

Penyebaran Klonal dan Pemandahan Gen Melalui Plasmid Menyumbang kepada Rintangan Pelbagai Antibiotik dalam Pencilan *Salmonella* Typhimurium daripada Ayam Mentah yang Dibeli Secara Dalam Talian

(Clonal Dissemination and Plasmid - Mediated Gene Transfer Contribute to Multidrug Resistance in *Salmonella* Typhimurium Isolates from Online-Purchased Raw Chicken)

ALIA SYAFIEQAH ZULKIFLI^{1,2,3}, SAHILAH ABD MUTALIB^{1,2}, MUHAMAD FIRDAUS SYAHMI SAM-ON^{1,2}
& NURUL AQILAH MOHD ZAINI^{1,2,*}

¹Jabatan Sains Makanan, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 46300 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

²Pusat Inovasi Teknologi Manisan (MANIS), Universiti Kebangsaan Malaysia, 46300 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

³Jabatan Perkhidmatan Makanan dan Pemakanan, Fakulti Perikanan dan Sains Makanan, Universiti Malaysia Terengganu, 21300 Kuala Terengganu, Terengganu, Malaysia

Diserahkan: 9 Mac 2026/Diterima: 12 Jun 2026

ABSTRAK

Salmonella Typhimurium rintang pelbagai antibiotik (MDR) merupakan patogen utama penyakit bawaan makanan yang memberi implikasi yang signifikan terhadap kesihatan awam. Kajian ini menilai 48 pencilan *S. Typhimurium* daripada ayam mentah yang dibeli secara dalam talian daripada tiga jenama komersial yang diproses di pusat penyembelihan berbeza (Kedah, Selangor dan Negeri Sembilan) bagi mengkaji dinamik penyebaran gen MDR melalui hubungan antara penyebaran klonal dan pemandahan gen mendatar (HGT). Analisis kerintangan antibiotik menggunakan kaedah cakera resapan, ujian konjugasi melalui pemandahan gen rintangan, serta analisis hubungan genetik menggunakan ERIC-PCR telah dijalankan. Hasil kajian menunjukkan kadar rintangan tinggi terhadap eritromisin (100%), tetrasiklin (85 %) dan ampicilin (79 %) dengan indeks Rintangan Pelbagai Antibiotik (MAR) antara 0.25 hingga 1.0, menandakan tahap pencemaran yang tinggi. Ujian konjugasi terhadap pencilan terpilih mendapati dua daripada tiga pencilan MDR mampu memindahkan fenotip rintangan kepada *E. coli* DH5 α dengan kecekapan tertinggi 1.1×10^{-2} , sekali gus menyokong peranan HGT dalam penyebaran MDR. Analisis ERIC-PCR menghasilkan lapan kluster utama dan satu asingan tunggal (DI = 0.80), menunjukkan kepelbagaian genetik yang baik dalam kalangan pencilan. Gabungan analisis dendrogram ERIC-PCR dan profil antibiogram menunjukkan bahawa penyebaran MDR dalam populasi *S. Typhimurium* berkemungkinan dipengaruhi oleh kedua-dua mekanisme iaitu penyebaran klonal dan HGT. Secara keseluruhan, keputusan ini menekankan keperluan pemantauan bersepadu dalam rantaian bekalan ayam bagi mengawal penyebaran MDR *S. Typhimurium*, sejajar dengan peningkatan pembelian ayam mentah secara dalam talian di Malaysia yang berpotensi menjadi laluan penyebaran strain MDR kepada pengguna.

Kata kunci: Ayam mentah dalam talian; pemandahan gen mendatar (HGT); penyebaran klonal; rintangan pelbagai antibiotik (MDR); *Salmonella* Typhimurium

ABSTRACT

Multidrug-resistant (MDR) *Salmonella* Typhimurium is a major foodborne pathogen with significant public health implications. This study evaluated 48 *S. Typhimurium* isolates from raw chicken purchased online from three commercial brands processed at different slaughterhouses (Kedah, Selangor, and Negeri Sembilan) to explore the dynamics of MDR gene dissemination through clonal spread and horizontal gene transfer (HGT). Antimicrobial susceptibility was tested using the disk diffusion method, conjugation assays were performed to evaluate resistance gene transfer, and genetic relatedness was analysed using ERIC-PCR. Results showed high resistance rates to erythromycin (100%), tetracycline (85%), and ampicillin (79%), with a Multiple Antibiotic Resistance (MAR) index ranging from 0.25 to 1.0, indicating high contamination levels. Conjugation assays showed that two out of three selected MDR isolates were able to transfer resistance phenotypes to *E. coli* DH5 α , with the highest transfer efficiency of 1.1×10^{-2} , supporting the role of HGT in MDR dissemination. ERIC-PCR analysis (DI = 0.80) showed good genetic diversity with eight major clusters and one singleton. The combined ERIC-PCR dendrogram and antibiogram profiling indicated that MDR spread in the *S. Typhimurium* population is likely driven by both clonal expansion and HGT. Overall, these findings highlight the need for integrated monitoring along the poultry

supply chain to control the dissemination of MDR *S. Typhimurium*, particularly as online chicken purchases in Malaysia increase, which may serve as a potential route for MDR strain transmission to consumers.

Keywords: Clonal dissemination; horizontal gene transfer (HGT); multidrug resistance (MDR); online raw chicken; *Salmonella* Typhimurium

PENDAHULUAN

Pandemik COVID-19 telah menyebabkan peningkatan ketara dalam penggunaan platform pembelian barangan runcit secara dalam talian, yang didorong oleh beberapa faktor seperti kemudahan, kebolehgunaan, persepsi risiko, kebolehpercayaan, nilai untuk wang dan pengaruh sosial (Shen, Namdarpour & Lin 2022; Tyrväinen & Karjaluoto 2022). Walaupun pendekatan ini menawarkan kemudahan kepada pengguna, ia turut menimbulkan cabaran keselamatan makanan, terutamanya bagi produk mudah rosak seperti ayam mentah yang memerlukan pengawalan suhu dan masa penghantaran yang ketat. Ketidapatuhan terhadap syarat pengendalian ini boleh meningkatkan risiko pencemaran atau menyebabkan pertumbuhan patogen. Kajian oleh Smadi et al. (2012) menunjukkan bahawa *Salmonella* spp. boleh meningkat dengan cepat apabila ayam mentah terdedah kepada suhu antara 10 °C hingga 40 °C, terutamanya jika pendedahan berlaku dalam tempoh yang berpanjangan.

Salmonella ialah patogen yang menyebabkan gastroenteritis dan merupakan masalah utama kesihatan awam di seluruh dunia. Patogen ini merupakan penyebab utama penyakit bawaan makanan dalam kalangan pengguna (Murray et al. 2012; Utrarachkij et al. 2016). Jangkitan salmonellosis biasanya berasal daripada haiwan ternakan seperti ayam, babi dan lembu. Manusia boleh dijangkiti penyakit ini melalui pengambilan makanan yang mentah atau tidak dimasak dengan sempurna, seperti daging ayam dan produk berasaskan telur, serta melalui minuman seperti susu yang tidak dipasteurkan (Gillespie et al. 2005). Serovar *S. Typhimurium* merupakan salah satu serovar yang sering dipencilkan daripada produk berasaskan haiwan, khususnya ayam. Kajian terdahulu menunjukkan terdapat pencilan *S. Typhimurium* yang dipencilkan daripada daging ayam didapati mempunyai kerintangan terhadap pelbagai antibiotik. Ini termasuk corak rintangan yang dilaporkan iaitu ASSuT (ampisilin, streptomisin, sulfonamida dan tetrasiklin) dan ACSSuT (ampisilin, kloramfenikol, streptomisin, sulfonamida dan tetrasiklin) (Wang et al. 2019). Selain itu, pencilan *S. Typhimurium* juga dilaporkan membawa pelbagai gen rintangan antibiotik, termasuk gen β -laktamase spektrum luas (ESBL) seperti *bla*_{TEMP}, *bla*_{SHV} dan *bla*_{CTX-M}, dan gen *cmlA/tetR*. Kehadiran gen ini berpotensi meningkatkan risiko keselamatan makanan kerana ia boleh menyumbang kepada penyebaran bakteria rintang antibiotik melalui rantaian makanan (Sales et al. 2021).

Dalam konteks keselamatan makanan, pengesanan pencilan *S. Typhimurium* yang membawa gen MDR sahaja tidak mencukupi tanpa pemahaman terhadap pola

penyebaran dan sumber pencemaran dalam rantaian bekalan makanan. Kajian epidemiologi molekul memainkan peranan penting dalam mengenal pasti hubungan antara pencilan bakteria daripada lokasi atau sampel berbeza, seterusnya membantu menentukan sama ada pencemaran berlaku secara sporadik atau berpunca daripada sumber yang sama (Gerner-Smidt et al. 2019; Ruppitsch 2016). Salah satu pendekatan yang digunakan ialah Konsensus Intergenik Berulang Enterobakteria (ERIC-PCR), iaitu teknik cap jari DNA berasaskan penggandaan jujukan berulang terpelihara dalam genom bakteria. Kaedah ini telah diaplikasikan secara meluas untuk membezakan pencilan *Salmonella* dan menilai hubungan genetiknya dalam kajian epidemiologi serta penentuan sumber pencemaran (Hashemi & Baghbani-Arani 2015; Souza et al. 2010). Teknik molekul ERIC-PCR juga telah digunakan secara meluas di Malaysia bagi tujuan pencirian patogen dengan keupayaan diskriminasi yang tinggi, termasuk dalam penghasilan profil genetik *E. coli* dan *S. Typhimurium* daripada sampel susu mentah dengan indeks diskriminasi 0.937 (Bilung et al. 2025). Oleh itu, ERIC-PCR berpotensi sebagai kaedah yang praktikal dan mempunyai kebolehpercayaan tinggi dalam menentukan profil DNA bakteria serta sebagai teknik sokongan dalam penentuan sumber pencemaran dalam rantaian makanan.

Walaupun corak rintangan antibiotik *S. Typhimurium* daripada produk ayam telah banyak dilaporkan, maklumat mengenai hubungan genetik pencilan MDR dan mekanisme penyebaran rintangannya, khususnya dalam rantaian bekalan ayam mentah yang diperoleh secara dalam talian masih sangat terhad. Sehubungan dengan itu, kajian ini dijalankan untuk menilai hubungan genetik antara pencilan MDR *S. Typhimurium* menggunakan analisis epidemiologi molekul ERIC-PCR dan profil antibiogram, bagi menentukan sama ada corak MDR berpunca daripada penyebaran strain secara klonal atau melalui pemindahan gen secara mendatar, serta mengenal pasti sumber pencemaran yang berpotensi. Kajian ini seterusnya dapat memberikan pemahaman yang lebih mendalam mengenai dinamik penyebaran rintangan antibiotik dalam rantaian pengedaran makanan.

BAHAN DAN KAEDAH

PENGUMPULAN SAMPEL

Sebanyak 27 sampel ayam mentah (3 jenama \times 3 bulan \times 3 replikasi) diperoleh secara dalam talian daripada tiga jenama ayam komersial berskala sederhana hingga besar yang diproses di pusat penyembelihan berlainan, iaitu

P1 (Kedah), P2 (Selangor) dan P3 (Negeri Sembilan). Pemilihan jenama ini bertujuan untuk mewakili produk ayam mentah yang lazim dipasarkan melalui platform peruncitan dalam talian oleh pengeluar industri ayam di Malaysia. Kesemua sampel dibeli daripada satu akaun penjual di platform e - dagang Shopee yang menawarkan ketiga-tiga jenama tersebut. Sampel dipesan sebelum jam 2.00 petang dan dihantar pada hari yang sama, lazimnya diterima sebelum jam 5.00 petang. Produk dihantar menggunakan kotak berpenyusut yang mengandungi ais bagi mengekalkan rantaian sejuk semasa pengangkutan terus ke makmal. Semua sampel diproses dan dianalisis pada hari yang sama selepas diterima bagi memastikan kualiti mikrobiologi sampel dikekalkan sepanjang tempoh analisis. Pengenalpastian *Salmonella* dilakukan mengikut standard ISO 6579-1:2017 melalui pengayaan selektif, pengasingan pada agar selektif, pengesahan biokimia serta kaedah molekul menggunakan Tindak Balas Rantaian Polimerase (PCR) (Mooijman, Pielaat & Kuijpers 2019). Sebanyak tiga hingga lima koloni dipencilkan daripada setiap sampel yang disahkan positif pada agar selektif yang sama, menghasilkan sebanyak 48 pencilan *S. Typhimurium* yang mewakili ketiga-tiga jenama dan digunakan untuk analisis selanjutnya.

UJIAN KERINTANGAN ANTIBIOTIK

Kesemua pencilan *S. Typhimurium* (n=48) diuji bagi menentukan tahap kerintangan antibiotik menggunakan kaedah resapan cakera (Bauer et al. 1966). Agar Mueller Hinton (MHA) (BD, Japan) dan lapan jenis cakera antibiotik telah digunakan, iaitu tetrasiklin (30 µg), eritromisin (15 µg), ampisilin (10 µg), asid nalidiksik (30 µg), kanamisin (30 µg), gentamisin (10 µg), kloramfenikol (30 µg) dan sefalotin (30 µg). Pemilihan lapan antibiotik tersebut adalah berdasarkan penggunaannya yang meluas dalam kajian pemantauan kerintangan antibiotik terhadap *Salmonella* yang diasingkan daripada ayam serta bagi mewakili beberapa kelas antibiotik yang berbeza untuk penilaian corak kerintangan antimikrob (Ismail et al. 2024; Sukri et al. 2021; Thung et al. 2016). Penentuan nilai Kepekatan Perencatan Minimum (MIC) bagi setiap antibiotik yang diuji dirujuk kepada piawaian yang ditetapkan oleh Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2020). Seterusnya, Indeks MAR bagi setiap pencilan *S. Typhimurium* dikira merujuk kepada formula yang dicadangkan oleh Singh et al. (2010):

$$\text{Indeks MAR} = \frac{\text{Bilangan antibiotik yang menunjukkan kerintangan}}{\text{Jumlah antibiotik yang diuji}}$$

UJIAN KONJUGASI PLASMID

Ujian konjugasi menggunakan strain penderma *S. Typhimurium* dan strain penerima *E. coli* DH5α dijalankan

pada agar Luria-Bertani (LB) yang mengandungi asid nalidiksik (50 µg/mL) dan ampisilin (50 µg/mL). Sebanyak 100 µL kultur penderma *S. Typhimurium* dan penerima *E. coli* DH5α dikultur dalam kaldu LB pada 37 °C semalaman. Kemudian, ujian konjugasi dilakukan antara strain penderma dan penerima dengan mencampurkan kedua-dua strain di atas agar LB yang sama, diikuti dengan inkubasi pada 37 °C selama 24 jam. Seterusnya, transkonjugan dipindahkan ke kaldu LB dan diinkubasi semalaman pada 37 °C. Pada masa yang sama, kultur penderma dan penerima turut disediakan. Semua kultur kemudian dicairkan secara bersiri 10 kali ganda sebelum diletakkan pada agar menggunakan teknik sebaran. Transkonjugan dipilih pada agar LB yang ditambah dengan asid nalidiksik (50 µg/mL) dan ampisilin (50 µg/mL) dan disahkan melalui analisis profil plasmid menggunakan elektroforesis gel agarosa. Kecekapan pemindahan plasmid dinyatakan sebagai bilangan koloni transkonjugan bagi setiap koloni penerima yang terhasil selepas tempoh konjugasi (Phornphisutthimas, Thamchaipenet & Panijpan 2007):

$$\text{Frekuensi konjugasi} = \frac{\text{Bilangan transkonjugan (cfu/mL)}}{\text{Bilangan penerima (cfu/mL)}}$$

PENENTUAN GENOTIP MOLEKUL MENGUNAKAN ERIC-PCR

Hubungan genetik antara pencilan *S. Typhimurium* ditentukan menggunakan teknik ERIC-PCR. Tindak balas PCR dijalankan dalam isi padu akhir 25 µL yang mengandungi 12.5 µL Rapid Taq Master Mix, 1 µL primer ERIC-1R (5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3'), 1 µL primer ERIC-2F (5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3'), 5 µL DNA templat dan 5.5 µL air bebas nuklease. Program kitaran PCR melibatkan pra-denaturasi pada 95 °C selama 7 minit, diikuti oleh 35 kitaran denaturasi pada 95 °C selama 30 saat, penyepuhlingapan pada 52 °C selama 1 minit dan pemanjangan pada 72 °C selama 5 minit dengan pemanjangan akhir pada 72 °C selama 10 minit. Produk amplifikasi dianalisis menggunakan elektroforesis gel agarosa dan jalur DNA yang terhasil diperhatikan di bawah pencahayaan UV (Mohapatra, Broersma & Mazumder 2007; Versalovic, Koeuth & Lupski 1991). Dendrogram dibina menggunakan perisian GelCompar II dan indeks diskriminasi (DI) ditentukan berdasarkan formula berikut:

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

(Hunter & Gaston 1988)

dengan N merujuk kepada jumlah keseluruhan pencilan *S. Typhimurium* yang diuji; s ialah jumlah kluster yang dikenal pasti; dan n_j mewakili bilangan pencilan dalam setiap kluster ke- j .

UJIAN STATISTIK

Perbezaan kadar kerintangan antibiotik antara jenama dianalisis menggunakan ujian ketepatan Fisher. Nilai $p < 0.05$ dianggap signifikan secara statistik. Semua analisis statistik dijalankan menggunakan perisian Minitab versi 23 (Minitab Inc, USA).

HASIL DAN PERBINCANGAN

KERINTANGAN ANTIBIOTIK PENCILAN *S. Typhimurium*

Secara keseluruhan, pencilan *S. Typhimurium* yang diperoleh daripada ayam mentah yang dibeli secara dalam talian mempunyai purata kerintangan antibiotik yang tinggi terhadap eritromisin (100%), tetrasiklin (85%) dan ampisilin (79%) (Jadual 1). Keputusan ini selari dengan kajian Thung et al. (2016) yang turut melaporkan rintangan yang tinggi terhadap eritromisin (100%) dan ampisilin (73%) dalam pencilan *S. Typhimurium* yang diperoleh daripada ayam mentah di pasaran runcit di Malaysia. Namun begitu, kajian tersebut menunjukkan tahap sensitiviti yang tinggi terhadap tetrasiklin (100%), iaitu berbeza dengan kajian ini yang menunjukkan tahap sensitiviti yang rendah terhadap antibiotik tetrasiklin (15%). Keputusan kajian ini selari dengan laporan terkini oleh Ibrahim dan Abo El-Makarem et al. (2021) yang turut mendapati kerintangan antibiotik yang tinggi terhadap tetrasiklin (100%) dalam pencilan *S. Typhimurium*. Perubahan trend ini di Malaysia mungkin menggambarkan peningkatan penggunaan tetrasiklin dalam industri penternakan ayam sebagai agen terapeutik atau penggalak pertumbuhan, seterusnya meningkatkan tekanan selektif terhadap populasi bakteria dan menyumbang kepada kemunculan pencilan yang lebih rintang. Di samping itu, pencilan *S. Typhimurium* menunjukkan tahap purata kerintangan yang lebih rendah terhadap sefalotin (36%) dan gentamisin (31%). Penemuan ini adalah tekal dengan kajian terdahulu yang turut melaporkan kadar rintangan yang lebih rendah terhadap gentamisin dan sefalotin pada pencilan *Salmonella* spp. (Ismail et al. 2024; Thung et al. 2016; Yang et al. 2010). Keputusan ini mungkin menunjukkan bahawa antibiotik tersebut digunakan secara lebih terkawal dalam sektor penternakan ayam tempatan.

Analisis perbandingan antara jenama menunjukkan bahawa pencilan daripada P1 (Kedah) dan P2 (Selangor) mempunyai peratus kerintangan yang lebih tinggi secara signifikan ($p < 0.05$) terhadap ampisilin, kanamisin dan sefalotin berbanding pencilan daripada P3 (Negeri Sembilan). Perbezaan ini mungkin dikaitkan dengan variasi dalam amalan penggunaan antibiotik, biokeselamatan dan tekanan selektif yang berbeza sepanjang rangkaian pengeluaran ayam bagi setiap jenama yang dikaji. Keputusan ini selaras dengan kajian Ismail et al. (2024) yang turut melaporkan variasi yang signifikan dalam profil kerintangan antibiotik *Salmonella* di pusat penyembelihan ayam antara negeri di Semenanjung Malaysia. Keadaan

ini mencadangkan bahawa perbezaan sumber pengeluaran ayam mungkin mempengaruhi corak kerintangan antibiotik yang diperhatikan. Selain itu, pencilan daripada P2 (Selangor) menunjukkan kadar kerintangan yang lebih rendah secara signifikan terhadap kloramfenikol berbanding P1 (Kedah) dan P3 (Negeri Sembilan) ($p < 0.05$). Namun begitu, kadar kerintangan terhadap gentamisin didapati lebih tinggi secara signifikan ($p < 0.05$) dalam jenama P2 (Selangor) berbanding kedua-dua jenama lain. Hal ini berkemungkinan disebabkan oleh perbezaan dasar dan amalan penggunaan antibiotik dalam industri penternakan ayam dengan gentamisin masih dibenarkan untuk kegunaan veterinar, manakala kloramfenikol telah lama dilarang penggunaannya dalam makanan haiwan di Malaysia (ReAct 2018). Walaupun penggunaan kloramfenikol telah lama dilarang, kerintangan terhadap antibiotik ini masih boleh diperhatikan akibat pengekalan gen kerintangan dalam populasi bakteria serta mekanisme pemilihan bersama dengan penggunaan antibiotik lain dapat mengekalkan plasmid yang turut membawa gen kerintangan terhadap kloramfenikol (Puangseree et al. 2024). Oleh itu, kadar kerintangan kloramfenikol yang tinggi dalam pencilan daripada P1 (Kedah) dan P3 (Negeri Sembilan) dalam kajian ini tidak semestinya menunjukkan penggunaan semasa antibiotik tersebut dalam rangkaian pengeluaran ayam. Sebaliknya, bagi antibiotik lain yang diuji, tiada perbezaan yang signifikan ($p > 0.05$) dalam kadar kerintangan antara ketiga-tiga jenama yang diperhatikan, mencadangkan bahawa corak kerintangan bagi antibiotik tersebut adalah tekal merentas semua lokasi yang dikaji.

INDEKS MAR DAN KEUPAYAAN KONJUGASI PENCILAN *S. Typhimurium*

Berdasarkan keputusan kajian ini, 100% pencilan *S. Typhimurium* daripada ayam mentah yang dibeli secara dalam talian membawa gen MDR (Jadual 2). Keputusan ini juga mencadangkan bahawa semua pencilan *S. Typhimurium* yang dikaji berkemungkinan berasal daripada sumber pencemaran yang berisiko tinggi, yang mana penggunaan antibiotik adalah secara meluas di kawasan tersebut (Khan et al. 2015). Pencilan *S. Typhimurium* daripada P1 (Kedah) menunjukkan indeks MAR antara 0.25 hingga 1.00 dengan nilai purata ialah 0.70, yang menunjukkan rintangan terhadap dua hingga lapan antibiotik yang diuji. Indeks MAR dalam kajian ini adalah lebih tinggi berbanding kajian oleh Deli dan Adzitey (2017) yang melaporkan indeks MAR sebanyak 0.62 bagi pencilan *S. Typhimurium* yang diperoleh daripada ayam ternakan di negeri Kedah. Selain itu, pencilan *S. Typhimurium* daripada P2 (Selangor) dan P3 (Negeri Sembilan) menunjukkan nilai purata indeks MAR sebanyak 0.76 dan 0.52. Kajian terdahulu di Selangor turut melaporkan nilai indeks MAR yang lebih rendah berbanding kajian ini, iaitu sebanyak 0.4 (Thung et al. 2016) dan 0.64 (Sukri et al. 2021) bagi pencilan *S. Typhimurium* daripada ayam mentah. Seterusnya,

JADUAL 1. Peratus kerintangan antibiotik bagi pencilan *S. Typhimurium* yang diperoleh daripada sampel ayam mentah yang dibeli secara dalam talian daripada tiga pusat penyembelihan di lokasi yang berbeza

Antibiotik ($\mu\text{g/mL}$)	Peratus kerintangan (%)			
	Lokasi P1, Kedah (n=21)	Lokasi P2, Selangor (n= 13)	Lokasi P3, Negeri Sembilan (n=14)	Purata (%)
Ampisilin (10)	21 (100) ^a	13 (100) ^a	5 (36) ^b	79
Kloramfenikol (30)	16 (76) ^{ab}	6 (46) ^b	13 (93) ^a	72
Gentamisin (10)	5 (24) ^b	8 (62) ^a	1 (7) ^b	31
Kanamisin (30)	12 (57) ^a	10 (77) ^a	1 (7) ^b	47
Asid Nalidiksik (30)	17 (81) ^a	11 (85) ^a	8 (57) ^a	74
Tetrasiklin (30)	13 (62) ^a	12 (92) ^a	12 (100) ^a	85
Eritromisin (15)	21 (100) ^a	13 (100) ^a	14 (100) ^a	100
Sefalotin (30)	13 (62) ^a	6 (46) ^a	0 (0) ^b	36

Amp – Ampisilin; C- Kloramfenikol; Te – Tetrasiklin; E – Eritromisin; Na – Asid Nalidiksik; K - Kanamisin

*Lokasi yang ditanda dengan huruf yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan ujian ketepatan Fisher

pencilan *S. Typhimurium* daripada P3 (Negeri Sembilan) menunjukkan nilai indeks MAR yang terendah dalam kajian ini. Hal ini mungkin dipengaruhi oleh perbezaan amalan pengurusan sepanjang rantai pengeluaran ayam, termasuk tahap biokeselamatan, amalan penggunaan antibiotik dan prosedur pemprosesan yang berbeza. Kajian terdahulu turut menunjukkan bahawa pelaksanaan biokeselamatan yang berkesan dapat mengurangkan keperluan penggunaan antibiotik dalam ternakan, sekali gus membantu mengurangkan kehadiran bakteria rintang antibiotik (Kim & Lee 2025). Walau bagaimanapun, perbandingan indeks MAR bagi P3 (Negeri Sembilan) dengan kajian terdahulu adalah terhad kerana kekurangan data dan maklumat yang tersedia.

Selain daripada tekanan selektif dan amalan penggunaan antibiotik di peringkat ladang, peningkatan nilai indeks MAR dalam kajian ini berbanding laporan terdahulu berkemungkinan turut dipengaruhi oleh pencemaran silang yang melibatkan pencilan *S. Typhimurium* yang membawa gen rintangan antibiotik semasa pemprosesan dan penghantaran ayam mentah. Keadaan ini selari dengan kajian Innes et al. (2021) yang menekankan bahawa pencemaran silang boleh berlaku pada pelbagai peringkat pengeluaran makanan, bermula daripada penerimaan dan penyimpanan bahan mentah sehingga pemprosesan dan pembungkusan. Hasil ujian konjugasi turut menunjukkan bahawa sebahagian pencilan MDR mempunyai keupayaan untuk memindahkan keseluruhan fenotip rintangan antibiotik kepada penerima *E. coli* DH5 α , dengan 67% (2/3) pencilan berjaya memindahkan rintangan pada kecekapan antara 1.1×10^{-2} hingga 7.6×10^{-5} (Jadual 3). Keputusan ini mencadangkan bahawa sekiranya berlaku pencemaran silang sepanjang rantai pemprosesan dan pendedaran, pencilan *S. Typhimurium* yang membawa plasmid konjugatif berpotensi menyebarkan gen rintangan secara HGT dalam komuniti bakteria yang sama.

Walaupun kajian terdahulu masih terhad dalam menunjukkan hubungan secara langsung antara pencemaran silang dan HGT dalam *S. Typhimurium*, terdapat laporan yang telah menunjukkan bahawa *S. Typhimurium* membawa plasmid konjugatif yang berupaya dipindahkan kepada komuniti bakteria lain. Sebagai contoh, kajian Hradecka, Karasova dan Rychlik (2008) melaporkan bahawa pencilan *S. Typhimurium* membawa plasmid daripada kumpulan IncI1 dan IncH11 yang berupaya memindahkan gen rintangan antibiotik serta berinteraksi dengan plasmid virulens. Namun demikian, kajian ini juga menunjukkan bahawa tidak semua plasmid pencilan *S. Typhimurium* bersifat konjugatif dan boleh dipindahkan kepada pencilan penerima, seperti yang diperhatikan pada pencilan D1 (Rajah 1). Keputusan ini selari dengan laporan terdahulu yang menunjukkan bahawa sesetengah strain *S. Typhimurium* membawa plasmid rintangan antibiotik yang boleh dimobilisasi, namun tidak mempunyai keupayaan untuk dipindahkan secara konjugasi pada sel bakteria lain (Ou et al. 1990). Hal ini disokong oleh kajian Gaissmaier et al. (2022) yang melaporkan bahawa plasmid yang membawa gen rintangan streptomisin dalam strain *S. Typhimurium* SL1344 boleh dipindahkan kepada pelbagai bakteria dalam persekitaran yang sama apabila dibantu oleh plasmid konjugatif. Keadaan ini menunjukkan bahawa kehadiran plasmid pembantu berpotensi meningkatkan mobilisasi plasmid bukan konjugatif. Keputusan ini menunjukkan pemindahan gen rintangan dipengaruhi oleh interaksi antara kehadiran gen rintangan antibiotik, ciri plasmid konjugatif dan keadaan ekologi bakteria yang menyumbang kepada penyebaran gen MDR dalam pencilan *S. Typhimurium*. Selain faktor genetik, keadaan persekitaran yang sesuai seperti suhu yang optimum untuk proses konjugasi, kepadatan sel bakteria dan ketersediaan nutrien yang mencukupi turut memainkan peranan penting dalam meningkatkan kecekapan pemindahan gen rintangan melalui plasmid (Li et al. 2022; Shafieifini et al. 2022).

Sehubungan itu, keputusan kajian ini menunjukkan bahawa indeks MAR yang tinggi serta keputusan konjugasi berkemungkinan berkait rapat dengan kelemahan dalam pengurusan rantai sejuk semasa penghantaran ayam mentah secara dalam talian. Kegagalan mematuhi piawaian suhu dan tempoh penghantaran yang ditetapkan bukan sahaja boleh meningkatkan risiko pencemaran silang, malah mewujudkan persekitaran yang kondusif bagi berlakunya proses konjugasi bakteria. Suhu ambien di Malaysia yang secara purata berada dalam julat 23 °C hingga 33 °C juga merupakan keadaan yang sesuai untuk pemindahan gen rintangan antibiotik. Perkara ini disokong oleh Alderliesten et al. (2020) yang melaporkan bahawa kecekapan konjugasi boleh meningkat sehingga 14 kali ganda pada julat suhu 20 °C hingga 30 °C berbanding pada suhu 35 °C hingga 37 °C. Dalam kajian ini, walaupun sampel dihantar menggunakan kotak berpenamat yang mengandungi ais, suhu sebenar sepanjang proses penghantaran tidak dipantau. Oleh itu, pencilan *S. Typhimurium* dalam kajian ini berkemungkinan terdedah kepada suhu yang tidak mematuhi piawaian semasa proses penghantaran dalam talian. Keadaan ini disokong oleh kajian Hallman, Senger-Mersich dan Godwin (2015) yang menunjukkan bahawa penghantaran makanan mudah rosak secara dalam talian berisiko mengalami gangguan rantai sejuk atau perubahan suhu semasa penghantaran, terutamanya apabila produk tidak diterima segera oleh pengguna dan dibiarkan di luar untuk tempoh tertentu sebelum disimpan pada suhu yang sesuai. Hal ini berpotensi menggalakkan pemindahan gen rintangan dalam komuniti bakteria dan seterusnya menyumbang kepada penyebaran bakteria MDR dalam rantai makanan.

ANALISIS HUBUNGAN GENETIK *S. Typhimurium* MENGUNAKAN ERIC-PCR

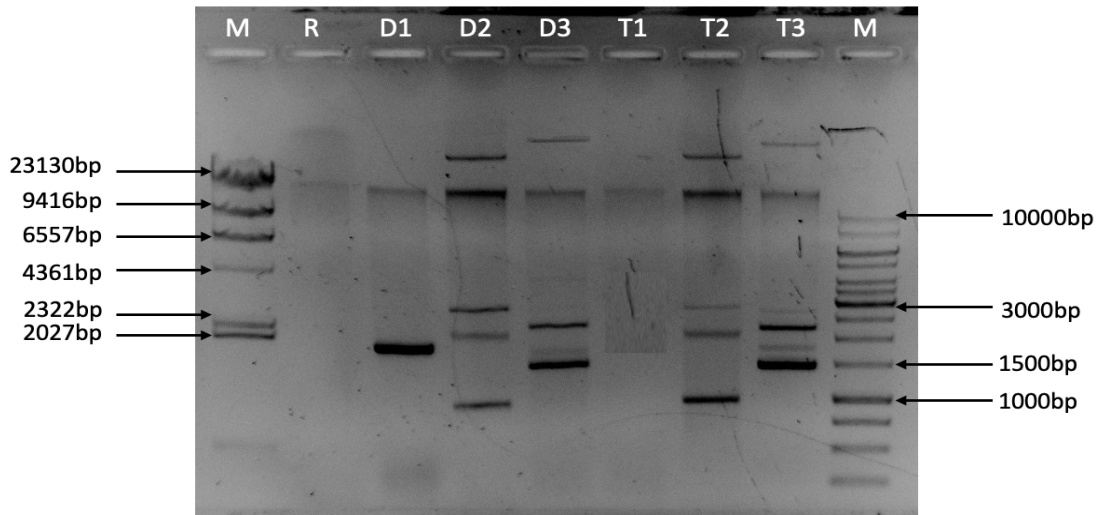
Selepas mengenal pasti corak kerintangan antibiotik serta keupayaan pemindahan gen rintangan melalui konjugasi, analisis hubungan genetik menggunakan ERIC-PCR memberikan gambaran lanjut mengenai epidemiologi pencilan *S. Typhimurium* daripada ayam mentah yang dibeli secara dalam talian. Analisis ini menghasilkan lapan kluster utama serta satu asingan tunggal dengan nilai DI (0.80), menunjukkan tahap kepelbagaian genetik yang baik dalam kalangan 48 pencilan MDR yang dianalisis (Rajah 2). Nilai ini hampir sama dengan keputusan kajian oleh Fendri et al. (2013) terhadap 45 pencilan *Salmonella* daripada pelbagai serovar dan sumber makanan dengan ERIC-PCR menghasilkan DI (0.85). Walaupun nilai DI dalam kajian ini adalah sedikit lebih rendah, perbezaan tersebut mungkin disebabkan oleh perbezaan saiz populasi, serovar yang dikaji, variasi genetik dalam pencilan dan jenis primer yang digunakan (Alsultan & Elhadi 2022; Hunter & Gaston 1988). Selain itu, kajian oleh Sedrakyan et al. (2022) juga telah melaporkan keberkesanan kaedah ERIC-PCR dalam menentukan hubungan genetik yang

rapat antara pencilan MDR *S. Typhimurium* walaupun diperoleh daripada lokasi dan tempoh masa yang berbeza.

Pengelasan kluster menunjukkan bahawa beberapa kluster mengandungi pencilan daripada lokasi berbeza, contohnya kluster E1 (Negeri Sembilan dan Kedah) serta kluster E2, E5 dan E6 (Kedah dan Selangor), mencadangkan kewujudan penyebaran klonal merentas lokasi pusat penyembelihan. Hal ini mungkin disebabkan oleh laluan pengedaran dan rangkaian pembekal ayam mentah yang berkaitan dengan strain tertentu tersebar melalui rantai bekalan yang sama walaupun berasal daripada lokasi berbeza. Keputusan ini selari dengan kajian terdahulu oleh Anjay et al. (2015), yang mendapati beberapa pencilan *S. Typhimurium* daripada pelbagai sumber menunjukkan corak cap jari DNA yang serupa menggunakan kaedah ERIC-PCR, mencadangkan perkongsian sumber pencemaran yang sama. Secara keseluruhan, hasil kajian ini menunjukkan bahawa pencemaran silang dan penyebaran klonal pencilan *S. Typhimurium* mungkin telah berlaku dari peringkat ladang atau pusat penyembelihan dan kekal sehingga ke peringkat peruncitan dalam platform jualan dalam talian.

Sebaliknya, kluster E3, E4, E7, E8 dan asingan tunggal yang hanya mengandungi pencilan daripada satu lokasi sahaja, iaitu pusat penyembelihan di Selangor, mungkin menggambarkan penyebaran klonal tempatan atau sumber pencemaran yang khusus kepada lokasi tersebut sebelum memasuki rantai bekalan. Keputusan ini selari dengan kajian Fendri et al. (2013) yang melaporkan bahawa *Salmonella* spp. daripada sumber yang sama menghasilkan satu kluster tunggal, menunjukkan bahawa pencemaran dominan berlaku dalam lokasi atau sumber tersebut. Gabungan analisis ERIC-PCR dan profil antibiogram memberikan pemahaman tambahan mengenai mekanisme penyebaran pencilan MDR *S. Typhimurium* dalam rantai bekalan ayam mentah, khususnya daripada platform dalam talian. Kluster E7 dan E8 terdiri daripada pencilan yang diperoleh dari lokasi yang sama dan menunjukkan corak antibiogram yang serupa. Keputusan ini menunjukkan bahawa pencilan dalam kluster tersebut berkemungkinan tersebar secara klonal serta mengekalkan fenotip rintangan antibiotik yang tekal.

Menariknya, terdapat juga kes yang mana pencilan daripada kluster berbeza, contohnya E1 (ST18 dan ST15) dan E3 (ST16 dan ST19) diperoleh dari pusat penyembelihan yang sama dan menunjukkan corak antibiogram yang sama. Keadaan ini mencadangkan bahawa penyebaran gen MDR berkemungkinan berlaku melalui pencemaran silang yang melibatkan HGT, di samping tekanan selektif penggunaan antibiotik di peringkat ladang, yang akhirnya menghasilkan profil rintangan yang hampir sama walaupun pencilan tersebut berbeza secara genetik. Kajian terkini oleh Zhang et al. (2026) turut menyokong keputusan kajian ini dengan melaporkan bahawa penyebaran MDR *Salmonella* spp. berlaku melalui dua mekanisme utama, iaitu secara penyebaran klonal dan HGT. Dalam



RAJAH 1. Pemandahan plasmid antara *S. Typhimurium* (penderma) kepada *E. coli* DH5α (penerima) melalui ujian konjugasi menggunakan gel agarosa 1% (w/v). Lajur M: penanda DNA Lambda–HindIII dan penanda saiz 1 kb. Lajur R: *E. coli* DH5α (penerima). Lorong D1–D3: strain *S. Typhimurium* (penderma). Lajur T1–T3: transkonjugasi

JADUAL 2. Julat indeks MAR pencilan *S. Typhimurium* daripada sampel ayam mentah yang dibeli secara dalam talian daripada tiga pusat penyembelihan di lokasi yang berbeza

Lokasi pusat penyembelihan	Bilangan pencilan	Julat MAR indeks	Purata MAR indeks
P1 (Kedah)	21	0.25 - 1.00	0.70
P2 (Selangor)	13	0.38 - 1.00	0.76
P3 (N. Sembilan)	14	0.38 - 0.88	0.52

JADUAL 3. Ringkasan kecekapan konjugasi dan transkonjugasi dengan fenotip rintangan antibiotik yang dikenal pasti

Pencilan <i>S. Typhimurium</i>	Rintangan antibiotik	Penderma			Transkonjugasi	
		No. penderma (cfu/mL)	No. transkonjugasi (cfu/mL)	Kecekapan konjugasi*	Pemindahan gen rintangan antibiotik	
D1	AmpCKTeE	9.3×10^8	9.8×10^4	1.1×10^{-4}	-	
D2	AmpCKTeEKf	7.4×10^8	8.4×10^6	1.1×10^{-2}	AmpCKTeEKf	
D3	AmpCTeE	10.6×10^8	8.1×10^4	7.6×10^{-5}	AmpCTeE	

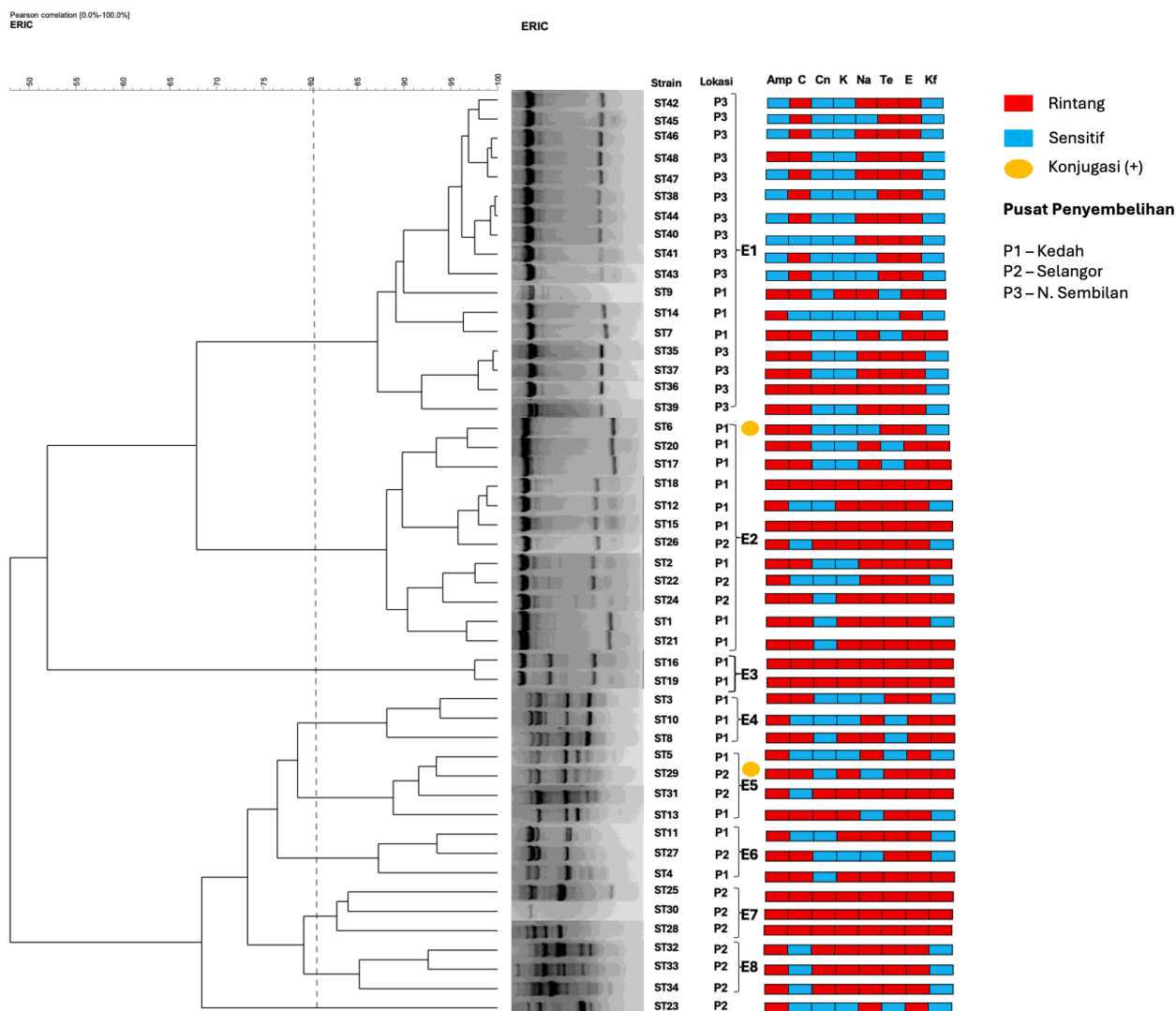
Amp – Ampisilin; C- Kloramfenikol; Te – Tetrasiklin; E – Eritromisin; K – Kanamisin; Kf - Sefalotin

*Kecekapan konjugasi merujuk kepada bilangan transkonjugasi yang dihasilkan bagi setiap sel penderma

kajian tersebut, plasmid konjugatif yang membawa gen rintangan antibiotik dikenal pasti sebagai faktor penting yang membolehkan penyebaran gen MDR antara strain, walaupun strain tersebut tidak berkongsi hubungan klonal yang rapat.

Secara keseluruhan, gabungan keputusan ERIC-PCR dan analisis antibiogram dalam kajian ini menunjukkan bahawa kebanyakan pencilan dalam kluster yang sama cenderung mempunyai corak rintangan yang hampir serupa, menyokong peranan penyebaran klonal. Namun

demikian, kewujudan pencilan daripada kluster berbeza yang berkongsi profil antibiogram yang hampir sama menunjukkan bahawa HGT turut menyumbang kepada penghasilan dan penyebaran MDR dalam populasi *S. Typhimurium* yang diperolehi daripada ayam mentah yang dibeli secara dalam talian. Gabungan kedua-dua mekanisme ini iaitu penyebaran klonal dan pemindahan gen melalui plasmid konjugatif, berkemungkinan menyumbang kepada tahap variasi genetik dan kepelbagaian pola rintangan antibiotik yang diperhatikan dalam kajian ini.



Amp = ampisilin, C = kloramfenikol, Cn = gentamisin, K = kanamisin, Na = asid nalidiksik, Te = tetrasiklin, E = eritromisin, Kf = sefalotin

RAJAH 2. Analisis hubungan genetik pencilan *S. Typhimurium* (P1 = Kedah, P2 = Selangor, P3 = Negeri Sembilan) berdasarkan ERIC-PCR dengan kluster $\geq 80\%$ (E1–E8) serta profil kerintangan antibiotik (merah = rintang, biru = sensitif). Bulatan kuning menunjukkan pencilan positif konjugasi

Walaupun pencilan dalam kajian ini diperolehi daripada ayam mentah yang dibeli secara dalam talian, mekanisme penyebaran klonal dan HGT yang diperhatikan tidak semestinya terhad kepada saluran peruncitan tersebut. Hal ini kerana produk ayam yang dipasarkan melalui saluran peruncitan dalam talian dan fizikal berkemungkinan berkongsi sumber pengeluaran, pusat pemprosesan dan rangkaian bekalan yang sama. Penemuan ini menekankan keperluan kawalan yang lebih ketat di peringkat ladang dan pusat penyembelihan, termasuk pengukuhan amalan biokeselamatan, penggunaan antibiotik secara berhemah serta pemantauan berterusan terhadap kerintangan antibiotik, bagi mengurangkan risiko penyebaran MDR *S. Typhimurium* sepanjang rangkaian bekalan ayam mentah (Ismail et al. 2024; Kim & Lee 2025).

KESIMPULAN

Secara kesimpulan, kajian ini menunjukkan bahawa pencilan *S. Typhimurium* daripada ayam mentah yang dibeli secara dalam talian membawa gen MDR dan sebahagian pencilan mampu memindahkan fenotip rintangan melalui konjugasi, menandakan keupayaan HGT dalam populasi bakteria ini. Analisis genetik menggunakan ERIC-PCR yang digabungkan dengan profil antibiogram mendedahkan bahawa penyebaran klonal dan HGT berkemungkinan merupakan mekanisme utama yang menyumbang kepada penyebaran gen MDR dalam pencilan *S. Typhimurium* yang dikaji. Keputusan ini menekankan kepentingan pemantauan berterusan terhadap kerintangan antibiotik dalam ayam mentah yang dipasarkan melalui saluran peruncitan dalam talian sebagai langkah untuk mengawal penyebaran bakteria MDR dan mengurangkan risiko kepada keselamatan makanan serta kesihatan awam.

PENGHARGAAN

Penyelidikan ini telah dijalankan dengan sokongan kemudahan dan prasarana yang disediakan oleh Universiti Kebangsaan Malaysia. Penghargaan turut diberikan kepada semua pihak yang terlibat secara langsung atau tidak langsung dalam pelaksanaan kajian ini.

RUJUKAN

- Alderliesten, J.B., Duxbury, S.J., Zwart, M.P., De Visser, J.A.G., Stegeman, A. & Fischer, E.A. 2020. Effect of donor-recipient relatedness on the plasmid conjugation frequency: A meta-analysis. *BMC Microbiology* 20(1): 135.
- Alsultan, A. & Elhadi, N. 2022. Evaluation of ERIC-PCR method for determining genetic diversity among *Escherichia coli* isolated from human and retail imported frozen shrimp and beef. *International Journal of Food Contamination* 9(1): 12.
- 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. *J. Pure Appl. Microbiol.* 9: 2627-2634.
- Bauer, A., Kirby, W., Sherris, J.C. & Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology* 45(4 ts): 493-496.
- Bilung, L.M., Radzi, E.S., Tahar, A.S., Zulkharnain, A., Ngui, R. & Apun, K. 2025. BOX-PCR and ERIC-PCR evaluation for genotyping shiga toxin-producing *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in raw milk. *Foods and Raw Materials* 13(2): 264-275.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2020. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Edisi ke-30. CLSI Supplement M100. Wayne, PA: CLSI.
- Deli, R.A. & Adzitey, F. 2017. Prevalence and antibiotic resistance of *Salmonella* serovars isolated from spent hens and its environmental samples in Penang and Kedah, Malaysia. *Journal of Tropical Agriculture and Food Science* 45: 37-50.
- 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.
- Gaissmaier, M.S., Laganenka, L., Herzog, M.K-M., Bakkeren, E. & Hardt, W-D. 2022. The mobilizable plasmid P3 of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium SL1344 depends on the P2 plasmid for conjugative transfer into a broad range of bacteria *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Bacteriology* 204(12): e00347-322.
- Gerner-Smidt, P., Trees, E., Carleton, H., Katz, L., den Bakker, H. & Deng, X. 2019. Molecular source tracking and molecular subtyping. Dlm. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, disunting oleh Doyle, M.P., Diez-Gonzalez, F. & Hill, C. Washington: ASM Press. hlm. 971-988.
- Gillespie, I.A., O'Brien, S., Adak, G., Ward, L. & Smith, H. 2005. Foodborne general outbreaks of *Salmonella* Enteritidis phage type 4 infection, England and Wales, 1992-2002: Where are the risks? *Epidemiology & Infection* 133(5): 795-801.
- Hallman, W.K., Senger-Mersich, A. & Godwin, S.L. 2015. Online purveyors of raw meat, poultry, and seafood products: Delivery policies and available consumer food safety information. *Food Protection Trends* 35(2): 80-88.
- Hashemi, A. & Baghbani-Arani, F. 2015. The effective differentiation of *Salmonella* isolates using four PCR-based typing methods. *Journal of Applied Microbiology* 118(6): 1530-1540.
- Hradecka, H., Karasova, D. & Rychlik, I. 2008. Characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium conjugative plasmids transferring resistance to antibiotics and their interaction with the virulence plasmid. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 62(5): 938-941.
- 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.
- Ibrahim, H.A. & Abo El-Makarem, H.S. 2021. Bacterial food poisoning in chicken and some chicken products. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences* 69(1): 92.
- Innes, G.K., Nachman, K.E., Abraham, A.G., Casey, J.A., Patton, A.N., Price, L.B., Tartof, S.Y. & Davis, M.F. 2021. Contamination of retail meat samples with multidrug-resistant organisms in relation to organic and conventional production and processing: A cross-sectional analysis of data from the United States National Antimicrobial Resistance Monitoring System, 2012-2017. *Environmental Health Perspectives* 129(5): 057004.
- Ismail, Z., Azmi, N.N., Mahyudin, N.A., Omar, W.H.W., Rahman, M.A. & Sapar, M. 2024. *Salmonella* isolated from raw chicken meats at selected slaughterhouses in Peninsular Malaysia: Antibiotic resistance profiles and biofilm formation on nutrient-limited media. *Malaysian Applied Biology* 53(2): 55-71.
- Khan, J.A., Irfan, A., Soni, S., Maherchandani, S. & Maherchandani, S. 2015. Antibigram and multiple antibiotic resistance index of *Salmonella enterica* isolates from poultry. *Journal of Pure and Applied Microbiology* 9(3): 2495-2500.
- Kim, M.B. & Lee, Y.J. 2025. Biosecurity practices for reducing antimicrobial use in commercial broiler farms in Korea. *The Journal of Poultry Science* 62: 2025001.

- Li, W., Bai, X., Sheng, H., Chen, J., Wang, Z., Wang, T. & Yang, B. 2022. Conjugative transfer of *mcr-1*-bearing plasmid from *Salmonella* to *Escherichia coli* *in vitro* on chicken meat and in mouse gut. *Food Research International* 157: 111263.
- Mohapatra, B.R., Broersma, K. & Mazumder, A. 2007. Comparison of five rep-PCR genomic fingerprinting methods for differentiation of fecal *Escherichia coli* 237 from humans, poultry, and wild birds. *FEMS Microbiology Letters* 277(1): 98-106.
- Mooijman, K.A., Pielaat, A. & Kuijpers, A.F. 2019. Validation of EN ISO 6579-1-microbiology of the food chain-horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*-Part 1 detection of *Salmonella* spp. *International Journal of Food Microbiology* 288: 3-12.
- Murray, C.J., Vos, T., Lozano, R., Naghavi, M., Flaxman, A.D., Michaud, C., Ezzati, M., Shibuya, K., Salomon, J.A. & Abdalla, S. 2012. Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet* 380(9859): 2197-2223.
- Ou, J.T., Baron, L.S., Dai, X. & Life, C.A. 1990. The virulence plasmids of *Salmonella* Typhimurium, Choleraesuis, Dublin, and Enteritidis, and the cryptic plasmids of *Salmonella* serovars Copenhagen and Sendai belong to the same incompatibility group, but not those of *Salmonella* serovars Durban, Gallinarum, Give, Infantis and Pullorum. *Microbial Pathogenesis* 8(2): 101-107.
- Phornphisutthimas, S., Thamchaipenet, A. & Panijpan, B. 2007. Conjugation in *Escherichia coli*: A laboratory exercise. *Biochemistry and Molecular Biology Education* 35(6): 440-445.
- Puangserree, J., Prathan, R., Srisanga, S. & Chuanchuen, R. 2024. Molecular basis of the persistence of chloramphenicol resistance among *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. from pigs, pork and humans in Thailand. *PLoS ONE* 19(5): e0304250.
- ReAct. 2018. *Antibiotic Use in Food Animals: Malaysia Overview*. https://www.reactgroup.org/wpcontent/uploads/2018/11/Antibiotic_Use_in_Food_Animals_Malaysia_Overview_2018web.pdf (Diakses pada 18 September 2025).
- Ruppitsch, W. 2016. Molecular typing of bacteria for epidemiological surveillance and outbreak investigation. *Journal of Land Management, Food and Environment* 67(4): 199-224.
- Sales, A.J., Naebi, S., Nasiri, R. & Bannazadeh-Baghi, H. 2021. The antibiotic resistance pattern and prevalence of *Blatem*, *Blashv*, *Blactx-M*, *Blapse-1*, *Sipb/C*, and *Cmla/Tetr* genes in *Salmonella* Typhimurium isolated from children with diarrhea in Tabriz, Iran. *Int. J. Health Life Sci.* 7(4): e118523.
- Shafieifini, M., Sun, Y., Staley, Z.R., Riethoven, J.J. & Li, X. 2022. Effects of nutrient level and growth rate on the conjugation process that transfers mobile antibiotic resistance genes in continuous cultures. *Applied and Environmental Microbiology* 88(19): e01121-22.
- Shen, H., Namdarpour, F. & Lin, J. 2022. Investigation of online grocery shopping and delivery preference before, during, and after COVID-19. *Transportation Research Interdisciplinary Perspectives* 14: 100580.
- Singh, S., Yadav, A.S., Singh, S.M. & Bharti, P. 2010. Prevalence of *Salmonella* in chicken eggs collected from poultry farms and marketing channels and their antimicrobial resistance. *Food Research International* 43(8): 2027-2030.
- Sedrakyan, A., Ktsoyan, Z., Arakelova, K., Gevorgyan, Z., Zakharyan, M., Hakobyan, S., Hovhannisyann, A., Arakelyan, A. & Aminov, R. 2022. Molecular epidemiology and virulence of non-typhoidal *Salmonella* in Armenia. *International Journal of Molecular Sciences* 23(16): 9330.
- Smadi, H., Sargeant, J.M., Shannon, H.S. & Raina, P. 2012. Growth and inactivation of *Salmonella* at low refrigerated storage temperatures and thermal inactivation on raw chicken meat and laboratory media: mixed effect meta-analysis. *Journal of Epidemiology and Global Health* 2(4): 165-179.
- Souza, R.A., Pitondo-Silva, A., Falcão, D.P. & Falcão, J.P. 2010. Evaluation of four molecular typing methodologies as tools for determining taxonomy relations and for identifying species among *Yersinia* isolates. *Journal of Microbiological Methods* 82(2): 141-150.
- Sukri, A., Zulfakar, S.S., Taib, I.S.M., Omar, N.F. & Mohamad Zin, N. 2021. The high occurrence of multidrug-resistant *Salmonella* spp. isolated from raw chicken meat and contact surfaces at wet market in Malaysia. *Sains Malaysiana* 50(12): 3765-3772.
- Thung, T.Y., Mahyudin, N.A., Basri, D.F., Radzi, C.W.M., Nakaguchi, Y., Nishibuchi, M. & Radu, S. 2016. Prevalence and antibiotic resistance of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium in raw chicken meat at retail markets in Malaysia. *Poultry Science* 95(8): 1888-1893.
- Tyrväinen, O. & Karjaluohto, H. 2022. Online grocery shopping before and during COVID-19: A meta-analytical review. *Telematics and Informatics* 71: 101839.
- Utrachkij, F., Nakajima, C., Siripanichgon, K., Changkaew, K., Thongpanich, Y., Pornraungwong, S., Suthienkul, O. & Suzuki, Y. 2016. Genetic diversity and antimicrobial resistance pattern of *Salmonella enterica* Enteritidis clinical isolates in Thailand. *Journal of Infection and Chemotherapy* 22(4): 209-215.

- Versalovic, J., Koeuth, T. & Lupski, R. 1991. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research* 19(24): 6823-6831.
- Wang, X., Biswas, S., Paudyal, N., Pan, H., Li, X., Fang, W. & Yue, M. 2019. Antibiotic resistance in *Salmonella* Typhimurium isolates recovered from the food chain through national antimicrobial resistance monitoring system between 1996 and 2016. *Frontiers in Microbiology* 10: 985.
- Yang, B., Qu, D., Zhang, X., Shen, J., Cui, S., Shi, Y., Xi, M., Sheng, M., Zhi, S. & Meng, J. 2010. Prevalence and characterization of *Salmonella* serovars in retail meats of marketplace in Shaanxi, China. *International Journal of Food Microbiology* 141(1-2): 63-72.
- Zhang, Z., Suksawat, F., Zhang, X., Shu, X. & Angkititrakul, S. 2026. Clonal and plasmid-mediated dissemination of multidrug-resistant *Salmonella* Enteritidis in chicken production, Northeastern Thailand. *Pathogens* 15(1): 75.

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