

Pengesahan bagi Mengesan Bakteria Patogen Makanan Menggunakan Teknologi Mikroaturan DNA (Validation of Food-borne Pathogen Detection using DNA Microarray Technology)

JELIN SAWEI, NORRAKIAH ABDULLAH SANI*, AMINAH ABDULLAH & SAHILAH ABD. MUTALIB

ABSTRAK

Kajian ini dijalankan untuk mengesahkan kemampuan teknologi DNA mikroaturan cip gen *Olipro*TM *FoodPATH* bagi mengesan bakteria patogen makanan. Sebanyak 9 jenis DNA bakteria patogen makanan telah digunakan iaitu *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. dan *Campylobacter* spp. Sebanyak 36 kombinasi templat DNA bakteria patogen makanan telah digunakan. Pengesahan bagi mengesan bakteria patogen makanan dilakukan dengan menggunakan kaedah reaksi berantai polimerase (PCR) dan penghibridan Southern-blotting di atas cip gen untuk mengesahkan kemampuannya. Keputusan daripada analisis hibridasi di atas cip gen telah dibandingkan dengan hasil gel elektroforesis 2.0% (w/v). Lima saringan diperlukan untuk menghabiskan 36 kombinasi templat DNA bakteria patogen makanan. Setiap saringan, satu cip gen telah digunakan sebagai kawalan negatif tidak diinokulasikan dengan sebarang kombinasi DNA bakteria patogen makanan. Daripada hasil kajian, didapati bahawa semua kombinasi templat DNA bakteria patogen makanan telah dapat dikesan. Cip yang digunakan sebagai kawalan negatif tidak menunjukkan kehadiran DNA. Oleh itu, daripada kajian ini cip gen *Olipro*TM *FoodPATH* didapati memberikan keputusan yang lebih baik berbanding dengan 2.0% (w/v) gel elektroforesis.

Kata kunci: Bakteria patogen makanan; cip gen *Olipro*TM *FoodPATH*, mikroaturan DNA

ABSTRACT

This study was conducted to validate the capability of DNA microarray technology of *Olipro*TM *FoodPATH* Gene Chip in detecting food-borne pathogens. Nine types of food-borne pathogen DNAs were used namely *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. and *Campylobacter* spp. A total of 36 combinations of DNA templates of food-borne pathogens were used. Polymerase chain reaction (PCR) and Southern-Blotting Hybridization methods were used on the gene chip to validate its capability. The results of hybridization on gene chip were compared with results from gel electrophoresis of 2.0% (w/v). Five screenings were required to complete the 36 combinations of DNA templates of food-borne pathogen. For each screening, one gene chip was used as negative control, whereby no DNA templates of food-borne pathogen were inoculated. The results showed that all combinations of food-borne pathogen DNA templates were detected. The negative control chip did not show the presence of any DNA. This study showed that *Olipro*TM *FoodPATH* Gene Chip gave better results than the 2.0% (w/v) gel electrophoresis.

Keywords: DNA microarray; food-borne pathogen; *Olipro*TM *FoodPATH* gene chip

PENGENALAN

Pada akhir tahun 1980-an, keprihatinan orang awam terhadap keracunan makanan di negara-negara maju meningkat. Sebagai contoh, berlakunya peningkatan publisiti di United Kingdom terhadap pencemaran oleh *Salmonella* spp. di dalam telur mentah (Wyatt et al. 1992). Di Amerika Syarikat dan Kanada, lembu merupakan sumber utama infeksi dengan daging dan susu yang tidak dipasteur menjadi pembawa utama bakteria tersebut (Brook & Bannister 1991).

Di Malaysia pula, telah dilaporkan bahawa kes keracunan makanan yang berpunca daripada nasi lemak adalah yang tertinggi dalam kalangan pelajar sekolah. Ini adalah kerana nasi lemak tersebut telah dicemari

oleh toksin yang dihasilkan oleh *B. cereus* (Entis 2008). Sebanyak 11226 kes keracunan makanan berlaku di sekolah di seluruh negara dari Januari 2007 sehingga 15 September 2007 berbanding dengan 5613 kes pada tempoh yang sama pada tahun 2006, iaitu peningkatan lebih 100 peratus (Bernama 2007). Bahagian Pendidikan Kesihatan, Kementerian Kesihatan, telah melaporkan bahawa kes keracunan makanan di sekolah paling tinggi di Selangor, diikuti dengan Kedah, Perak dan seterusnya Kelantan. Pengarah Kesihatan Negeri (Kesihatan Awam) berpendapat, keadaan ini amat membimbangkan kerana pelbagai usaha telah dilakukan, namun bilangan kes didapati masih terus meningkat (Mohd. 2010). Oleh itu, kajian terhadap tahap kebersihan makanan di kafeteria

institusi dan sekolah perlu dilakukan. Pengesanan bakteria patogen makanan perlu dilakukan bagi memastikan setiap makanan yang dipasarkan atau dimakan bebas daripada pencemaran.

Wang et al. (2007), mengatakan bahawa aplikasi teknologi *microarray* dalam pengesanan bakteria patogen makanan adalah kaedah paling tepat berbanding dengan kaedah konvensional. Ini adalah kerana, kaedah konvensional adalah kaedah yang berasaskan pengesanan kultur bakteria patogen makanan dan memerlukan jangka masa yang panjang sehingga seminggu. Selain itu, Ratna Dewi et al. (2012) turut menerangkan bahawa pemencilan kultur bakteria patogen makanan pada kebanyakan media selektif seperti *E. coli* berkemungkinan tidak berjaya dilakukan jika bakteria tersebut mengalami kecederaan semasa perlakuan haba serta menyebabkan masa pendam selnya meningkat.

Mandal et al. (2011) pula menerangkan bahawa bakteria patogen makanan semakin mempengaruhi tahap kesihatan dan kadar kematian. Kaedah ini meningkatkan keprihatinan terhadap pembekalan makanan yang selamat kepada pengguna. Kemajuan yang berterusan dalam bidang imunologi, biologi molekul, automasi dan teknologi komputer dapat menghasilkan peralatan yang lebih sensitif dan kaedah yang sesuai untuk kajian mikrobiologi makanan. Selain itu, kaedah yang moden adalah asas kepada biologi molekul seperti PCR, RFLP dan mikroaturan DNA yang dapat memberikan gambaran bahawa ia merupakan contoh kaedah yang cepat dan sesuai dalam pengesanan bakteria patogen makanan.

Vunrczant dan Pllustoesser (1987) melaporkan industri makanan memerlukan kaedah yang cepat dan sensitif dalam pengesanan bakteria patogen makanan. Ini adalah kerana, informasi terhadap kehadiran patogen dalam bahan mentah dan makanan sedia dimakan harus diketahui serta merta bagi memastikan pengeluaran hasil produk yang selamat di pasaran. Menurut Leming (2002), kaedah konvensional dalam biologi molekul adalah berdasarkan 'satu gen dalam satu asas eksperimen' yang membawa maksud bahawa ia sangat terhad dan keseluruhan

gambaran terhadap fungsi gen sangat susah diperolehi. Teknologi baru yang dikenali sebagai DNA *microarray* dapat membantu mengesan keseluruhan genom dalam satu cip. Ini adalah untuk memastikan para penyelidik memperoleh gambaran yang lebih baik dan tepat terhadap interaksi antara ribuan gen secara serentak. DNA cip atau gen cip boleh memberikan para penyelidik informasi dalam ribuan gen secara serentak. Oleh itu, kajian ini dijalankan untuk mengesahkan pengesanan bakteria patogen makanan menggunakan teknologi mikroaturan DNA berbanding dengan 2.0% gel elektroforesis.

BAHAN DAN KAEDAH

TEMPLAT DNA

Terdapat sembilan templat DNA bakteria patogen makanan yang telah digunakan dalam kajian ini iaitu *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli* O157: H7 dan *Campylobacter* spp. Kesemua templat DNA bakteria tersebut telah dibekalkan oleh Olipro Biotechnology Sdn. Bhd. DNA bakteria patogen yang digunakan telah dicampurkan untuk menghasilkan 36 kombinasi templat DNA seperti yang ditunjukkan dalam Jadual 1. Jadual 2 pula menunjukkan pembahagian kombinasi templat DNA bakteria patogen makanan untuk lima saringan.

ANALISIS CIP GEN OLIPRO™FOODPATH

Cip gen Olipro™FoodPATH dibekalkan oleh Olipro Biotechnology Sdn. Bhd. Analisis yang digunakan adalah berasaskan penyaringan DNA untuk mengesan bakteria patogen makanan seperti *S. aureus*, *B. cereus*, *V. cholerae*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *L. monocytogenes*, *V. parahaemolyticus*, *E. coli* O157: H7 dan *Campylobacter* spp. Rajah 1 menunjukkan contoh morfologi yang terdapat pada cip gen tersebut. Pada membran cip gen Olipro™ FoodPATH ini, terdapat beberapa titik yang telah dikenal

JADUAL 1. Kombinasi 36 templat DNA bakteria patogen makanan

	SA	BC	VC	SL	SH	LM	VP	EC	CB
SA		SABC	SAVC	SASL	SASH	SALM	SAVP	SAEC	SACB
BC			BCVC	BCSL	BCSH	BCLM	BCVP	BCEC	BCCB
VC				VCSL	VCSH	VCLM	VCVP	VCEC	VCCB
SL					SLSH	SLLM	SLVP	SLEC	SLCB
SH						SHLM	SHVP	SHEC	SHCB
LM							LMVP	LMEC	LMCB
VP								VPEC	VPCB
EC									ECCB
CB									

SA: *Staphylococcus aureus*; BC: *Bacillus cereus*; VC: *Vibrio cholerae*; SL: *Salmonella* spp.; SH: *Shigella* spp.;

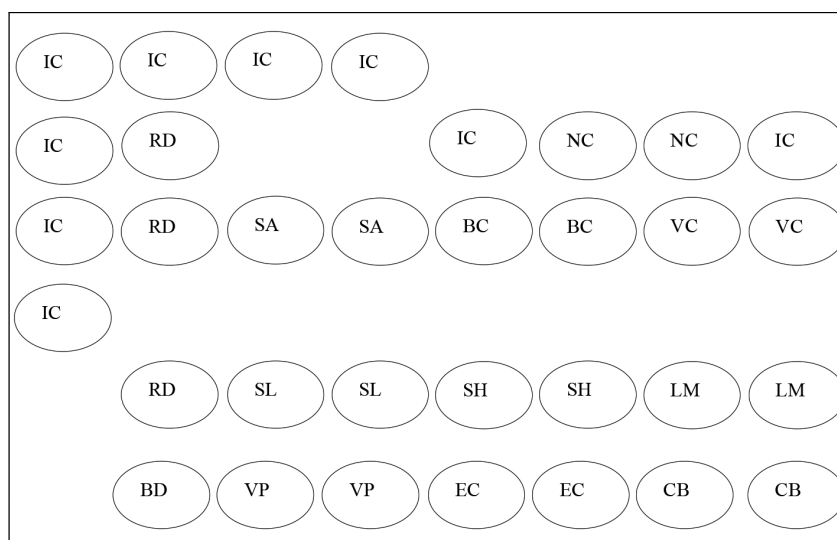
LM: *Listeria monocytogenes*; VP: *Vibrio parahaemolyticus*; EC: *Escherichia coli* O157:H7; CB: *Campylobacter* spp.

■ : Kombinasi templat DNA bakteria patogen makanan yang digunakan

JADUAL 2. Pembahagian templat DNA bakteria patogen makanan untuk lima saringan

Saringan	Kombinasi templat DNA bakteria patogen makanan										
1	NC	SAVC	SASL	SASH	SALM	SAVP	SAEC	SACB	BCVC	-	-
2	NC	BCSL	BCSH	BCLM	BCVP	VCSL	VCSH	VCLM	-	-	-
3	NC	VCVP	VCEC	VCCB	SLSH	SLLM	SLVP	SLEC	SLCB	SHLM	-
4	NC	SHEC	SHCB	LMVP	LMEC	LMCB	VPEC	VPCB	-	-	-
5	NC	SABC	BCEC	BCCB	SHVP	ECCB	-	-	-	-	-

NC: *Negative control* (kawalan negatif); SA: *Staphylococcus aureus*; BC: *Bacillus cereus*; VC: *Vibrio cholera*; SL: *Salmonella* spp.; SH: *Shigella* spp.; LM: *Listeria monocytogenes*; VP: *Vibrio parahaemolyticus*; EC: *Escherichia coli* 0157:H7; CB: *Campylobacter* spp.



IC: kawalan dalaman; NC: kawalan negatif; RD: pewarna merah; BD: pewarna biru; SA: *Staphylococcus aureus*; BC: *Bacillus cereus*; VC: *Vibrio cholera*; SL: *Salmonella* spp.; SH: *Shigella* spp.; LM: *Listeria monocytogenes*; VP: *Vibrio parahaemolyticus*; EC: *Escherichia coli* 0157:H7; CB: *Campylobacter* spp.

RAJAH 1. Cip gen Olipro™ FoodPATH Gene Chip

pasti. Antaranya ialah titik kawalan dalam (IC), titik kawalan negatif (NC), titik pengenalan untuk bakteria patogen makanan (pewarna merah dan pewarna biru) dan titik ujian untuk setiap bakteria patogen makanan. Cip gen ini dilaporkan berkemampuan memberikan keputusan yang tepat dan kepekaan yang tinggi untuk mengesan bakteria patogen makanan dalam produk makanan yang berasaskan teknologi biologi molekul (Anon. 2010).

AMPLIFIKASI PCR

Amplifikasi PCR dilakukan dengan menggunakan reagen yang telah disediakan oleh pihak Olipro Biotechnology Sdn. Bhd. Jumlah reagen yang telah digunakan adalah 50 µL dan terdiri daripada PCR *Master Mix*, *Taq DNA Polymerase*, air bebas nukleas (NFW) serta kombinasi templat DNA bakteria patogen makanan. Komposisi yang dicampurkan dalam tiub PCR adalah seperti dalam Jadual 3. Setiap kombinasi disediakan dengan menambahkan 1 µL templat DNA untuk setiap bakteria patogen makanan. Untuk kawalan negatif pula, 9 µL daripada NFW telah dicampurkan dengan reagen lain tanpa sebarang templat DNA bakteria patogen makanan. Langkah PCR ini

menggunakan *Thermal-cycler Gradient* (LongGene, Model MG96G) dengan ketetapan suhu dan masa bagi setiap peringkat seperti denaturasi awal pada 94°C selama 5 min (satu pusingan) yang bertujuan untuk melengkapkan denaturasi templat DNA, diikuti dengan 40 pusingan untuk denaturasi pada 94°C selama 30 s, penyambungan DNA pada 54°C selama 30 s dan polimerasi pada 72°C selama 30 s serta pemanjangan akhir pada 72°C selama 5 min untuk satu pusingan. Kawalan negatif juga termasuk dalam setiap amplifikasi PCR yang bertujuan untuk mengesahkan kecekapan PCR dan tidak ada kontaminasi.

ANALISIS HIBRIDASI

Produk PCR (amplikon) didenaturasikan pada 95°C selama 10 min dan serta-merta diletakkan dalam *PCR-Cooler* (Eppendorf). Analisis hibridasi dilakukan dengan menggunakan cip gen Olipro™ FoodPATH pada suhu spesifik seperti yang diterangkan dalam protokol penggunaan cip tersebut. Amplikon dicampurkan dengan reagen A atas membran cip dan diinkubasi pada 70°C selama 1 jam dengan getaran maksimum. Membran cip tersebut kemudiannya dicuci untuk penghasilan titik yang

JADUAL 3. Komposisi dalam setiap tiub PCR

Reagen	Jumlah Larutan (μL)
1 X PCR Master Mix	40.5
Taq DNA Polymerase	0.5
Templat DNA (~25ng)	Bergantung kepada kepekatan DNA
Nuclease free water	Bergantung kepada kepekatan DNA
Jumlah	50.0

berwarna padanya. Akhir sekali, membran cip dibilas dengan reagen G dan dikeringkan dalam relau pada 37°C selama 5 min. Selepas langkah pengeringan, cip tersebut sudah sedia untuk penyaringan dengan menggunakan *OliproScan* (Olipro, MY) dan hasil direkodkan.

GEL ELEKTROFORESIS

Produk amplikon dianalisis dengan kaedah gel elektroforesis untuk dibandingkan dengan hasil hibridasi pada cip gen. Gel elektroforesis yang digunakan adalah 2.0% (w/v) dalam $1 \times \text{TAE buffer}$ (2M Tris-OH, 2M asid asetik dan 0.05M EDTA; pH8.0) pada 180 V selama 35 min dan diwarnakan dengan *Cyber safe*. Sebanyak 100 bp DNA ladder (Vivantis, MY) digunakan sebagai rujukan saiz untuk templat DNA. Gel kemudiannya digambarkan dengan *UV transilluminator* (AlphaImager™ *Gel Documentation*).

PENAFSIRAN DATA ATAS CIP GEN

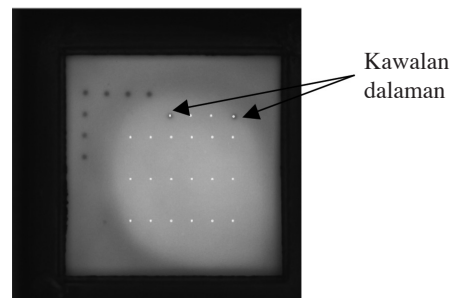
Selepas penyaringan cip gen, setiap keputusan dicatat sebagai positif atau negatif. Positif menunjukkan kombinasi templat DNA bakteria patogen makanan telah dikesan dan negatif pula sebaliknya. Kawalan negatif seharusnya menunjukkan keputusan negatif, dengan tidak ada templat DNA bakteria patogen makanan dikesan. Ini mengesahkan tidak ada kontaminasi berlaku ketika analisis dilakukan dan keseluruhan keputusan kumpulan tersebut adalah sah.

HASIL DAN PERBINCANGAN

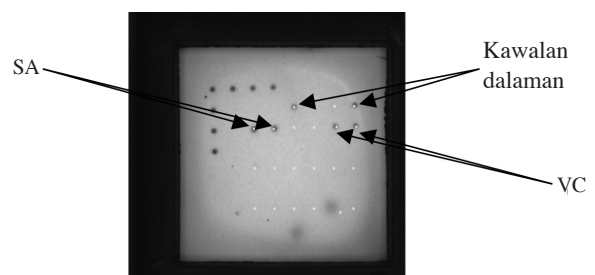
Teknologi *cip gen* diaplikasikan untuk perhasilan *cdna microarrays* daripada gen dalam jumlah yang besar. Ia digunakan untuk mengenal pasti dan menilai setiap ekspresi gen ke atas cip tersebut. Cip gen *Olipro™FoodPATH* ini dikatakan berkemampuan untuk mengesan sembilan jenis bakteria patogen makanan. Antaranya adalah, *B. cereus*, *E. coli* 0157:H7, *S. aureus*, *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. dan *Campylobacter* spp. Bagi membuktikan pernyataan di atas, kajian dilakukan dengan menggunakan cip gen tersebut untuk pengesanan templat DNA yang berbeza.

Untuk kaedah cip gen tersebut, penyediaan sampel telah dilakukan dengan melalui beberapa langkah seperti PCR, hibridasi dan penyaringan. Penyaringan cip gen

dilakukan dengan menggunakan *OliproScan* (Olipro, MY). Untuk setiap penyaringan, satu kawalan negatif digunakan untuk memastikan tidak ada kontaminasi berlaku ketika PCR dan hibridasi. Contoh keputusan penyaringan cip gen untuk kawalan negatif yang dihasilkan menggunakan sistem *OliproScan* ditunjukkan pada Rajah 2. Keputusan ini menggambarkan bahawa tidak ada sebarang kontaminasi berlaku ketika analisis dilakukan dengan tiada titik pada sebarang kedudukan bagi sembilan DNA bakteria patogen makanan. Cip gen itu juga berperanan untuk menunjukkan keputusan analisis adalah sah dan tepat. Untuk cip gen kawalan negatif, hanya titik pada kawalan dalaman akan kelihatan. Jika keputusan ini tidak diperoleh, maka semua keputusan analisis seterusnya bagi saringan tersebut adalah tidak sah, walaupun terdapat cip gen menunjukkan titik pada kedudukan kombinasi DNA bakteria patogen yang betul. Proses ini bertujuan bagi memastikan semua keputusan yang diperoleh tidak akan dipersoalkan kesahihannya. Selain itu, dalam Rajah 3 pula menunjukkan contoh keputusan apabila kombinasi templat DNA SAVC (*S. aureus* dan *V. cholera*) digunakan sebagai sampel. Keputusan menunjukkan bahawa cip gen tersebut memberikan keputusan yang tepat, dengan terdapat titik pada kedua-dua DNA bakteria patogen makanan tersebut. Setiap DNA bakteria tersebut seharusnya mempunyai dua titik dan ini membuktikan kehadirannya dalam sampel. Kedudukan bagi setiap DNA bakteria juga telah ditetapkan dan seharusnya kelihatan pada membran cip gen ketika saringan dilakukan. Jika terdapat titik kelihatan pada kedudukan yang salah, ini membuktikan bukan DNA bakteria yang sepatutnya dikesan, malah menunjukkan bahawa berlakunya kontaminasi semasa hibridasi atau PCR.



RAJAH 2. Keputusan penyaringan cip gen untuk kawalan negatif



RAJAH 3. Keputusan penyaringan cip gen bagi kombinasi templat DNA SAVC (*Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholera*)

Selepas penyaringan, keputusan dikumpul dan direkodkan. Keseluruhan keputusan penyaringan cip gen ditunjukkan pada Jadual 4. Kesemua kombinasi templat DNA bakteria patogen makanan dapat dikesan dengan tepat. Selain itu, setiap cip gen kawalan negatif juga memberikan keputusan negatif, iaitu tidak ada sebarang templat DNA dikesan. Ini membuktikan bahawa semua hasil daripada hibridasi dan saringan cip gen memberikan keputusan yang tepat seperti yang sepatutnya diperolehi. Menurut Bang et al. (2013), Cao et al. (2011), He et al. (2010) dan Wang et al. (2007), aplikasi teknologi *microarray* dalam pengesanan bakteria patogen makanan adalah paling sesuai kerana ia memberikan hasil yang cepat dan tepat. Jin et al. (2009) dan Lin et al. (2010) juga membuktikan kaedah yang berasaskan pengesanan lebih daripada satu jenis bakteria patogen makanan secara serentak dalam satu ujian dapat menjimatkan masa dan meningkatkan keyakinan terhadap hasil kajian. Kaedah cip gen ini dapat dilakukan dalam jangka masa enam atau lapan jam. Leonard et al. (2003) menyatakan bahawa jika menggunakan kaedah konvensional ia akan mengambil masa untuk langkah pengkayaan, diikuti ujian pengenalpastian dan memakan masa lebih daripada seminggu untuk sesuatu kes.

Selain hibridasi cip gen, gel elektroforesis juga digunakan. Ini bertujuan untuk membandingkan hasil gel elektroforesis dengan hibridasi cip gen. Rajah 4 menunjukkan hasil gel elektroforesis untuk saringan

yang pertama. Gel elektroforesis ini dilakukan dengan menggunakan produk PCR (amplikon). Jika dibandingkan dengan keputusan daripada penyaringan cip gen dan gel elektroforesis, didapati bahawa cip gen Olipro™ FoodPATH mampu memberikan keputusan yang tepat dan jelas.

KESIMPULAN

Pengesahan kemampuan cip gen Olipro™ FoodPATH telah berjaya dilakukan dengan 36 kombinasi templat DNA bakteria patogen makanan yang berbeza. Cip gen dapat memberikan keputusan yang lebih tepat dan jelas jika dibandingkan dengan kaedah gel elektroforesis. Oleh yang demikian, dapat disahkan bahawa cip gen ini sangat sensitif dan mampu mengesan templat DNA pada kepekatan 10 ng/μL. Secara keseluruhannya, cip gen Olipro™ FoodPATH adalah seratus peratus spesifik dan sensitif dalam pengesanan bakteria patogen makanan.

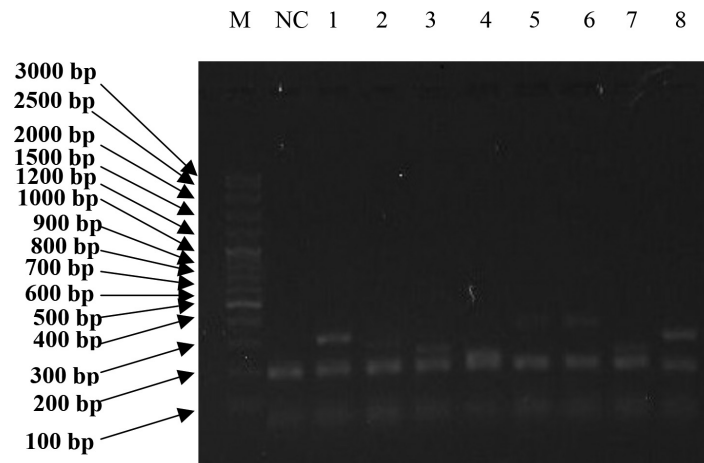
PENGHARGAAN

Pembiayaan bahan pakai habis dan peminjaman peralatan dari Olipro Biotechnology Sdn. Bhd. serta geran dari UKM-GUP-KRIB-14/2008, dana PHI-2011-02 dan dana DPP-2013-047 bagi menjayakan kajian penyelidikan ini amat dihargai.

JADUAL 4. Keseluruhan keputusan penyaringan cip gen

Saringan	Kombinasi Bakteria	Keputusan	Saringan	Kombinasi Bakteria	Keputusan	
1	NC	Negatif	2	NC	Negatif	
	SAVC	Positif		BCSL	Positif	
	SASL	Positif		BCSH	Positif	
	SASH	Positif		BCLM	Positif	
	SALM	Positif		BCVP	Positif	
	SAVP	Positif		VCSL	Positif	
	SAEC	Positif		VCSH	Positif	
	SACB	Positif		VCLM	Positif	
BCVC	Positif					
3	NC	Negatif	4	NC	Negatif	
	VCVP	Positif		SHEC	Positif	
	VCEC	Positif		SHCB	Positif	
	VCCB	Positif		LMVP	Positif	
	SLSH	Positif		LMEC	Positif	
	SLLM	Positif		LMCB	Positif	
	SLVP	Positif		VPEC	Positif	
	SLEC	Positif		VPCB	Positif	
	SLCB	Positif				
	SHLM	Positif				
5	NC	Negatif				
	SABC	Positif				
	BCEC	Positif				
	BCCB	Positif				
	SHVP	Positif				
	ECCB	Positif				

NC: kawalan negatif; SA: *Staphylococcus aureus*; BC: *Bacillus cereus*; VC: *Vibrio cholera*; SL: *Salmonella* spp.; SH: *Shigella* spp.; LM: *Listeria monocytogenes*; VP: *Vibrio parahaemolyticus*; EC: *Escherichia coli* 0157:H7; CB: *Campylobacter* spp.



M: Marker (100bp); NC: kawalan negatif; 1: SAVC; 2: SASL; 3: SASH; 4: SALM; 5: SAVP; 6: SAEC; 7: SACB; 8: BCVC
 SA: *Staphylococcus aureus*; BC: *Bacillus cereus*; VC: *Vibrio cholera*; SL: *Salmonella* spp.; SH: *Shigella* spp.; LM: *Listeria monocytogenes*; VP: *Vibrio parahaemolyticus*; EC: *Escherichia coli* 0157:H7; CB: *Campylobacter* spp.

RAJAH 4. Gel elektroforesis untuk saringan 1

RUJUKAN

- Anon. 2010. Olipro Biotechnology. *Your Diagnostic and Screening Technologies Provider*. (atas talian) www.oliprobiotech.com (1 Januari 2011).
- Bang, J., Beuchat, L.R., Song, H., Gu, M.B., Chang, H.I., Kim, H.S. & Ryu, J.H. 2013. Development of a random genomic DNA microarray for the detection and identification of *Listeria monocytogenes* in milk. *International Journal of Food Microbiology* 161(2): 134-141.
- Brook, M.G. & Bannister, B.A. 1991. Verocytotoxin producing *Escherichia coli*. *British Medical Journal* 303: 800-801.
- Bernama. 2007. Utusan Malaysia: Kes keracunan makanan di sekolah naik lebih 100 peratus. (atas talian) http://www.utusan.com.my/utusan/info.asp?y=2007&dt=1028&pub=Utusan_Malaysia&sec=Terkini&pg=bt_01.htm. (28 Oktober 2007).
- Cao, B.Y., Li, R.R., Xiong, S.J., Yao, F.F., Liu, X.Q., Wang, M., Feng, L. & Wang, L. 2011. Use of a DNA microarray for detection and identification of bacterial pathogens associated with fishery products. *Applied and Environmental Microbiology* 77(23): 8219-8225.
- Entis, P. 2008. Malaysia's National Dish-Food Poisoning. (atas talian) <http://efoodalert.blogspot.com/2008/04/malaysias-national-dish-food-poisoning.html>. (24 April 2008).
- He, Y., Liu, H.L., Xian, M.J. & Li, Y.F. 2010. Detection and identification of *Staphylococcus aureus* in raw milk by hybridization to oligonucleotide microarray. *African Journal of Biotechnology* 9(15): 2284-2289.
- Jin, S.Q., Yin, B.C. & Ye, B.C. 2009. Multiplexed bead-based mesofluidic system for detection of food-borne pathogenic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 75(21): 6647-6654.
- Leming, S. 2002. *DNA Microarray (Genome Chip)*. DNA Microarrays - A technology that is reshaping molecular biology. (atas talian) <http://www.gene-chips.com/>. (7 Januari 2002).
- Leonard, P., Hearty, S., Brennan, J., Dunne, L., Quinn, J., Chakraborty, T. & Kennedy, R.O. 2003. Advances in biosensors for detection of pathogens in food and water. *Enzyme and Microbial Technology* 32(1): 3-13.
- Lin, W.S., Cheng, C.M. & Van, K.T. 2010. A quantitative PCR assay for rapid detection of shigella species in fresh produce. *Journal of Food Protection* 73(2): 221-233.
- Mohd, Z.M.N. 2010. Utusan Malaysia: Keracunan makanan meningkat. (atas talian) http://www.utusan.com.my/utusan/info.asp?y=2010&dt=1015&pub=Utusan_Malaysia&sec=Timur&pg=wt_02.htm. (15 Oktober 2010).
- Mandal, P.K., Biswas, A.K., Choi, K. & Pal, U.K. 2011. Methods for rapid detection of foodborne pathogens: An overview. *American Journal of Food Technology* 6: 87-102.
- Ratna Dewi Abdul Rahman, Norrakiah Abdullah Sani & Abdul Aziz Jemain. 2012. Penilaian kaedah pengiraan *Escherichia coli* dalam masakan ayam. *Sains Malaysiana* 41(3): 325-331.
- Vunrczant, C. & Pllustoesser, D.F. 1987. *Compendium of Methods for Microbiological Examination of Food*. Edisi ketiga. New York: American Public Health Association.
- Wyatt, G.M., Lee, H.A. & Morgan, M.R.A. 1992. *Immunoassays for Food Poisoning Bacteria and Bacterial Toxins*. Edisi pertama. London: Chapman & Hall. Muka surat 1-14.
- Wang, X.W., Zhang, L., Jin, L.Q., Jin, M., Shen, Z.Q., An, S., Chao, F.H. & Li, J.W. 2007. Development and application of an oligonucleotide microarray for the detection of food-borne bacterial pathogens. (atas talian) <http://www.springerlink.com/content/j31834h1546427n5/>. (25 Februari 2007).

Pusat Pengajian Sains Kimia dan Teknologi Makanan
 Fakulti Sains dan Teknologi
 Universiti Kebangsaan Malaysia
 43600 Bangi, Selangor D.E.
 Malaysia

*Pengarang untuk surat-menyurat; email: norra@ukm.my

Diserahkan: 30 November 2011

Diterima: 22 Julai 2013