

Kerintangan Antibiotik dan Pencapjarian DNA *Salmonella* Typhimurium Diasingkan daripada Pusat Sembelihan Ayam

(Antibiotic Resistance and DNA Fingerprinting *Salmonella* Typhimurium Isolated from Chicken Slaughter House)

AISHAH ELIAS¹, SAHILAH ABD. MUTALIB^{2,*}, SAFIYYAH SHAHIMI³, NURUL AQILAH MOHD ZAINI¹ & AHMAD AZUHAIRI ARIFFIN⁴

¹Jabatan Sains Makanan, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

²Institut Islam Hadhari, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

³Universiti Teknologi MARA, Cawangan Negeri Sembilan, Kampus Kuala Pilah, 72000 Kuala Pilah, Negeri Sembilan, Malaysia

⁴Jabatan Kesihatan Komuniti, Fakulti Perubatan dan Sains Kesihatan, Universiti Putra Malaysia, 43400 UPM Serdang, Selangor, Malaysia

Diserahkan: 17 Januari 2025/Diterima: 22 Julai 2025

ABSTRAK

Sebanyak 18 strain *Salmonella* Typhimurium telah diuji kerintangan antibiotik dan cap jari amplifikasi polimorfik DNA secara rawak (RAPD-PCR) dan cap jari elektroforesis gel medan denyut (PFGE). Semua strain *S. Typhimurium* telah dipencilkan daripada pusat penyembelihan ayam di Kajang, Malaysia pada bulan Februari, Mac dan Oktober 2020 disahkan dengan kaedah penjujukan. Semua pencilan rintang terhadap tiga atau lebih antibiotik yang diuji dengan tahap kerintangan paling tinggi mengikut turutan ditunjukkan terhadap eritromisin (94%), sefalotin (94%), tikarsilin (78%), seftriakson (72%), piperasilin (44%), kanamisin (17%) dan asid nalidiksik (11%). Strain *S. Typhimurium* didapati paling kurang kerintangan adalah terhadap siprofloksasin (6%). Genom DNA *S. Typhimurium* telah diuji dengan cap jari amplifikasi polimorfik asid deoksiribonukleik secara rawak tindak balas polimerase (RAPD-PCR) dan cap jari elektroforesis gel medan denyut (PFGE). RAPD-PCR menggunakan dua primer, NSCI dan NSCII, menunjukkan tiga kluster dan 10 pencilan tunggal dan lima kluster dan lapan pencilan tunggal pada tahap persamaan yang sama. Manakala analisis cap jari PFGE menggunakan *XbaI* dan *AvrII* menunjukkan lima kluster dan lapan pencilan tunggal dan empat kluster dan lapan pencilan tunggal pada tahap kesamaan 80% menggunakan Gel Compar II. Polimorfisme cap jari RAPD dan PFGE menunjukkan 18 jenis genom *S. Typhimurium*. Oleh itu, ia menunjukkan kerintangan antibiotik dan kepelbagaian genetik yang tinggi bagi pencilan *S. Typhimurium* dari pusat sembelihan yang dikaji.

Kata kunci: Pencapjarian; pusat sembelihan ayam; PFGE; RAPD-PCR; *Salmonella* Typhimurium

ABSTRACT

Eighteen strains (n=18) of *Salmonella* Typhimurium were examine for antibiotic resistance, RAPD-PCR fingerprinting and PFGE fingerprinting. All *S. Typhimurium* strains were isolated from a chicken slaughterhouse in Kajang, Malaysia on February, March and October 2020 and confirmed by sequencing method. All isolates were resistant to three or more of the antibiotics tested, with the highest resistances were demonstrated towards erythromycin (94%), cephalothin (94%), ticarcillin (78%), ceftriaxone (72%), piperacillin (44%), kanamycin (17%) and nalidixic acid (11%), respectively. The antibiotic that experienced the least resistance was ciprofloxacin (6%). *S. Typhimurium* DNA genomes were examined for Random Amplified Polymorphic Deoxyribonucleic Acid-Polymerase Chain Reaction (RAPD-PCR) and Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE) fingerprinting. RAPD-PCR using two primers, NSCI and NSCII, showed three clusters and 10 single isolates, and five clusters and eight single isolates at a similar similarity level, respectively. While PFGE fingerprinting analysis using *XbaI* and *AvrII* showed five clusters and eight single isolates, and four clusters and eight single isolates at 80% similarity level using Gel Compar II, respectively. Polymorphism of RAPD and PFGE fingerprinting showed 18 genome types of *S. Typhimurium*. Thus, it indicated high antibiotic resistance and genetic diversity of *S. Typhimurium* isolated from the studied chicken slaughterhouse.

Keywords: Chicken slaughter house; fingerprinting; PFGE; RAPD-PCR; *Salmonella* Typhimurium

PENGENALAN

Penyakit bawaan makanan yang disebabkan oleh bakteria patogen adalah kebimbangan kesihatan awam utama di seluruh dunia (Abebe et al. 2020). *Salmonella* menyebabkan kira-kira tiga bilion jangkitan manusia di seluruh dunia setiap tahun. Salmonellosis ialah isu kesihatan awam utama yang menyebabkan kerugian ekonomi di negara maju dan negara membangun kerana kos kawalan dan rawatan penyakit yang tinggi (Abdelmalek et al. 2019). *Salmonella* biasanya dibahagikan kepada tifoid dan bukan tifoid. *Salmonella* tifoid dicirikan oleh penyakit invasif dan sistemik dalam individu imunokompeten dan dirujuk sebagai *S. Typhi* (Wang et al. 2023). Walaupun *Salmonella* bukan tifoid dicirikan oleh gastroenteritis dalam individu yang lemah imun, ia dirujuk kepada selain *Salmonella* Typhi. *S. Typhimurium*, *S. Paratyphi*, *S. Weltevreden*, *S. Agona* dan *S. Enteritidis* adalah antara contoh serovar *Salmonella* bukan tifoid yang menunjukkan sifat patogen kepada manusia (Oludairo et al. 2022). Keracunan makanan boleh disebabkan oleh pengambilan makanan yang dicemari *Salmonella* (Schultz et al. 2021; Vuthy et al. 2017). Wabak jangkitan *Salmonella* jarang dilaporkan di Malaysia. Walau bagaimanapun, pada bulan Jun 2024 keracunan *Salmonella* akibat hidangan telur mata tercemar yang terdapat dalam bihin goreng telah menyebabkan kematian seorang remaja 17 tahun dan kanak-kanak perempuan berusia dua tahun (Mokhtar 2024). Sebelum itu, pada 8 Oktober 2018 terdapat insiden keracunan makanan yang disebabkan oleh makan laksa tercemar *Salmonella* melibatkan sejumlah 83 kes, termasuk dua kematian. *Salmonella* Weltevreden dikenal pasti sebagai punca kes (Nawawi 2018).

Kerintangan antibiotik pada *S. Typhimurium* adalah satu isu yang semakin membimbangkan dalam bidang perubatan dan kesihatan awam. Ia berlaku apabila bakteria ini meningkatkan keupayaan untuk bertahan daripada tindakan antibiotik yang biasanya digunakan untuk merawat jangkitan (Fymat 2017). Kerintangan antibiotik boleh disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang berlebihan kerana penggunaan yang meluas dalam perubatan dan penternakan haiwan (Shao et al. 2021), mutasi genetik dan pemindahan gen rintang dalam bakteria melalui plasmid atau transposon (Wang et al. 2022).

Pengenalpastian dan penjenisan (*typing*) *Salmonella* adalah penting untuk menghubungkan penyakit antara dua tempat epidemiologi yang berbeza yang mana strain akut muncul dan strain baru muncul. Ia juga penting untuk memantau tapak jalan penyebaran dan cara penyakit merebak daripada makanan, sumber alam sekitar, manusia atau haiwan yang dijangkiti. Kajian epidemiologi jangkitan bakteria meningkatkan pemahaman tentang wabak dan strategi pencegahan yang munasabah untuk mencegah atau menghadkan penyebaran (Rothman, Huybrechts & Murray 2024). Pelbagai kaedah penjenisan molekul telah digunakan secara meluas dalam kajian mikrobiologi bagi tujuan pencirian dan perbandingan antara strain. Antaranya

termasuklah elektroforesis gel medan denyut (PFGE) (Zakaria et al. 2020) dan kaedah berasaskan tindak balas berantai polimerase (PCR) seperti ERIC-PCR (konsensus intergenik berulang enterobakteria-PCR) (Anjay et al. 2015), RAPD-PCR (amplifikasi polimorfik DNA secara rawak-PCR) (Hasan et al. 2023) dan CRISPR-PCR (ulangan palindromik pendek berkelompok antara ruang lazim -PCR) (Shariat & Dudley 2014).

Penggunaan tindak balas berantai polimerase (PCR) dalam pembinaan peta genetik, pembuatan penanda genetik yang dikaitkan dengan ciri fenotip tertentu, pengesanan induk, pengenalpastian klon dan kajian tentang perubahan populasi mengikut masa (Hoshino et al. 2012). RAPD-PCR mempunyai kelebihan kerana ia tidak memerlukan primer khusus, tidak memerlukan maklumat terdahulu tentang jujukan DNA dan tiada pelaburan besar dalam pembangunan primer atau prob (Amiteye 2021). PFGE pada asasnya ialah perbandingan serpihan DNA genom yang besar selepas penghadaman keseluruhan DNA kromosom bakteria dengan enzim penekatan. Oleh sebab kromosom bakteria lazimnya adalah molekul bulat, pencernaan ini menghasilkan beberapa molekul linear DNA. Cap jari PFGE boleh digunakan untuk membandingkan dua strain klon yang sama apabila enzim penekatan bertindak pada tapak khusus DNA kromosom yang sama dengan elektroforesis gel. Sebaliknya, jika dua strain tidak sama, enzim penekatan akan bertindak pada tapak khusus DNA kromosom yang berbeza, dengan itu cap jari jalur akan menunjukkan corak yang berbeza (Wei & Zhao 2021). Oleh itu, 18 strain *S. Typhimurium* yang dipencilkan daripada pusat penyembelihan ayam di Kajang, Selangor, Malaysia diuji tahap kerintangan antibiotik dan dilakukan penjenisan melalui cap jari RAPD-PCR dan cap jari PFGE dalam kajian ini.

BAHAN DAN KAEDAH

KELULUSAN ETIKA

Kajian ini telah diluluskan oleh Jawatankuasa Etika Haiwan UKM (UKMAEC), Universiti Kebangsaan Malaysia, dengan kelulusan FST/2019/SAHILAH/25-SEPT./1037.-SEPT.-2020-NAR-CAT2 sebelum kajian ini dijalankan. Dalam kajian ini, kami tidak menggunakan sebarang haiwan hidup.

Salmonella TYPHIMURIUM

Sebanyak 18 strain *S. Typhimurium* yang dipencilkan dari pusat penyembelihan ayam telah disimpan di Makmal Mikrobiologi Makanan, Universiti Kebangsaan Malaysia, Selangor. Sumber sampel adalah kesatan di kawasan penyembelihan dan ayam yang telah disembelih. Semua strain yang digunakan dalam kajian ini telah dipencilkan pada bulan Februari, Mac dan Oktober 2020 dan telah dikenal pasti dengan kaedah penjujukan Sanger oleh Apical Scientific Sdn Bhd.

UJIAN KERINTANGAN ANTIBIOTIK

Kerintangan antibiotik strain *S. Typhimurium* diuji menggunakan kaedah resapan cakera mengikut Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2020). Sejumlah lapan antibiotik digunakan dalam ujian kerintangan antibiotik. Bagi menguji kerintangan antibiotik, satu koloni daripada agar condong ditumbuhkan dalam 10 mL kaldu luria bertani (LB) secara aerobik pada 37 °C selama 18 jam. Kultur dikesat dengan putik kapas steril di atas piring agar Mueller Hinton (Merck, GY) dan dibiarkan kering selama dua hingga empat minit. Cakera antibiotik (Oxoid, UK) kemudian diletakkan di atas kultur dengan menggunakan forsep steril dan dieram pada suhu 37 °C selama 24 jam. *Escherichia coli* (ATCC 25922) digunakan sebagai kawalan. Diameter zon tanpa pertumbuhan pencilan bagi setiap cakera antibiotik diukur dan ditafsirkan sebagai kategori sensitif atau rintang mengikut garis panduan yang disyorkan oleh CLSI (2020). Cakera antibiotik yang diuji adalah seftriakson (30 µg), sefalotin (30 µg), siprofloksasin (5 µg), Eritromisin (15 µg), Kanamisin (30 µg), Asid Nalidiksik (30 µg), Piperasilin (100 µg) dan Tikarsilin (75 µg). Indeks kerintangan multi antibiotik (MAR) dikira berdasarkan Lee dan Wendy (2011). Formula pengiraan adalah seperti berikut:

$$\text{Indeks MAR} = X/Y \times Z$$

dengan X ialah jumlah bilangan kes antibiotik; Y ialah jumlah bilangan antibiotik digunakan dalam kajian; dan Z ialah jumlah bilangan pencilan atau pencilan bakteria.

PENGKSTRAKAN DNA

DNA strain *S. Typhimurium* diekstrak menggunakan kaedah pendidihan (De Medici et al. 2003). Kemudian, sejumlah 1 mL larutan daripada setiap tiub yang mengandungi kultur yang telah dieram selama 24 jam pada 37 °C dimasukkan ke dalam tiub mikroemparan (Eppendorf, GY) dan diempar (Eppendorf, GY) pada 13,000 × g selama 5 minit. Supernatan yang terhasil dibuang manakala pelet ditambah dengan 300 µL air suling steril dan divorteks. Campuran kemudiannya diempar pada 13,000 × g selama 5 minit. Supernatan yang terhasil dibuang dengan berhati-hati manakala pelet ditambah dengan 200 µL air suling steril dan divorteks menjadi campuran. Campuran yang terhasil dididihkan dalam rendaman air (Mommert, GY) selama 10 minit. Selepas itu, campuran disejukkan pada -20 °C selama 10 minit dan diempar pada 13,000 × g selama 5 minit. Supernatan akhir dipindahkan ke dalam tiub mikroemparan baru dan digunakan sebagai templat untuk amplifikasi PCR. DNA yang diekstrak disimpan pada -20 °C sehingga digunakan.

AMPLIFIKASI POLIMORFIK DNA SECARA RAWAK – PCR (RAPD – PCR)

RAPD-PCR telah dijalankan seperti yang diterangkan oleh Shekhawat et al. (2019). Dua primer RAPD-PCR

yang digunakan adalah: i) NSCI: 5'-AGG ACC AGG-3' dan ii) NSCII: 5'-AGG GCC CGG G-3' (IDT, SG). Setiap campuran PCR terdiri daripada 5 µL DNA genom strain *S. Typhimurium* sebagai templat DNA (10–20 ng), 0.5 µL larutan primer 10 µM (IDT, SG), 12.5 µL PCR 2× Master Mix (Vazyme, CN) dalam tiub PCR 0.2 µL dengan melaraskan isi padu akhir dengan air bebas nukleus (NFW) kepada 25 µL campuran tindak balas PCR. Program PCR menggunakan pengitar haba untuk primer NSCI termasuk denaturasi awal pada 94 °C selama 5 minit, diikuti dengan 40 kitaran penyahasian pada 94 °C selama 1 minit, penyepuhlindapan pada 25 °C selama 45 s dan pemanjangan pada 72 °C selama 1 min. Pemanjangan akhir dilakukan pada 72 °C selama 7 minit. Untuk primer NSCII, campuran tindak balas PCR dan keadaan kitaran adalah sama kecuali suhu penyepuhlindapan pada 29 °C. Produk PCR dijalankan elektroforesis gel pada 1.5% (w/v) gel agarosa dalam 1× penimbal TAE. Penanda DNA 100 bp (Thermo Scientific, USA) dan penanda DNA 1 kb (Thermo Scientific, USA) digunakan sebagai penanda saiz DNA dan jalur DNA terhasil divisualisasikan dengan sistem dokumentasi gel (Syngene, UK).

ELEKTROFORESIS GEL MEDAN DENYUT (PFGE)

DNA untuk analisis PFGE telah disediakan mengikut kaedah PulseNet (CDC PulseNet 2017). Untuk cap jari genom *S. Typhimurium*, elektroforesis medan elektrik homogenous (CHEF) yang dikepit kontur menggunakan teknik PFGE oleh Sahilah et al. (2000). DNA genom dicerna dalam palam agarosa dengan enzim penyekatan *XbaI* dan *AvrII* (NEB, AS) seperti yang disyorkan oleh pengeluar. Palam agarosa seterusnya dielektroforesis menggunakan CHEF-DRIII (Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA, Amerika Syarikat) dalam gel 1% (w/v) agarosa dalam 0.5×TBE (0.1 M Tris, 0.1 M asid borik, 0.2 mM EDTA) pada tetapan 6 V/cm selama 20 jam pada 14 °C pada masa suis awal: 2.2 s, masa suis akhir: 63.8 s, voltan: 6 V. Lambda PFG Ladder 48.5–1018 kb (NEB, USA) telah digunakan sebagai penanda piawai saiz DNA. Selepas elektroforesis, gel diwarnakan menggunakan GelRed® (Biotium, US) dan dibaca dengan sistem dokumentasi gel (Syngene, UK).

ANALISIS DATA

Perkaitan genetik *S. Enterica* serovar Typhimurium menggunakan analisis RAPD-PCR dan PFGE dianalisis seperti yang diterangkan oleh Sahilah et al. (2000). Imej gel bagi strain *S. Enterica* serovar Typhimurium diuji oleh PFGE dan RAPD-PCR dianalisis menggunakan perisian Gel Compar II versi 1.5 (Applied Maths, Kortrijk, Belgium) dengan pekali padanan jalur Dice. Kedudukan penanda yang dijalankan dalam kedua-dua RAPD-PCR dan PFGE digunakan untuk menormalkan data sampel dengan membetulkan variasi lorong ke lorong dan gel ke gel. Strain dikelompokkan menggunakan pautan purata (UPGMA, Kaedah Kumpulan Pasangan Tidak Berwajaran dengan algoritma Pengelompokan Purata Aritmetik) dan

dipaparkan dalam bentuk dendrogram. Indeks berangka diskriminasi (D) setiap primer RAPD-PCR dan enzim penyekatan juga dikira menggunakan indeks kepelbagaian Simpson (Hunter & Gaston 1988) menggunakan formula berikut:

$$D = 1 - \frac{1}{N(N-1)} \sum_{j=1}^S nj(nj-1)$$

dengan N ialah jumlah bilangan strain dalam populasi sampel; S ialah jumlah bilangan jenis yang diterangkan; dan nj ialah bilangan strain kepunyaan jenis ke-j.

HASIL DAN PERBINCANGAN

Sebanyak 18 strain *S. Typhimurium* yang digunakan dalam kajian ini telah disahkan dengan kaedah penjujukan Sanger dan hasil jujukan telah dilakukan padanan data bank gen menggunakan BLAST, NCBI dan keputusan ditunjukkan dalam Jadual 1. Keputusan padanan menunjukkan semua strain adalah *S. Typhimurium*.

Penggunaan antibiotik yang meluas di ladang ayam sama ada untuk tujuan terapeutik atau untuk menggalakkan pertumbuhan telah memberi kesan terhadap kerintangan bakteria (Wadoun et al. 2016). Berdasarkan Jadual 2, kerintangan yang tinggi ditunjukkan oleh semua strain *S. Typhimurium* terhadap eritromisin dan sefalotin iaitu sebanyak 94%. Kerintangan antibiotik yang tinggi mungkin disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang berlebihan dalam penternakan dan perladangan (Braykov et al. 2016; Eguale 2018). Keputusan kajian ini selari dengan kajian yang dijalankan oleh Najwa et al. (2015) yang menunjukkan kerintangan *S. Typhimurium* yang tinggi terhadap kedua-dua antibiotik eritromisin dan sefalotin iaitu sebanyak 100% dan 80% masing-masing dengan strain tersebut diasingkan daripada ulam. Walau bagaimanapun, kajian oleh Ismail et al. (2024) terhadap strain *Salmonella* spp. menunjukkan kerintangan yang tinggi terhadap antibiotik eritromisin (87.41%) tetapi rendah terhadap sefalotin (5.96%). Kerintangan *Salmonella* spp. terhadap antibiotik boleh disebabkan oleh pam efluks dan pengubahsuaian tapak sasaran yang mengurangkan keberkesanan antibiotik. Pam efluks mengangkut keluar antibiotik daripada sel, menghalangnya daripada mencapai sasaran dan menyebabkan antibiotik tidak dapat bertindak manakala pengubahsuaian tapak sasaran selalu disebabkan oleh mutasi dalam subunit ribosom 50 S (Punchihewage-Don, Ranaweera & Parveen 2024).

Namun kerintangan terhadap Siprofloksasin yang didapati dalam kajian ini adalah rendah dalam strain yang didapati di pusat sembelihan iaitu hanya 6% sahaja. Ini mungkin disebabkan oleh Siprofloksasin ialah dari jenis fluorokuinolo yang menyasarkan DNA gyrase bakteria dan topoisomerase IV yang merupakan enzim penting untuk replikasi dan baikipulih DNA. Sasaran ini kurang terdedah

kepada mutasi yang memberikan kerintangan berbanding dengan antibiotik lain seperti β -laktam atau tetrasiklin, menjadikan *Salmonella* lebih sukar untuk membentuk kerintangan (Hooper & Jacoby 2016).

Kerintangan antibiotik diuji dengan 8 antibiotik telah menghasilkan 10 antibiogram, A1 hingga A10 seperti yang ditunjukkan dalam Jadual 3. Strain *S. Typhimurium* menunjukkan kerintangan sekurang-kurangnya terhadap tiga jenis antibiotik iaitu pencilan ST6, ST7, ST10, ST11, ST12, ST13 dan ST14. Kerintangan antibiotik paling banyak iaitu sebanyak 6 antibiotik ditunjukkan oleh ST2 dengan antibiogram CaxCfEKPiTc dan antibiogram ST17 CfEKNaPiTsTc dengan nilai indeks MAR 0.75. Antibiogram A5, A7, A8 dan A9 mempunyai nilai indeks MAR yang sama iaitu 0.38. Ini menunjukkan kesemua antibiogram ini mempunyai bilangan antibiotik rintang yang sama iaitu 3 jenis antibiotik seperti yang ditunjukkan dalam Jadual 3.

Terdapat lima strain yang menunjukkan corak antibiogram A1 iaitu ST1, ST4, ST15, ST16 dan ST18, tiga strain dengan antibiogram A5 iaitu ST6, ST7, ST13 dan dua strain dengan antibiogram A6 iaitu ST8 dan ST9. Sebanyak dua strain menunjukkan antibiogram A8 iaitu ST12, ST14. Antibiogram yang sama menunjukkan strain tersebut rintang terhadap antibiotik yang sama. Walaupun strain ST1 hingga ST18 menunjukkan kerintangan antibiotik yang tinggi, hanya satu strain *S. Typhimurium* yang rintang terhadap siprofloksasin iaitu ST11 manakala strain yang lain adalah sensitif terhadap siprofloksasin. Siprofloksasin merupakan antibiotik fluorokuinolo. Kerintangan siprofloksasin telah dilaporkan dalam kajian terdahulu yang menunjukkan *S. enterica* rintang terhadap siprofloksasin dan ini menyebabkan rawatan dengan antibiotik ini menjadi tidak berkesan (Piddock et al. 1993; Raveendran et al. 2008). Namun keputusan daripada kajian ini menunjukkan kerintangan yang rendah terhadap siprofloksasin.

Kaedah penjenisan molekul adalah penting dan berguna dalam penyelidikan epidemiologi bagi strain bakteria yang berkait rapat. Subjenis (*subtyping*) serovar *Salmonella* dianggap praktikal dan penting secara klinikal dalam mengesan status epidemiologi dan mengkaji wabak semasa membandingkan pencirian genotip dan fenotip, pencirian genotip boleh memberikan pembezaan strain yang lebih tepat (Menghistu et al. 2011). Kesemua 18 strain *S. Typhimurium* yang digunakan boleh dijenis (*typed*) menggunakan primer RAPD, iaitu NSCI dan NSCII. Corak yang berbeza diperhatikan dalam kalangan primer RAPD yang digunakan. Berdasarkan Jadual 3, lebih banyak corak diperhatikan dalam primer NSCII, yang menunjukkan 16 profil manakala NSCI menunjukkan 12 profil. Indeks diskriminasi (nilai D) ujian cap jari RAPD untuk primer NSCI dan NSCII masing-masing ialah 0.9608 dan 0.9869. Analisis data menggunakan pautan purata kaedah pasangan kumpulan tidak berwajaran dengan purata aritmetik (UPGMA), menggunakan perisian Gel Compar II, yang dipaparkan dalam dendrogram untuk RAPD-PCR NSCI

JADUAL 1. Keputusan padanan penjujukan Sanger strain *S. Typhimurium* daripada pusat sembelihan ayam dengan data Genebank NCBI

Strain	Perihal (description)	Persamaan (%)	Jumlah skor	Query coverage %	No. akses
1	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium strain SJTUF10169	98.85	799	57	CP047548.1
2	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium strain SL7207	97.17	178	100	CP053865.1
3	<i>Salmonella enterica</i> strain P048595	96.52	940	76	CP093386.1
4	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium strain SL7207	99.02	1313	99	CP053865.1
5	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium strain SL7207	100	1133	99	CP053865.1
6	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium strain SL7207	98.83	1280	99	CP053865.1
7	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium isolate SV68791	98.7	1086	99	LR792460.1
8	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium strain SL7207	98.53	1287	92	CP053865.1
9	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium strain SL7207	98.97	1257	88	CP053865.1
10	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium strain SL7207	100	2179	100	CP053865.1
11	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium strain FD01851333	97.63	1115	98	CP093386.1
12	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium strain SL7207	99.67	1355	99	CP053865.1
13	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium strain SL7207	98.35	1136	97	CP053865.1
14	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium strain FD01851333	91.36	543	97	CP069164.1
15	<i>Salmonella enterica</i> strain CDC str.2137 phase 1 flagellin (fliC) gene	87.5	148	71	AY353480.1
16	<i>Salmonella enterica</i> strain P048595	98.68	1128	99	CP093386.1
17	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium isolate SV68791	98.72	965	97	LR792460.1
18	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium isolate SV68791	97.22	1031	99	LR792460.1

JADUAL 2. Peratusan kerintangan antibiotik strain *S. enterica* serovar Typhimurium daripada pusat sembelihan ayam

Antibiotik	% pencilan rintang	% pencilan sensitif
Seftriakson (30 µg)	72	28
Sefalotin (30 µg)	94	6
Siprofloksasin (5 µg)	6	94
Eritromisin (15 µg)	94	6
Kanamisin (30 µg)	17	83
Asid Nalidiksik (30 µg)	11	89
Piperasilin (100 µg)	44	56
Tikarsilin (75 µg)	78	22

JADUAL 3. Sumber, profil, indeks diskriminasi, profil RAPD, profil PFGE serta jenis genom strain *S. Typhimurium*

Strain	Sumber	Masa persampelan [#]	Antibiogram ^a	MAR	Profil RAPD		Profil PFGE		Jenis genom	
					NSCI	NSCII	<i>Xba</i> I	<i>Avr</i> II		
ST1	Air buangan (<i>drain</i>)	Februari	CaxCfEPiTc	A1	0.63	B1	C1	X1	Y1	1
ST2	Air buangan (<i>drain</i>)	Februari	CaxCfEKPiTc	A2	0.75	B2	C2	X2	Y2	2
ST3	Air bilasan	Februari	CfEKPiTc	A3	0.63	B1	C3	X2	Y3	3
ST4	Dada ayam selepas basuh	Oktober	CaxCfEPiTc	A1	0.63	B3	C4	X3	Y4	4
ST5	Dada ayam sebelum basuh	Oktober	CaxCfENaTs	A4	0.50	B4	C5	X4	Y5	5
ST6	Dada ayam selepas basuh	Oktober	CaxCfE	A5	0.38	B5	C6	X4	Y5	6
ST7	Peha selepas basuh	Oktober	CaxCfE	A5	0.38	B6	C7	X5	Y6	7
ST8	Peha selepas basuh	Oktober	CaxCfETc	A6	0.50	B5	C7	X6	Y7	8
ST9	Dada ayam sebelum basuh	Februari	CaxCfETc	A6	0.50	B7	C8	X7	Y8	9
ST10	Dada ayam sebelum basuh	Februari	CaxCfTc	A7	0.38	B7	C9	X7	Y9	10
ST11	Peha ayam sebelum basuh	Februari	CpETc	A8	0.38	B8	C10	X8	Y10	11
ST12	Kepak selepas basuh	Februari	CfETc	A9	0.38	B9	C11	X9	Y10	12
ST13	Kepak selepas basuh	Februari	CaxCfE	A5	0.38	B9	C11	X9	Y11	13
ST14	Kepak selepas basuh	Februari	CfETc	A9	0.38	B10	C12	X9	Y12	14
ST15	Kepak sebelum basuh	Februari	CaxCfEPiTc	A1	0.63	B10	C13	X10	Y13	15
ST16	Dada sebelum basuh	Februari	CaxCfEPiTc	A1	0.63	B11	C14	X11	Y14	16
ST17	Peha selepas basuh	Februari	CfEKNaPiTsTc	A10	0.75	B12	C15	X12	Y15	17
ST18	Kepak selepas basuh	Februari	CaxCfEPiTc	A1	0.63	B12	C16	X10	Y16	18
Indeks Diskriminasi (D)					0.9608	0.9869	0.9542	0.9869		

[#]Persampelan pertama pada Februari, persampelan kedua pada Mac dan persampelan ketiga pada Oktober 2020

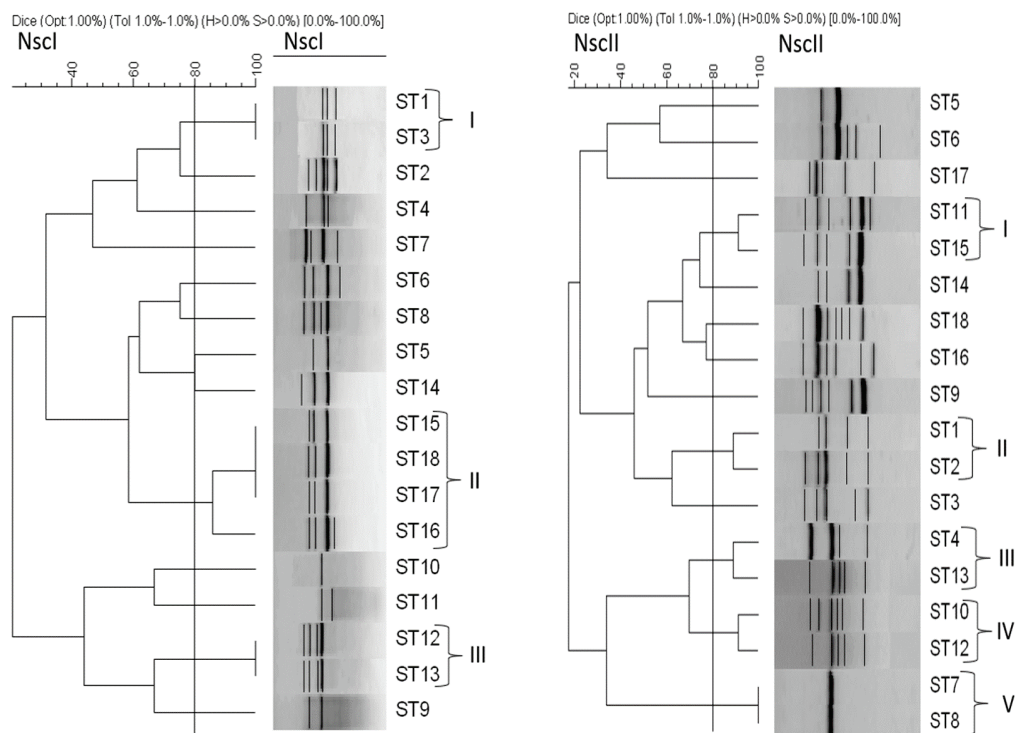
^a Diuji dengan Seftriakson (Cax), Sefalotin (Cf), Siprofloksasin (Cp), Eritromisin (E), Kanamisin (K), Asid Nalidiksik (Na), Piperasilin (Pi), Tikarsilin (Tc)

dan NSCII, menghasilkan beberapa kelompok seperti dalam Rajah 1. Primer NSCI menunjukkan tiga kelompok dan 10 strain tunggal, manakala NSCII menunjukkan lima kelompok dan 8 strain tunggal pada tahap persamaan 80% (Rajah 1). Primer NSCI boleh mendiskriminasi *S. Typhimurium* kepada 12 profil, iaitu B1 hingga B12.

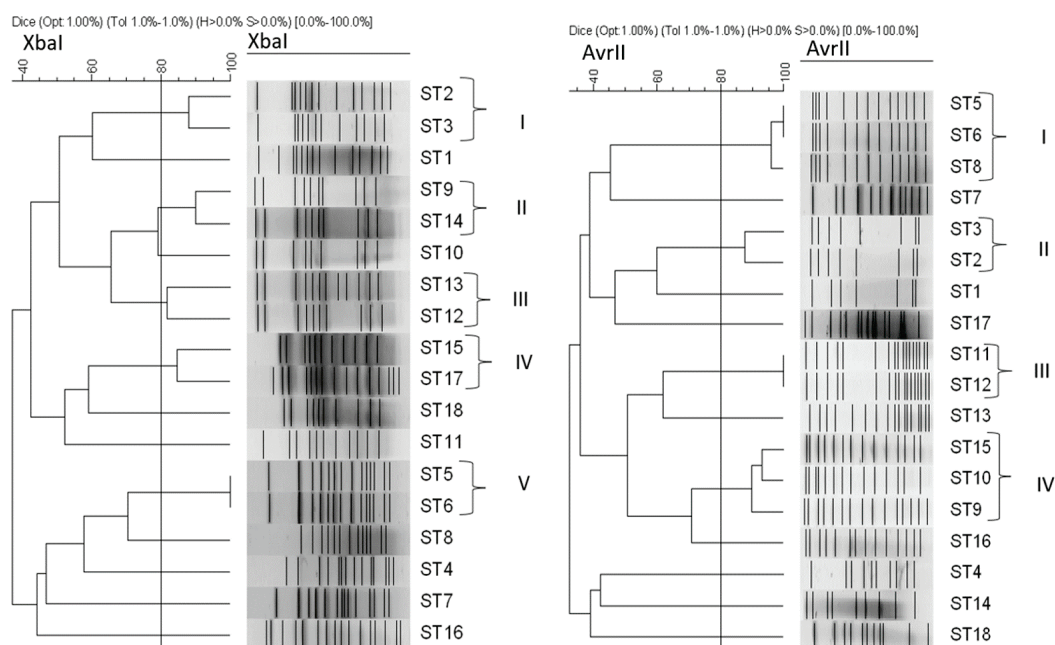
Primer NSCII pula mendiskriminasi *S. Typhimurium* kepada 16 profil iaitu C1 hingga C16. Hasil daripada kajian ini menunjukkan profil NSCII didapati lebih unggul berbanding profil NSCI. Walau bagaimanapun, kedua-dua primer menunjukkan indeks diskriminasi yang tinggi, dengan nilai D lebih besar daripada 0.90. Seperti yang ditunjukkan dalam Jadual 3, kedua-dua nilai adalah 0.9608 dan 0.9869. RAPD-PCR telah dilaporkan mempunyai masalah dengan kebolehulangan. Walau bagaimanapun, kajian ini menunjukkan primer ini boleh dihasilkan semula kerana profil RAPD yang dihasilkan dengan dua primer (NSCI dan NSCII) secara tekal diperhatikan dalam ulangan analisis. Keputusan kajian ini adalah berbeza dengan Shekhawat et al. (2019), yang mana primer NSCI mendiskriminasi *Salmonella enterica* kepada 3 kelompok dan satu strain tunggal dan NSCII ke dalam semua strain tunggal pada tahap persamaan 80%. Kajian tersebut

melaporkan indeks diskriminasi yang lebih rendah untuk kedua-dua primer dengan NSCI ialah 0.51 manakala NSCII ialah 0.18. Keadaan ini mungkin disebabkan oleh serovar yang berlainan diuji dalam kajian tersebut. Dalam kajian lain, yang juga melaporkan bahawa analisis RAPD-PCR boleh digunakan dalam pembezaan strain *Salmonella* spp. dengan julat nilai D dari 0.8978 hingga 0.9840 (Hashemi & Baghbani-arani 2015; Nath et al. 2010). Oleh itu, kuasa diskriminasi pada tahap 0.90 atau lebih menunjukkan keheterogenan strain yang tinggi.

Dalam kajian ini, PFGE menggunakan enzim penyekatan *Xba*I dan *Avr*II (NEB, UK) yang memotong pada jujukan T[^]CTAG_A dan C[^]CTAG_G, masing-masing. Enzim penyekatan *Xba*I menunjukkan 12 profil, manakala enzim penyekatan *Avr*II menunjukkan 16 profil dalam Jadual 3. Rajah 2 menunjukkan bahawa sekatan enzim *Xba*I menghasilkan 5 kelompok dan 8 strain tunggal pada tahap persamaan 80%. Manakala sekatan enzim *Avr*II menghasilkan 4 kelompok dan 8 strain tunggal pada tahap persamaan yang sama seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 2. Kedua-dua enzim penyekatan *Xba*I dan *Avr*II mengelompokkan dua strain ST2, ST3 dan dua strain ST5, ST6, kepada dua kelompok yang sama, masing-masing.



RAJAH 1. Dendrogram *S. Typhimurium* (ST1-ST18) daripada analisis RAPD menggunakan primer NscI yang dapat membezakan kepada 3 kelompok dan 10 strain tunggal dan primer NscII 5 kelompok dan 8 strain tunggal tahap persamaan 80%



RAJAH 2. Dendrogram *S. Typhimurium* (ST1-ST18) oleh enzim penyekatan *XbaI* dan *AvrII*. Pengelompokan adalah berdasarkan Kumpulan Pasangan Tidak Berwajaran dengan Keertian Aritmetik (UPGMA) dan pekali persamaan DICE

Kedua-dua strain ST5 dan ST6 adalah 100% sama secara genetik dalam kedua-dua enzim penyekatan. Lain-lain corak strain adalah pelbagai dan dalam kelompok yang berbeza. Indeks diskriminasi (nilai D) cap jari enzim penyekatan untuk *Xba*I dan *Avr*II ialah 0.9542 dan 0.9869, masing-masing. Keputusan nilai D ini adalah selari dengan kajian Fendri et al. (2013) dan Turki et al. (2013) yang menunjukkan hasil penjenisan *Salmonella* dengan PFGE memberikan nilai D yang melebihi 0.95.

Polimorfisme dalam analisis PFGE dan RAPD-PCR menunjukkan bahawa *S. Typhimurium* menghasilkan 18 jenis genom dan dengan itu menunjukkan tahap variasi genetik yang tinggi seperti ditunjukkan dalam Jadual 3. Keputusan ini menunjukkan kelebihan menggunakan lebih daripada satu teknik menjenis dalam penyelidikan epidemiologi. Dalam teknik menjenis rutin (*routine typing*), kelebihan menggunakan pelbagai teknik menjenis dalam penyelidikan epidemiologi bergantung pada keupayaannya untuk meningkatkan resolusi, kuasa diskriminasi, keboleholungan, komprehensif dan praktikal, dengan itu meningkatkan keberkesanan keseluruhan proses penyelidikan. Walaupun RAPD-PCR jauh lebih pantas, agak mudah dan lebih jimat berbanding PFGE yang mengambil masa yang lama dan lebih intensif, terdapat juga bukti bahawa RAPD-PCR dan PFGE boleh saling melengkapi; contohnya, strain yang tidak boleh dijenis oleh PFGE boleh dijenis oleh RAPD-PCR dan begitu juga sebaliknya. Ini disokong oleh penemuan Sahilah et al. (2003) dan Turki et al. (2013) yang melaporkan bahawa strain yang tidak boleh dijenis oleh PFGE boleh dicirikan oleh RAPD-PCR.

Kerintangan antibiotik yang pelbagai dan tinggi serta penjenisan molekul telah menunjukkan pencilan daripada pusat sembelihan ayam ini mempunyai keheterogenan yang tinggi meskipun dipencilkan daripada pusat sembelihan yang sama pada sela masa yang berbeza, ia menghasilkan 18 jenis genom yang berbeza untuk setiap pencilan seperti yang ditunjukkan dalam Jadual 3. Implikasi daripada keheterogenan yang tinggi ini menyukarkan proses rawatan sekiranya terdapat pencilan yang berjaya hidup melepasi proses masakan dan seterusnya menyebabkan jangkitan kepada manusia. Analisis pengelompokan menunjukkan kebanyakan subkelompok yang didapati berkait dengan masa persampelan ditunjukkan melalui kebanyakan strain dalam subkelompok yang sama adalah dalam masa persampelan yang sama. Kajian oleh Fendri et al. (2013) melaporkan dendrogram PFGE dan ERIC yang dihasilkan oleh adalah berkorelasi dengan serovar yang diuji dan mempunyai tahap kepelbagaian yang tinggi dan sumber strain adalah pelbagai. Tahap keheterogenan yang tinggi yang turut dilaporkan dalam kajian Fendri et al. (2013) dan Shekhawat et al. (2019) menunjukkan ia mungkin ciri unik bagi spesies *Salmonella*. Walaupun kajian ini menunjukkan keheterogenan yang tinggi, analisis lanjut

penjujukan genom penuh boleh dilakukan bagi memahami faktor yang menyebabkan keheterogenan yang tinggi ini berlaku.

KESIMPULAN

Kesimpulannya, kajian ini menunjukkan dua strain *S. Typhimurium* daripada pusat sembelihan ayam mempunyai nilai indeks kerintangan yang tinggi dengan rintang terhadap 7 daripada 8 jenis antibiotik yang diuji iaitu strain ST2 dan ST17. Polimorfisme cap jari RAPD-PCR dan PFGE juga menunjukkan 18 jenis genom yang terhasil di samping pengelompokan menunjukkan kebanyakan strain mempunyai perkaitan genetik yang rapat berdasarkan masa persampelan.

PENGHARGAAN

Kerja ini disokong oleh geran Geran Galakan Penyelidikan (GGP) [GGP-2020-015] Universiti Kebangsaan Malaysia. Kami ingin mengucapkan terima kasih kepada Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM) atas sokongan dan sumber yang tidak ternilai yang diberikan sepanjang tempoh penyelidikan ini. Akses kepada kemudahan, pembiayaan dan bimbingan akademik daripada kakitangan UKM memainkan peranan penting dalam menjayakan kerja ini.

RUJUKAN

- Abdelmalek, S., Kadry, M., Elshafiee, E.A., Hamed, W., Moussa, I.M., Al-Maary, K.S., Mubarak, A.S., Hemeg, H.A. & Elbehiry, A. 2019. Occurrence of *Salmonella* infection and antimicrobial susceptibility for local *Salmonella* isolates from different sources in a cross-sectional study. *Italian Journal of Food Safety* 8(4): 8525.
- Amiteye, S. 2021. Basic concepts and methodologies of DNA marker systems in plant molecular breeding. *Heliyon* 7(10): e08093.
- Anjay, A.K., Agarwal, R., Ramees, T., Dubal, Z., Kaushik, P., Kumar, M.S., Dudhe, N., Milton, A., Abhishek, B. & Shagufta, B. 2015. Molecular typing of *Salmonella* Typhimurium and *S. Enteritidis* serovars from diverse origin by ERIC-PCR. *Journal of Pure and Applied Microbiology* 9: 2627-2634.
- Braykov, N.P., Eisenberg, J.N., Grossman, M., Zhang, L., Vasco, K., Cevallos, W., Muñoz, D., Acevedo, A., Moser, K.A. & Marrs, C.F. 2016. Antibiotic resistance in animal and environmental samples associated with small-scale poultry farming in northwestern Ecuador. *Mosphere* 1:10.1128/msphere.00021-15.
- CDC PulseNet 2017. Standard Operating Procedure for PulseNet PFGE of *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* non-O157 (STEC), *Salmonella* serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention. 508c: 1-16.

- CLSI. 2020. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing*. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standard Institute.
- De Medici, D., Croci, L., Delibato, E., Di Pasquale, S., Filetici, E. & Toti, L. 2003. Evaluation of DNA extraction methods for use in combination with SYBR Green I real-time PCR to detect *Salmonella enterica* serotype Enteritidis in poultry. *Applied Environmental Microbiology* 69(6): 3456-3461.
- Egualé, T. 2018. Non-typhoidal *Salmonella* serovars in poultry farms in central Ethiopia: Prevalence and antimicrobial resistance. *BMC Veterinary Research* 14: 217.
- Fendri, I., Ben Hassena, A., Grosset, N., Barkallah, M., Khannous, L., Chuat, V., Gautier, M. & Gdoura, R. 2013. Genetic diversity of food-isolated *Salmonella* strains through pulsed field gel electrophoresis (PFGE) and enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC-PCR). *PLoS ONE* 8(12): e81315.
- Fymat, A.L. 2017. Antibiotics and antibiotic resistance. *Biomedical Journal of Science and Technical Research* <http://dx.doi.org/10.26717/BJSTR.2017.01.000117>
- Hasan, T.O., Lafta, I.J., Ahmed, E.A. & Jassam, S.A. 2023. Application of RAPD-PCR and phylogenetic analysis for accurate characterization of *Salmonella* spp. isolated from chicken and their feed and drinking water. *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine* 47(1): 11-20.
- Hashemi, A. & Baghbani-arani, F. 2015. The effective differentiation of 4 isolates using four PCR-based typing methods. *Journal of Applied Microbiology* 118(6): 1530-1540.
- Hooper, D.C. & Jacoby, G.A. 2016. Topoisomerase inhibitors: Fluoroquinolone mechanisms of action and resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 6(9): a025320.
- Hoshino, A.A., Bravo, J.P., Nobile, P.M. & Morelli, K.A. 2012. Microsatellites as tools for genetic diversity analysis. Dlm. *Genetic Diversity in Microorganisms*, disunting oleh Çalışkan, M. Rijeka: Intech. hlm. 384.
- Hunter, P.R. & Gaston, M.A. 1988. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: An application of Simpson's index of diversity. *Journal of Clinical Microbiology* 26(11): 2465-2466.
- Ismail, Z., Azmi, N.N., Mahyudin, N.A., Wan Omar, W.H., Abdul Rahman, M. & Sapor, M. 2024. *Salmonella* isolated from raw chicken meats at selected slaughterhouses in Peninsular Malaysia; Their antibiotic resistance profiles and biofilm formation on nutrient-limited media. *Malaysian Applied Biology* 53(2): 55-71.
- Lee, S. & Wendy, W. 2011. Antibigram and heavy metal resistance pattern of *Salmonella* spp. isolated from wild Asian sea bass (*Lates calcarifer*) from Tok Bali, Kelantan, Malaysia. *Jordan Journal of Biological Sciences* 4(3): 125-128.
- Menghistu, H.T., Rathore, R. & Dhama, K. 2011. Epidemiological characterization of *Salmonella* Gallinarum serotypes of poultry origin in India, employing two PCR based typing methods of RAPD-PCR and PCR-RFLP. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 6: 1037-1051.
- Mokhtar, N.A. 2024. Dua maut keracunan makanan disediakan program sekolah kelolaan JAIS. *Berita Harian Online* 11 Jun 2024.
- Najwa, M., Rukayadi, Y., Ubong, A., Loo, Y., Chang, W., Lye, Y., Thung, T., Aimi, S., Malcolm, T. & Goh, S. 2015. Quantification and antibiotic susceptibility of *Salmonella* spp., *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium in raw vegetables (ulam). *International Food Research Journal* 22(5): 1761-1769.
- Nath, G., Maurya, P. & Gulati, A.K. 2010. ERIC PCR and RAPD based fingerprinting of *Salmonella* Typhi strains isolated over a period of two decades. *Infection, Genetics and Evolution* 10(4): 530-536.
- Nawawi, M.H. 2018. Kementerian Kesihatan sahkan dua kematian akibat makan laksa. *Berita Harian* 8 Oktober 2018.
- Oludairo, O.O., Kwaga, J.K.P., Kabir, J., Abdu, P.A., Gitanjali, A., Perrets, A., Cibin, V., Lettini, A.A. & Aiyedun, J.O. 2022. A review on *Salmonella* characteristics, taxonomy, nomenclature with special reference to non-typhoidal and typhoidal salmonellosis. *Zagazig Veterinary Journal* 50: 161-176.
- Piddock, L., Griggs, D., Hall, M. & Jin, Y. 1993. Ciprofloxacin resistance in clinical isolates of *Salmonella* Typhimurium obtained from two patients. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 37(4): 662-666.
- Punchihewage-Don, A.J., Ranaweera, P.N. & Parveen, S. 2024. Defense mechanisms of *Salmonella* against antibiotics: A review. *Frontiers in Antibiotics* 3: 1448796.
- Raveendran, R., Wattal, C., Sharma, A., Oberoi, J., Prasad, K. & Datta, S. 2008. High level ciprofloxacin resistance in *Salmonella enterica* isolated from blood. *Indian Journal of Medical Microbiology* 26(1): 50-53.
- Rothman, K.J., Huybrechts, K.F. & Murray, E.J. 2024. *Epidemiology: An Introduction*. Third edition. New York: Oxford University Press.

- Sahilah, A., Radu, S., Lum, K. & Samuel, L. 2003. Molecular typing among poultry isolates of *Salmonella* Agona by PCR-based techniques and pulsed field gel electrophoresis (PFGE). *Journal of Tropical Agriculture Food Science* 31: 35-42.
- Sahilah, A., Son, R., Rusul, G., Samuel, L., Hassan, Z., Lum, K. & Ahmad, M. 2000. Molecular typing of *Salmonella* Weltevreden and *Salmonella* Chincol by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and enterobacterial repetitive intergenic consensus-polymerase chain reaction (ERIC-PCR). *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 16: 621-624.
- Schultz, B.M., Melo-Gonzalez, F., Salazar, G.A., Porto, B.N., Riedel, C.A., Kalergis, A.M. & Bueno, S.M. 2021. New insights on the early interaction between typhoid and non-typhoid *Salmonella* serovars and the host cells. *Frontiers in Microbiology* 12: 647044.
- Shao, Y., Wang, Y., Yuan, Y. & Xie, Y. 2021. A systematic review on antibiotics misuse in livestock and aquaculture and regulation implications in China. *Science of The Total Environment* 798: 149205.
- Shariat, N. & Dudley, E.G. 2014. CRISPRs: Molecular signatures used for pathogen subtyping. *Applied and Environmental Microbiology* 80(2): 430-439.
- Shekhawat, S.S., Gaurav, A., Joseph, B., Kumar, H. & Kumar, N. 2019. Random amplified polymorphic DNA-based molecular heterogeneity analysis of *Salmonella enterica* isolates from foods of animal origin. *Veterinary World* 12(1): 146-154.
- Turki, Y., Mehri, I., Fhoula, I., Hassen, A. & Ouzari, H. 2013. Comparison of five molecular subtyping methods for differentiation of *Salmonella* Kentucky isolates in Tunisia. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 30: 87-98.
- Vuthy, Y., Lay, K.S., Seiha, H., Kerleguer, A. & Aidara-Kane, A. 2017. Antibiotic susceptibility and molecular characterization of resistance genes among *Escherichia coli* and among *Salmonella* subsp. in chicken food chains. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 7(7): 670-674.
- Wadoum, R., Zambou, N., Anyangwe, F., Njimou, J., Coman, M., Verdenelli, M.C., Cecchini, C., Silvi, S., Orpianesi, C. & Cresci, A. 2016. Abusive use of antibiotics in poultry farming in Cameroon and the public health implications. *British Poultry Science* 57(4): 483-493.
- Wang, B.X., Butler, D.S., Hamblin, M. & Monack, D.M. 2023. One species, different diseases: the unique molecular mechanisms that underlie the pathogenesis of typhoidal *Salmonella* infections. *Current Opinion in Microbiology* 72: 102262.
- Wang, Y., Ge, H., Wei, X. & Zhao, X. 2022. Research progress on antibiotic resistance of *Salmonella*. *Food Quality Safety* 6: fyac035.
- Wei, X. & Zhao, X. 2021. Advances in typing and identification of foodborne pathogens. *Current Opinion in Food Science* 37: 52-57.
- Zakaria, Z., Hassan, L., Sharif, Z., Ahmad, N., Ali, R.M., Husin, S.A., Hazis, N.H. b.A., Sohaimi, N.F.M., Bakar, S.A. & Garba, B. 2020. Analysis of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolates from chickens and chicken meat products in Malaysia using PFGE and MLST. *BMC Veterinary Research* 16: 393.

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