในยีน *CCT7* พบว่ามีสัดส่วนของอัลลีล G สูงกว่าอัลลีล A ยีน *FUT1* พบว่ามีสัดส่วนของอัลลีล G สูงกว่าอัลลีล A

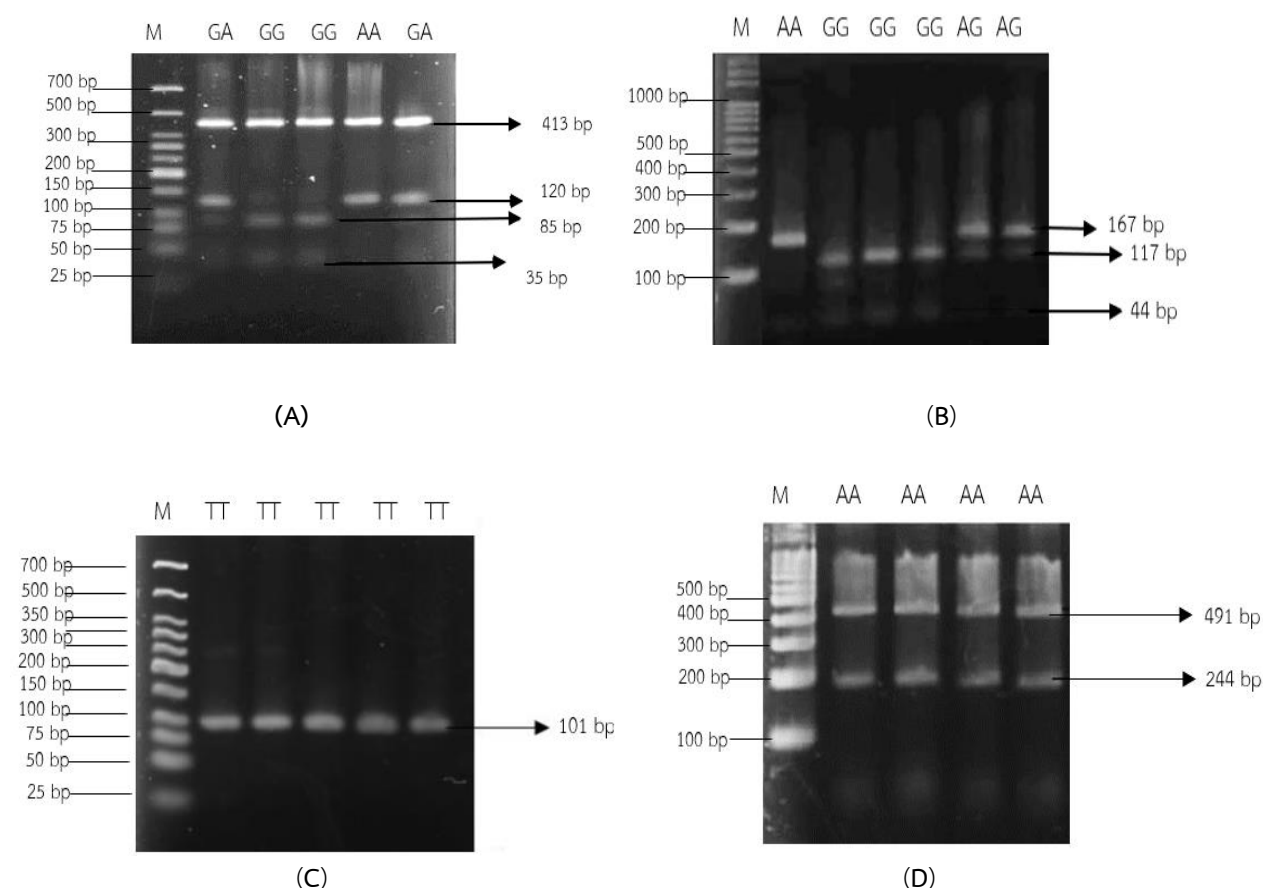


Figure 3 Genotype patterns of the *CCT7* (A), *FUT1* (B), *NCF2* (C) and *TLR4* (D) genes in pigs were detected by PCR-RFLP

อย่างไรก็ตาม ในระหว่างทำการทดลองมีสุกรเสียชีวิต 1 ตัว โดยเป็นสุกรที่มีจีโนไทป์ AA ในยีน *FUT1* ดังนั้นจึงได้ทำการตัดออกจากการวิเคราะห์ในการศึกษาครั้งนี้ โดยจากผลการศึกษาพบว่า ค่าเฮเทอโรไซโกซิตีที่สังเกต ในยีน *CCT7* และ *FUT1* มีค่าเท่ากับ 0.505 และ 0.471 ตามลำดับ และค่าเฮเทอโรไซโกซิตีที่คาดหวังในยีน *CCT7* และ *FUT1* มีค่า 0.499 และ 0.465 ตามลำดับ และไม่พบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *TLR4* และ *NCF2* โดยยีนทั้งหมดที่ทำการศึกษานี้อยู่ในสมดุลตามกฎของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก

Table 2 Genotypic and allelic frequencies of *CCT7*, *FUT1*, *NCF2* and *TLR4* genes, chi-square (χ^2), Observed Heterozygosity (H_o) and Expected Heterozygosity (H_e)

Gene	Genotype frequencies			Allele frequencies		H_o	H_e	χ^2
CCT7	GG (0.35)	GA (0.43)	AA (0.22)	G (0.53)	G (0.47)	0.505	0.499	0.412
FUT1	AA (0.00)	AG (0.23)	GG (0.77)	A (0.13)	G (0.87)	0.471	0.465	0.106
NCF2	CC (0)	TC (0)	TT (1.00)	C (0)	T (1.00)	0	0	Monomorphic
TLR4	GG (0)	GA (0)	AA (1.00)	G (0)	A (1.00)	0	0	Monomorphic

Note: χ^2 (Chi-square) with 1 degree of freedom, the area of critical value of 3.841

ความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *CCT7* และ *FUT1* กับคะแนนอุจจาระในวันที่ 2, 7, 14 และ 21 ของการได้รับเชื้อซัลโมเนลล่า

ผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี Cochran-Mantel-Haenszel ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์กับคะแนนอุจจาระทั้งในยีน *CCT7* และ *FUT1* โดยเมื่อพิจารณาจาก row mean scores ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างจีโนไทป์กับคะแนนอุจจาระของสุกร ในวันที่ 2, 7, 14 และ 21 โดยสุกรที่มีจีโนไทป์ ทั้ง 3 จีโนไทป์ ในยีน *CCT7* ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เช่นเดียวกันกับยีน *FUT1* สุกรทั้ง 2 จีโนไทป์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงใน Table 3 และ 4 การศึกษาครั้งนี้ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเพศกับคะแนนอุจจาระของสุกร ($P>0.05$)

Table 3 Association between genotypes of *CCT7* and the number and percentage of fecal scores at 2, 7, 14, and 21 days post-infection (dpi)

Genotype	Day post inoculation	Fecal Scores (Number/Percentage)					Total	CMH ¹ P-value
		1	2	3	4	5		
AA	2	0	2	4	3	0	9	0.69
		0	22.22	44.44	33.33	0	100	
	7	0	2	4	2	1	9	
		0	22.22	44.44	22.22	11.11	100	
	14	0	5	2	1	1	9	
		0	55.56	22.22	11.11	11.11	100	
	21	0	2	5	2	0	9	
		0	22.22	55.56	22.22	0	100	
GA	2	0	6	8	3	0	17	
		0	35.29	47.06	17.65	0	100	
	7	0	3	12	2	0	17	
		0	17.65	70.59	11.76	0	100	
	14	1	3	8	4	1	17	
		5.88	17.65	47.06	23.53	5.88	100	
	21	1	5	11	0	0	17	
		5.88	29.41	67.71	0	0	100	
GG	2	0	8	3	2	0	13	0.69
		0	35.29	47.06	17.65	0	100	
	7	0	0	9	1	3	13	
		0	0	69.23	7.69	23.08	100	
	14	1	3	7	2	0	13	
		7.69	23.08	53.85	15.38	0	100	
	21	0	2	8	2	1	13	
		0	15.38	61.54	15.38	7.69	100	

¹ Analysis of Genotype Effect on Fecal Scores Over Time by Cochran-Mantel-Haenszel statistic (CMH), row mean scores differ test was $P<.001$.

Table 4 Association between genotypes of *FUT1* and the number and percentage of fecal scores at 2, 7, 14, and 21 days post-infection (dpi)

Genotype	Day post inoculation	Fecal Scores (Number/Percentage)					Total	CMH ¹ P-value
		1	2	3	4	5		
AG	2	0	2	3	3	0	8	0.77
		0	25.00	37.50	37.50	0	100	
	7	0	1	5	0	2	8	
		0	12.50	62.50	0	25.0	100	
	14	1	4	3	0	0	8	
		12.50	50.0	37.50	0	0	100	
	21	0	1	6	1	0	8	
		0	12.50	75.00	12.50	0	100	
GG	2	0	8	17	6	0	31	0.77
		0	25.84	54.84	19.35	0	100	
	7	0	4	20	3	4	31	
		0	12.90	64.52	9.68	12.90	100	
	14	1	7	14	7	2	31	
		12.50	22.58	45.16	22.58	6.45	100	
	21	1	8	18	3	1	31	
		3.23	25.81	58.06	9.68	3.23	100	

¹Analysis of Genotype Effect on Fecal Scores Over Time by Cochran-Mantel-Haenszel statistic (CMH), row mean scores differ test was $P < .001$.

ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ของยีน *CCT7* และ *FUT1* กับปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระ

ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์กับปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระของยีน *CCT7* ในวันที่ 2 ของการได้รับเชื้อซัลโมเนลลา พบว่า สุกรที่มีจีโนไทป์ AA ปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระสูงกว่าสุกรที่มีจีโนไทป์ GG และ GA แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในวันที่ 7, 14 และ 21 สุกรที่มีจีโนไทป์ AA GA และ GG มีปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) สำหรับยีน *FUT1* และปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระ ในวันที่ 2, 7, 14 และ 21 ในสุกรทั้ง 2 จีโนไทป์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงใน **Table 5** การศึกษาครั้งนี้ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเพศกับปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลลาในอุจจาระของสุกร ($P > 0.05$)

Table 5 Association between genotypes and *Salmonella* shedding levels ($\times 10^4$ CFU/ml) in pig feces at 2, 7, 14, and 21 days post-inoculation (dpi)

Gene	Genotype	Days post inoculation (dpi) ¹			
		2	7	14	21
<i>CCT7</i>	AA	3.05 $\pm$ 2.80 ^a	2.25 $\pm$ 0.89	1.57 $\pm$ 1.85	1.22 $\pm$ 1.02
	GA	0.80 $\pm$ 1.57 ^b	1.74 $\pm$ 1.79	1.08 $\pm$ 0.87	0.43 $\pm$ 0.50
	GG	1.68 $\pm$ 1.19 ^b	1.13 $\pm$ 0.89	1.45 $\pm$ 2.00	0.67 $\pm$ 1.03
	P-value	0.02	0.17	0.70	0.08
<i>FUT1</i>	AG	1.44 $\pm$ 2.65	1.90 $\pm$ 1.93	1.41 $\pm$ 1.53	0.70 $\pm$ 1.00
	GG	1.05 $\pm$ 1.72	1.74 $\pm$ 1.51	1.44 $\pm$ 1.55	0.56 $\pm$ 0.71
	P-value	0.72	0.59	0.92	0.82

¹Values are presented as means $\pm$ standard deviation (SD)^{a,b} Different superscripts within the same column indicate significant differences between genotype ($P < 0.05$)

วิจารณ์

ในการประเมินความต้านทานต่อการติดเชื้อโรคในสัตว์ สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การนับจำนวนสัตว์ที่อยู่รอดหรือตายจากการติดเชื้อโรค การวัดระดับของภูมิคุ้มกันในเลือด คณะอนุจากระ และการวัดปริมาณการขับเชื้อโรคในอุจจาระ เป็นต้น โดยสัตว์ที่ต้านทานต่อการติดเชื้อโรค เมื่อได้รับเชื้อจะมีการขับเชื้อออกมาในปริมาณที่สูงและค่อยๆ ลดลง ขณะที่สัตว์ที่มีความต้านทานต่อการติดเชื้อโรคต่ำ จะมีการขับเชื้อโรคออกมาได้น้อยกว่า (Ayres and Schneider, 2012; Seal et al., 2021) ซึ่งกลไกทางพันธุกรรมในการต้านทานต่อการติดเชื้อซัลโมเนลล่าเป็นผลมาจากการควบคุมของยีนหลายคู่ (Schut et al., 2020)

คณะอนุจากระถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการตัดสินระดับของอาการท้องเสียในสัตว์ มักใช้ในประเมินอาการท้องเสียในสุกรที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย (Luise et al., 2019) จากการเก็บอุจจาระในวันที่ 0 ก่อนได้รับเชื้อ พบว่าอุจจาระของสุกรทุกตัวไม่พบเชื้อซัลโมเนลล่า อาจแสดงให้เห็นว่าอาหาร น้ำ และบริเวณคอกไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อซัลโมเนลล่า โดยคณะอนุจากระในวันที่ 2 ของการได้รับเชื้อ พบว่าอุจจาระมีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งไม่มีเลือด และเหลวเป็นน้ำไม่มีเลือดปน อาจเนื่องมาจากสัตว์ได้รับเชื้อซัลโมเนลล่าเข้าไปในร่างกายนั้น จะแสดงอาการในระยะเวลา 48-72 ชั่วโมงหลังการได้รับเชื้อ โดยสุกรจะกินอาหารน้อยลง และมีอาการขาดน้ำ (โซคซัยและคณะ, 2554) ซึ่งนอกจากนี้ ยังพบว่าในวันที่ 2 ของการได้รับเชื้อ สุกรทุกตัวมีอาการท้องเสีย และกินอาหารลดลง โดยคณะอนุจากระจากการศึกษารุ่นนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Spiehs และคณะ (2008) ที่มีรายงานว่า สุกรที่รับเชื้อซัลโมเนลล่าความเข้มข้น 2×10^8 cfu/ml สุกรมีคณะอนุจากระในวันที่ 1-5 ของการได้รับเชื้อ อยู่ในระดับคณะอนุ 1-3 ขณะที่ Valini et al. (2023) รายงานสุกรในระยะรุ่นที่ได้รับการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลล่าความเข้มข้นในช่วง 0 จนถึง 1.5×10^8 cfu/ml ไม่มีความแตกต่างของคณะอนุจากระในวันที่ 0-7 ของการได้รับเชื้อ อย่างไรก็ตาม จากการสังเกตด้วยสายตาพบว่าในวันที่ 7, 14 และ 21 สุกรเริ่มพบว่าอุจจาระมีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลวมากขึ้น และมีเลือดปน สวามิภูม แต่พบว่า ในวันที่ 14 และ 21 สุกรเริ่มมีการลุกกินอาหารมากขึ้น และนอนกระจายทั่วคอก

ผลการศึกษาคความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องซึ่งประกอบด้วยยีน Chaperonin Containing TCP1 Subunit 7 (*CCT7*), Alpha-1-Fucosyltransferase (*FUT1*), Neutrophil Cytosolic Factor 2 (*NCF2*) และ Tolllike receptors 4

(*TLR4*) ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าในยีน *CCT7* มีความถี่ของจีโนไทป์ GA สูงสุด และมีความถี่ของอัลลีล G สูงกว่าอัลลีล A ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ของ ณัฐริกา และคณะ (2562) ที่ทำการศึกษความหลากหลายของยีน *CCT7* ในตำแหน่งเดียวกัน ในสุกรพันธุ์ดัตช์และพันธุ์ลาร์จไวท์ และพันธุ์แลนด์เรซ พบว่ามีความถี่จีโนไทป์ AA สูงสุด และอัลลีล A มีความถี่สูงกว่าอัลลีล G ขณะที่รายงานของ Uthe et al. (2009) ซึ่งศึกษาความหลากหลายของยีน *CCT7* ในสุกรสายพันธุ์ พบว่ามีสัดส่วนของอัลลีล G สูงกว่าอัลลีล A ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากกระบวนการคัดเลือกและวางแผนการปรับปรุงพันธุ์ที่ต่างกัน ซึ่งส่งผลให้ความหลากหลายของยีนแตกต่างกัน

จากรายงานที่ผ่านมาพบความถี่ของจีโนไทป์ AA ในยีน *FUT1* ที่ต่ำในประชากรสุกรแต่ละสายพันธุ์ เช่น Bao et al. (2008) ทำการศึกษาความหลากหลายของ *FUT1* ในสุกรป่าเอเชีย สุกรพื้นเมืองจีน และสุกรสายพันธุ์ยุโรป โดยสุกรป่าเอเชีย พบเพียงจีโนไทป์ GG เท่านั้น ส่วนสุกรพื้นเมืองจีนพบเพียง 2 จีโนไทป์ คือ AG และ GG โดยมีจีโนไทป์ GG สูงกว่า AG และในสุกรพื้นเมืองจีนบางสายพันธุ์พบเพียงจีโนไทป์ GG ส่วนสุกรสายพันธุ์ยุโรป (ดัตช์และเปียแตรง) พบทั้ง 3 จีโนไทป์ ส่วนสุกรพันธุ์ลาร์จไวท์และแลนด์เรซ พบเพียง 2 จีโนไทป์ โดยมีความถี่ของจีโนไทป์ GG สูงกว่า AG Snegin et al. (2023) รายงานว่าในสุกรพันธุ์ ดัตช์ แลนด์เรซและลาร์จไวท์ของประเทศรัสเซีย พบจีโนไทป์ของยีน *FUT1* จำนวน 3 จีโนไทป์ นอกจากนี้ความถี่ของจีโนไทป์ที่ต่อมา Petit et al. (2020) ทำการศึกษาความแปรปรวนของจีโนไทป์ *FUT1* สุกรป่ายุโรป พบเฉพาะจีโนไทป์ AG และ GG โดยสุกรป่าที่อัลลีล A จำนวน 7 ตัวจากสุกรป่ายุโรปทั้งหมด 222 ตัว ส่วนความถี่จีโนไทป์ของยีน *FUT1* ในสุกรพื้นเมืองไทย ซึ่งประกอบไปด้วยสุกรพื้นเมืองภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ โดยสุกรพื้นเมืองภาคใต้และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบเพียง 2 จีโนไทป์ คือ GG และ AG ขณะที่สุกรพื้นเมืองภาคเหนือพบจำนวน 3 จีโนไทป์ โดยจีโนไทป์ AA และมีความถี่จีโนไทป์เพียง 0.01 เท่านั้น เช่นเดียวกันกับการศึกษาครั้งนี้ไม่พบจีโนไทป์ AA ในยีน *FUT1* ซึ่งเป็นรูปแบบจีโนไทป์ที่มีความสัมพันธ์กับต้านทานโรคท้องเสียในสุกร โดยพบเพียง 2 จีโนไทป์ คือ AG และ GG ซึ่งจีโนไทป์ GG มีความถี่สูงกว่า AG อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้ใช้สุกรลูกผสมที่ใช้ในการเลี้ยงเพื่อผลิตสุกรขุนในระบบอุตสาหกรรม ซึ่งพบความถี่ของอัลลีล A ที่ต่ำและไม่พบจีโนไทป์ AA อาจเป็นไปได้ว่าในการปรับปรุงพันธุ์ในสายพ่อและสายแม่ อาจมีการคัดเลือกโดยให้ความสำคัญกับการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวและจำนวนลูกต่อครอก ซึ่งนำไปสู่การพบความถี่ของอัลลีล A ที่ต่ำในประชากรได้ ซึ่งอัลลีลนี้อาจส่งผลกระทบต่อลักษณะการเจริญเติบโตและระบบสืบพันธุ์ Cuong et al. (2012) ได้มีการอนุมานไว้ว่าการเกิดโรคท้องเสียในสุกรหลังหย่านมมีผลกระทบเชิงลบกับอัตราการเจริญเติบโต ซึ่งเป็นผลโดยตรงทำให้สุกรหลังหย่านมมีการเจริญเติบโตช้าและส่งผลกระทบระยะยาวไปยังสุกรระยะขุน หรืออาจเป็นผลเนื่องจากรูปแบบจีโนไทป์ของยีนที่ต้านทานต่อโรคท้องเสีย ดังนั้น ในการคัดเลือกจำเป็นต้องวางแผนให้รอบคอบและแม่นยำ อย่างไรก็ตาม บางรายงานพบความถี่อัลลีล A สูงกว่าการศึกษาครั้งนี้ (Luise et al., 2019)

Bao et al. (2011) ทำการศึกษาความหลากหลายของยีน *TLR4* ในประชากรสุกรพื้นเมืองจีน จำนวน 11 สายพันธุ์ สุกรพันธุ์ยุโรป ประกอบด้วย ดัตช์ แลนด์เรซ และลาร์จไวท์ และสุกรป่า ผลการศึกษาพบว่า ไม่พบความหลากหลายของยีน *TLR4* ในสุกรพื้นเมืองจีน และสุกรป่า ขณะที่พบความหลากหลายของยีนในสุกรพันธุ์ยุโรป และ Uthe et al. (2011) ศึกษาความหลากหลายของยีน *TLR4* และ *NCF2* ในประชากรสุกรที่เลี้ยงในเชิงพาณิชย์ จำนวน 3 ประชากร ในยีน *TLR4* พบความถี่ของอัลลีล G สูงกว่าอัลลีล A และ ในยีน *NCF2* พบความถี่ของอัลลีล C สูงกว่าอัลลีล T อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแปรปรวนของจีโนไทป์ของยีน *NCF2* และ *TLR4* ในประชากร อย่างไรก็ตาม ความแปรปรวนของรูปแบบจีโนไทป์ที่เกิดขึ้นอาจเนื่องแผนการปรับปรุงพันธุ์และคัดเลือกที่ต่างกันและสิ่งแวดล้อมที่อยู่อาศัย

ค่าเฮเทอโรไซโกซิตี (heterozygosity) ถูกแบ่งออกเป็น 2 ค่า คือค่าสัดส่วนของตัวอย่างที่เป็นเฮเทอโรไซโกตเฉลี่ยต่อตำแหน่งที่คำนวณจากข้อมูลจริงหรือค่าเฉลี่ยค่าสังเกตเฮเทอโรไซโกซิตี (observed heterozygosity: H_o) และค่าคาดหวังซึ่งคำนวณทางอ้อมจากสมการฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก (expected heterozygosity: H_e) ซึ่งค่าเฮเทอโรไซโกซิตีสังเกต (H_o) และค่าเฮเทอโรไซโกซิตีคาดหวัง (H_e) เป็นค่าทางสถิติที่ช่วยบ่งบอกถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในประชากรที่ทำการศึกษา โดยการศึกษาครั้งนี้ในยีน *CCT7* และ *FUT1* มีค่า H_o สูงกว่า ค่า H_e เพียงเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าประชากรมีความหลากหลายสูง อาจมีการนำเข้าพ่อแม่พันธุ์สุกรมาจากหลายแหล่ง เมื่อพิจารณาค่าสมการฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก พบว่าไม่มีการการเบี่ยงเบน หรือ ไม่มีความแตกต่างระหว่างค่า H_o และค่า H_e ซึ่งถูกคาดคะเนภายใต้สมการฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก

การศึกษารังนี้ไม่พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีน *CCT7* และ *FUT1* กับเพศ ซึ่งยังไม่พบรายงานที่เกี่ยวข้องกับอิทธิพลของเพศกับการต้านทานต่อเชื้อโรค อย่างไรก็ตาม อาจมียีนหรือบางตำแหน่งของยีนที่การแสดงออกของยีนส่งผลให้มีความไวต่อการติดเชื้อโรคในเพศใดเพศหนึ่งแตกต่างกัน มีความไวในทั้งสองเพศ หรือ อาจมีความรุนแรงในเพศใดเพศหนึ่งได้ (Lipoldová and Demant, 2021)

แซเปโรนินที่คอมเพล็กซ์โปรตีน-1 (TCP-1) ริงคอมเพล็กซ์ (TRiC) หรือที่รู้จักในชื่อ CCT (chaperonin ที่ประกอบด้วย TCP-1) เป็น chaperonin ที่อยู่ภายในเซลล์ที่ประกอบด้วยแปดหน่วยย่อย: α , β , γ , δ , ϵ , ζ , η และ θ ซึ่งถูกแปลรหัสไปเป็น CCT1, CCT2, CCT3, CCT4, CCT5, CCT6, CCT7 และ CCT8 ตามลำดับ (Chang et al., 2020; Vallin and Grantham, 2019) โดย CCT ส่งเสริมการพัฒนาโครงสร้างของโปรตีนในเซลล์ (ส่วนใหญ่เป็นโปรตีนในเซลล์โครงร่าง เช่น tubulin และ actin) ในไซโตพลาสซึมและนิวเคลียส (Brackley and Grantham, 2009; Tahmaz et al., 2021) ในยูคาริโอต CCT มีความสำคัญต่อการอยู่รอดของเซลล์ วัฏจักรของเซลล์ และไม่สามารถแทนที่การทำงานด้วย Chaperon ตัวอื่นๆได้ (Spiess et al., 2004; Wang et al., 2020) โดย TRiC/CCT chaperonin มีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อการติดเชื้อและควบคุมการทำงานไวรัส เช่น ในสุนัข พบว่าการควบคุมแสดงออกของยีน *CCT7* ในเซลล์ F81 ให้ลดลงหรือเพิ่มขึ้นส่งผลต่อระดับการแสดงออกของโปรตีน VP2 ในพาโวไวรัส เป็นต้น (Su et al., 2024) อย่างไรก็ตาม บทบาทและกลไกระดับโมเลกุลที่เกี่ยวข้องของ *CCT7* ในการส่งผลต่อการต้านทานต่อการติดเชื้อโรคมียังจำกั ในสุกรยีน *CCT7* อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 3 มีขนาดเบสบริเวณ coding sequence จำนวน 1632 bp และสามารถสังเคราะห์กรดอะมิโน จำนวน 543 ตัว จากรายงานการศึกษาของ ณัฐริกา และคณะ (2564) และ Uthe et al. (2009) พบรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *CCT7* มีความสัมพันธ์กับค่าโลหิตวิทยา โดยสุกรที่มีจีโนไทป์ GA มีปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด และเม็ดเลือดขาวชนิดต่าง ๆ สูงกว่าสุกรที่มีจีโนไทป์ GG นอกจากนี้ Uthe et al. (2009) พบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างระดับของ Interferon gamma (IFN- γ) กับจำนวนของเม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ ในสุกรที่ได้รับเชื้อซัลโมเนลล่า ซึ่ง Knetter et al. (2015) รายงานว่า สุกรที่ได้รับเชื้อซัลโมเนลล่าเป็นเวลานานจะมีการแสดงออกของยีน Interferon gamma (IFN- γ) เพิ่มขึ้น ซึ่ง Interferon gamma ไปมีผลต่อกระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของยีนที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนหลายร้อยยีน รวมถึงส่งผลต่อการแสดงออกของยีน *CCT* ด้วย (Ofstedal et al., 2021) และ Uthe et al. (2007) ทำการศึกษาการแสดงออกของยีนในเนื้อเยื่อในต่อน้ำเหลืองต่อการติดเชื้อ *Salmonella Choleraesuis* และ *Salmonella Typhimurium* ในสุกร ซึ่งพบว่าเมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมงหลังได้รับเชื้อ มีการแสดงออกของยีน *ARPC2*, *CCT7*, *HSPH1*, *LCP1*, *PTMA*, *SDCBP* และ *VCP* เพิ่มขึ้น Uthe et al. (2009) รายงานว่าการกลายพันธุ์ของยีน *CCT7* ที่ตำแหน่ง AK240296.c1153G > A มีความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบยีน *CCT7* ต่อปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระของสุกร โดยใช้สุกรคณะเพศ จำนวน 40 ตัว ทำการป้อนเชื้อ *Salmonella Typhimurium* และเก็บอุจจาระในวันที่ 2, 7, 14 และ 20 โดยในวันที่ 7 ของการได้รับเชื้อซัลโมเนลล่า พบสุกรที่มีจีโนไทป์ GA มีปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลล่าสูงกว่าสุกรที่มีจีโนไทป์ GG อย่างไรก็ตาม รายงานของ Uthe et al. (2009) พบสุกรที่มีจีโนไทป์ AA เพียง 1 ตัว แตกต่างจากการศึกษารังนี้ที่พบสุกรที่มีจีโนไทป์ AA จำนวน 13 ตัว ซึ่งพบว่าสุกรที่มีจีโนไทป์ AA มีการขับเชื้อซัลโมเนลล่าสูงกว่าสุกรที่มีจีโนไทป์ GA และ GG ในวันที่ 2 ของการได้รับเชื้อ ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าการขับเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระในปริมาณที่สูงอาจเป็นผลเนื่องมาจากอิทธิพลของอัลลีล A โดยมีความไวต่อการขับเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระของสุกรและอาจต้านทานต่อการติดเชื้อซัลโมเนลล่า นอกจากนี้ยังรายงานการศึกษากลายพันธุ์ของยีน *CCT7* ในตำแหน่งอื่นๆ กับการขับเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระของสุกร จากการศึกษาของ Uthe et al. (2011) ทำการศึกษความสัมพันธ์ระหว่างยีน *CCT7* ที่ตำแหน่ง c.1520C>T กับปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลล่า ใช้ตัวอย่างสุกรจากฟาร์มภาคสนาม จำนวน 109 ตัว และในฟาร์มสุกรทดลองจำนวน 40 ตัว ซึ่งประชากรสองกลุ่มนี้เป็นอิสระต่อกัน ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างของเชื้ออุจจาระของสุกร เพื่อนำไปตรวจสอบปริมาณเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระ แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบอัลลีลกับปริมาณเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระ โดยประชากรสุกรที่ทำการสุ่มตรวจมีความถี่อัลลีล G (0.7) สูงกว่าอัลลีล A (0.3)

เป็นที่ทราบกันดีว่ายีน *FUT1* มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*) ในสุกร มักใช้เครื่องหมายพันธุกรรมในการคัดเลือกสุกรให้ต้านทานต่อการท้องเสียในสุกรก่อนและหลังหย่านม โดยยีน *FUT1* อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 6 มีขนาด 7.4 Kb เกิดการกลายพันธุ์ในตำแหน่ง g.307 G>A (referred to as rs335979375 on position 6:54079650 in the last version Sscrofa11.1 of

the pig genome) ทำให้เปลี่ยนแปลงเบสจากเบส กัวนีน (G) เป็นเบสอะดีนีน (A) ซึ่งส่งผลทำให้กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 103 เปลี่ยนแปลงจากอะลานีน เป็นทรีโอนีน ซึ่งส่งผลต่อการกระตุ้นทำงานของเอนไซม์ *FUT1* ที่กำหนดการยึดเกาะของ ECF18 จึงส่งผลต่อความต้านทานหรือความไวของเยื่อผิวลำไส้เล็ก โดยจะกระตุ้น $\text{Gal}\beta\text{-4GlcNAc}\beta\text{-1-}$ เปลี่ยนเป็น $\text{Gal}\beta\text{-4GlcNAc}\beta\text{-1}$ โดย $\text{Gal}\beta\text{-4GlcNAc}\beta\text{-1}$ เปลี่ยนเป็น $\text{Fuc}\alpha$ ซึ่งจะผลิต H- antigen ชนิด H-2 histo blood ซึ่งทำหน้าที่จับกับตัวรับบนผนังเซลล์ของลำไส้เล็ก ซึ่งเป็นตำแหน่งที่เชื้อ *Escherichia coli* มาจับ แต่เมื่อมี H-2 histo blood เข้ามาจับแล้ว ทำให้เชื้อ *Escherichia coli* ไม่สามารถยึดเกาะกับตัวรับบนผนังเซลล์ของลำไส้เล็กของสัตว์ได้ ส่งผลให้เชื้อ *Escherichia coli* ไม่สามารถดูดซึมเข้าสู่ลำไส้เล็กได้ (Meijerink et al., 1997; Bao et al., 2011) โดยมีรายงานว่า จีโนไทป์ AA มีความสัมพันธ์กับการต้านทานต่อเชื้อ E. coli และจีโนไทป์ AG และ GG มีความไวต่อการติดเชื้อ *Escherichia coli* ซึ่งจากการศึกษาของ Luo et al. (2010) ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของยีน *FUT1* ต่อลักษณะการต้านทานโรคท้องเสียหลังหย่านม และโรคข้อบวมของสุกร 3 สายพันธุ์ คือ Large White, Landrace และ Songliao Black จำนวน 363 ตัว พบว่าสุกรที่มีจีโนไทป์ GG และ GA มีความไวต่อการได้รับเชื้อ *Escherichia coli* และสุกรที่มีจีโนไทป์ AA มีความต้านทานต่อการได้รับเชื้อ *Escherichia coli* จากการศึกษาของ Bao et al. (2012) ทำการศึกษาเกี่ยวกับการกลายพันธุ์ของยีน *FUT1* ต่อการต้านทานโรค ซึ่งทำการทดลองในสุกรพันธุ์พื้นเมืองจิน (Sutai) จำนวน 24 ตัว พบว่า สุกรที่มีจีโนไทป์ GG และ GA มีความไวต่อการได้รับเชื้อ *Escherichia coli* และสุกรที่มีจีโนไทป์ AA มีความต้านทานต่อการได้รับเชื้อ *Escherichia coli* และพบว่ายีน *FUT1* มีการแสดงออกมากที่สุดในการเพาะอาหาร, ตับ, ลำไส้เล็กส่วนดูโอดินัม และเจจูนัม อย่างไรก็ตาม มีการนำยีน *FUT1* ไปศึกษาเกี่ยวกับการติดเชื้อโรคอื่นๆ เช่น Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) และการต้านทานต่อเชื้อ *Haemophilus parasuis* ซึ่งพบความสัมพันธ์ของจีโนไทป์ GG และ AG ที่มีความเสี่ยงที่เกิดโรค PRRSV และ *Haemophilus parasuis* สูงกว่าจีโนไทป์ AA (Wang et al., 2012) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า การกลายพันธุ์ของยีน *FUT1* อาจมีบทบาทเกี่ยวกับการติดเชื้อโรคในสุกรซึ่งเป็นผลมาจากเชื้อโรคหลายชนิดและช่วยในการเพิ่มความต้านทานต่อโรคในสุกร อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้ไม่พบความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ของยีน *FUT1* กับคะแนนและปริมาณเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระ ทั้งนี้การศึกษาครั้งนี้ตรวจไม่พบจีโนไทป์ AA ซึ่งยังไม่อาจสรุปได้ว่ายีน *FUT1* ไม่มีผลต่อการต้านทานต่อเชื้อซัลโมเนลล่า ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาถึงอิทธิพลของรูปแบบจีโนไทป์ AA ของยีน *FUT1* ต่อการขับเชื้อซัลโมเนลล่าในการวิจัยครั้งต่อไป

สรุป

จากการศึกษาความหลากหลายและความสัมพันธ์ของยีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับคะแนนและปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระสุกรซึ่งประกอบด้วยยีน Chaperonin Containing TCP1 Subunit 7 (*CCT7*), Alpha-1-Fucosyltransferase (*FUT1*), Neutrophil Cytosolic Factor 2 (*NCF2*) และ Tolllike receptors 4 (*TLR4*) ในการศึกษาครั้งนี้พบความหลากหลายของรูปแบบจีโนไทป์เฉพาะยีน *CCT7* และ *FUT1* และพบความสัมพันธ์ของรูปแบบจีโนไทป์ AA ของยีน *CCT7* กับปริมาณการขับเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระ ซึ่งอาจเป็นไปได้รูปแบบจีโนไทป์ดังกล่าวมีความไวต่อการขับเชื้อซัลโมเนลล่าในอุจจาระ ส่งผลให้สุกรต้านทานต่อการติดเชื้อซัลโมเนลล่า ซึ่งข้อมูลที่ได้มานำไปใช้ในการพัฒนาเป็นยีนเครื่องหมายช่วยในการคัดเลือกสุกรที่ต้านทานต่อลักษณะการติดเชื้อซัลโมเนลล่าในสุกรได้ต่อไป โดยอาจนำไปทำการ validate ในสุกรพันธุ์แท้และสุกรสายพันธุ์อื่นๆอีกครั้ง

การอนุญาตวิจัยในสัตว์

การศึกษานี้ได้ผ่านการรับรองจรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ตามเอกสารอนุญาตเลขที่ (approval number) หมายเลข 2563-09-027

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่งจาก จากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ

เอกสารอ้างอิง

- กมล ฉวีวรรณ ประภาส มหินชัย ศศิพร ช่อลำไย นัฐณี รัตนมหาวิชัย ศุภมิตร เมฆฉาย และจันทพร เจ้าทรัพย์. 2565. การศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคของสุกรพื้นเมืองไทย. แก่นเกษตร. 1: 506-517.
- กิจจา อุไรรงค์. 2535. แนวทางการวินิจฉัย รักษา และควบคุมโรคสุกร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์สหมิตรออฟเซต.
- โชคชัย นกเทศ, สุदारัตน์ ดารงวัฒนโกสิน, วันทนี เนรมิตมานสุข, ชิต ศิริวรรณ, จิรา คงครอง, สุจิรา ปาจริยานนท์, ปฎิพร ฐานกุลศักดิ์, พิชรี ทองคาคุณ, เสริมพันธุ์ สุนทรชาติ, กิตติชัย อุ่นจิต และรัฐพงศ์ รัตนภูมิ. 2554. ซัลโมเนลโลซิส. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์.
- ณัฐริกา สุวรรณวงศ์, นเรศน์ อินทริกษ์, พิรญา ทิพย์เดช และพิชญานิภา พงษ์พานิช. 2562. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันในสุกร. แก่นเกษตร. 47: 781-786.
- ณัฐริกา สุวรรณวงศ์, อัจฉรา ธรรมรัตน์ และพิชญานิภา พงษ์พานิช. 2562. ความสัมพันธ์ของรูปแบบยีน CCT7 กับค่าโลหิตวิทยาในสุกรหลังหย่านม. แก่นเกษตร. 47: 437-443.
- Ayres, J. S., and D. S. Schneider. 2012. Tolerance of infections Annual Review of Immunology 30: 271-294.
- Bao, W. B., S. L. Wu, H. H. Musa, G. Q. Zhu, and G. H. Chen. 2008. Genetic variation at the alpha-1-fucosyltransferase (*FUT1*) gene in Asian wild boar and Chinese and Western commercial pig breeds. Journal of Animal Breeding and Genetics. 125: 427-430.
- Bao, W. B., L. Ye, Z. Y. Pan, J. Zhu, G. Q. Zhu, X. G. Huang, and S. L. Wu. 2011. Analysis of polymorphisms in the porcine TLR4 gene and its expression related to *Escherichia coli* F18 infection. Czech Journal of Animal Science. 11: 475-482.
- Bao, W. B., L. Ye, Z. Y. Pan, J. Zhu, Z. D. Du, G. Q. Zhu, X. G. Huang, and S. L. Wu. 2012. The effect of mutation at M307 in *FUT1* gene on susceptibility of *Escherichia coli* F18 and gene expression in Suta piglets. Molecular Biology Reports. 39: 3131-3136.
- Brackley, K. I., and J. Grantham. 2009. Activities of the chaperonin containing TCP-1 (CCT): implications for cell cycle progression and cytoskeletal organisation. Cell Stress Chaperones. 14: 23-31.
- Brichta-Harhay, D. M., T. M. Arthur, J. M. Bosilevac, M. N. Guerini, N. Kalchayanand, and M. Koohmaraie. 2007. Enumeration of Salmonella and Escherichia coli O157:H7 in ground beef, cattle carcass, hide and faecal samples using direct plating methods. Journal of Applied Microbiology. 103: 1657-1668.
- Chang, Y. X., Y. F. Lin, C. L. Chen, M. S. Huang, M. Hsiao, and P. H. Liang. 2020. Chaperonin-Containing TCP-1 Promotes Cancer Chemoresistance and Metastasis through the AKT-GSK3 β -Catenin and XIAP-Survivin Pathways. Cancers (Basel). 12: article ID 3865.
- Clop, A., A. Huisman, P. van As, A. Sharaf, S. Derdak, and A. Sanchez. 2016. Identification of genetic variation in the swine toll-like receptors and development of a porcine TLR genotyping array. Genetics Selection Evolution. 48: article ID 28.

- Cuong N. V., N. T. Thu, T. T. Thoa, T. X. Hoan, N. T. Thuy, and N. T. D. Thuy. 2012. Polymorphisms of candidate genes associated with meat quality and disease resistance in indigenous and exotic pig breeds of Vietnam. *South African Journal of Animal Science*. 42: 221-231.
- Goud, T. S., R. C. Upadhyay, A. Kumar, S. Karri, R. Choudhary, S. Ashraf, S. V. Singh, O. S. Kumar, and C. Kiranmai. 2018. Novel extraction of high-quality genomic DNA from frozen bovine blood samples by using detergent method. *Open Veterinary Journal*. 8: 415-422.
- Julius, D. and A. I. Basbaum. 2001. Molecular mechanisms of nociception. *Nature*. 413: 203-210.
- Kich, J. D., J. J. Uthe, M. V. Benavides, M. E. Cantão, R. Zanella, C. K. Tuggle, and S. M. D. Bearson. 2014. TLR4 single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with *Salmonella* shedding in pigs. *Journal of Applied Genetics*. 55: 267-271.
- Knetter, S. M., S. M. D. Bearson, T-H. Huang, D. Kurkiewicz, M. Schroyen, D. Nettleton, D. Berman, V. Cohen, J. K. Lunney, A. E. Ramer-Tait, M. J. Wannemuehler, and C. K. Tuggle. 2015. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium-infected pigs with different shedding levels exhibit distinct clinical, peripheral cytokine and transcriptomic immune response phenotypes. *Innate Immunity*. 21: 227-241.
- Luise, D., C. Lauridsen, P. Bosi, and P. Trevisi. 2019. Methodology and application of *Escherichia coli* F4 and F18 encoding infection models in post-weaning pigs. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 10: 1-20.
- Luo, Y., X. Qiu, H. Li and Q. Zhang. 2010. Association between the Polymorphism in FUT1 Gene and the Resistance to PWD and ED in Three Pig Breeds. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 23: 1268-1275.
- Meijerink, E., R. Fries, P. Voëgeli, J. Masabanda, G. Wigger, C. Stricker, S. Neuenschwander, H. U. Bertschinger, and G. Stranzinger. 1997. Two alpha (1,2) fucosyltransferase genes on porcine chromosome 6q11 are closely linked to the blood group inhibitor (S) and *Escherichia coli* F18 receptor (ECF18R) loci. *Mammalian Genome*. 8: 736-741.
- Oftedal, B. E., S. Maio, A. E. Handel, M.P. J. White, D. Howie, S. Davis, N. Prevot, I. A. Rota, M. E. Deadman, B. M. Kessler, R. Fischer, N. S. Trede, E. Sezgin, R. M. Maizels, and G. A. Holländer. 2021. The chaperonin CCT8 controls proteostasis essential for T cell maturation, selection, and function. *Communications Biology*. 4: article ID 681.
- Peakall, R. O. D., and P. E. Smouse. 2012. GENALEX 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*. 28: 2537-2539.
- Petit, G., V. Grosbois, K. Chalvet-Monfray, A. Ducos, D. Desmecht, G. P. Martineau, and A. Decors. 2020. Polymorphism of the alpha-1-fucosyltransferase (FUT1) gene in several wild boar (*Sus scrofa*) populations in France and link to edema disease. *Research in Veterinary Science*. 131: 78-86.
- Phongaran, D., S. Khang-Air, and S. Angkititrakul. 2019. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates from broilers and pigs in Thailand. *Veterinary World*. 12: 1311-1318.
- Poulsen, A., S. R. Luise, D. Curtasu, M. V. Sugiharto, S. Canibe, N. P. Trevisi, and C. Lauridsen. 2018. Effects of alpha-(1,2)-fucosyl-transferase genotype variants on plasma metabolome, immune responses and gastrointestinal bacterial enumeration of pigs pre- and post-weaning. *PLoS One*. 13: article ID e0202970.

- Rhouma, M., J. M. Fairbrother, W. Thériault, F. Beaudry, N. Bergeron, S. L.-Lewandowski, and A. Letellier. 2017. The fecal presence of enterotoxin and F4 genes as an indicator of efficacy of treatment with colistin sulfate in pigs. *BMC Microbiology*. 17: article ID 6.
- Sancho-Shimizu, V., and D. Malo. 2006. Sequencing, expression, and functional analyses support the candidacy of Ncf2 in susceptibility to *Salmonella typhimurium* infection in wild-derived mice. *Journal of Immunology*. 176: 6954-6961.
- Schut, C. H., A. Farzan, R. S. Fraser, M.H. Ainslie-Garcia, R. M. Friendship, and B.N. Lillie. 2020 Identification of Single-Nucleotide Variants Associated with Susceptibility to Salmonella in Pigs Using a Genome-Wide Association Approach *BMC Veterinary Research*. 16: article ID 138.
- Seal, S., G. Dharmarajan and I. Khan. 2021. Evolution of pathogen tolerance and emerging infections: a missing experimental paradigm. *Elife*. 0: article ID e68874.
- Snegin, E. A., A. A. Sychev, O. Y. Artemchuk, A. S. Barkhatov, E. A. Snegina, S. R. Yusupov and A. Y. Yusupova. 2023. Polymorphisms associated with resistance to infectious diseases in different breeds of pigs of the Belgorod Region of Russia. *E3S Web of Conferences* 390: article ID 07018.
- Splichal, I., I. Rychlik, I. Splichalova, D. Karasova and A. Splichalova. 2020. Toll-like Receptor 4 Signaling in the Ileum and Colon of Gnotobiotic Piglets Infected with *Salmonella Typhimurium* or Its Isogenic Δ ra Mutants. *Toxins*. 12: article ID 545.
- Spiehs, M. J., G. C. Shurson and L. J. Johnston. 2008. Effects of two direct-fed microbials on the ability of pigs to resist an infection with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Journal of Swine Health and Production*. 16: 27-36.
- Spiess, C., A. S. Meyer, S. Reissmann and J. Frydman. 2004. Mechanism of the eukaryotic chaperonin: protein folding in the chamber of secrets. *Trends in Cell Biology*. 14: 598-604.
- Su, X., H. Zhou, F. Xu, J. Zhang, B. Xiao, Q. Qi, L. Lin, and B. Yang. 2024. Chaperonin TRiC/CCT subunit CCT7 is involved in the replication of canine parvovirus in F81 cells. *Frontiers in Microbiology*.15: article ID 1346894.
- Tahmaz, I., S. S. Ghahe, and U. Topf. 2021. Prefoldin function in cellular protein homeostasis and human diseases. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 9: article ID 816214.
- Trongjit, S., S. Angkititrakul, R. E. Tuttle, J. Pongseree, P. Padungtod, and R. Chuanchuen 2017. Prevalence and antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* isolated from broiler chickens, pigs and meat products in Thailand–Cambodia border provinces. *Microbiology and Immunology*. 61: 23-33.
- Uthe, J. J., A. Royae, J. K. Lunney, T. J. Stabel, S. H. Zhao, C. K. Tuggle, and S. M. Bearson. 2007. Porcine differential gene expression in response to *Salmonella enterica* serovar *Choleraesuis* and *Typhimurium*. *Molecular Immunology*. 44: 2900-2914.
- Uthe, J. J., Y. Wang, L. Qu, D. Nettleton, C. K. Tuggle, and S. M. D. Bearson. 2009. Correlating blood immune parameters and a CCT7 genetic variant with the shedding of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in swine. *Veterinary Microbiology*. 135: 384-388.

- Uthe, J. J., S. M. Bearson, L. Qu, J. C. Dekkers, D. Nettleton, Y. Rodriguez Torres, A. M. Connor, J. D. McKean, and C. K. Tuggle. 2011. Integrating comparative expression profiling data and association of SNPs with Salmonella shedding for improved food safety and porcine disease resistance. *Animal Genetics*. 42: 521-534.
- Valini, G. A. C., P. R. Arnaut, L. G. Barbosa, P. H. A. de Azevedo, A. D. B. Melo, D. A. Marçal, P. H. R. F. Campos, and L. Hauschild. 2023. A simple assay to assess salmonella typhimurium impact on performance and immune status of growing pigs after different inoculation doses. *Microorganisms*. 11: article ID 446.
- Vallin, J., and J. Grantham. 2019. The role of the molecular chaperone CCT in protein folding and mediation of cytoskeleton-associated processes: implications for cancer cell biology. *Cell Stress Chaperones*. 24: 17-27.
- Wang, S. J., W. J. Liu, L. G. Yang, C. A. Sargent, H. B. Liu, C. Wang, X. Liu, S. Zhao, N. Affara, A. Liang, and S. J. Zhang. 2012. Effects of *FUT1* gene mutation on resistance to infectious disease. *Molecular Biology Reports*. 39: 2805-2810.