

ارزیابی آزمایشگاهی تاثیرات مهارى مونولورین بر استافیلوکوکوس اورئوس در گوشت گاو

حسین تاجیک^{۱*}، سید مهدی رضوی روحانی^۱، فرنود شکوهی ثابت جلالی^۲، آرزو بیانی^۳

۱) گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

۲) گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

۳) دامپزشک

نویسنده رابط: حسین تاجیک. گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، صندوق پستی ۵۷۱۵۵-۱۱۷۷

تلفن: ۰۴۴۱-۲۷۷۰۵۰۸

tajik_h@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۹/۲۵ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۱۲/۱۵

چکیده:

زمینه و اهداف: مونولورین یکی از معروف‌ترین گلیسرول مونواسترهای اسید لوریک است که بر روی طیف گسترده‌ای از باکتری‌ها تاثیرات قابل ملاحظه‌ای دارد. جهت تقویت و گسترش اثرات مهارى آن از مواد شلاته کننده نظیر EDTA و مواد اسید کننده استفاده می‌شود. هدف از این مطالعه ارزیابی خاصیت مهارى مونولورین بر استافیلوکوکوس اورئوس و اثرات کاهش دهنده‌ی مواد آلی موجود در گوشت بر خواص ضدباکتریایی آن بود.

روش بررسی: حداقل غلظت مهارى مونولورین به تنهایی و همراه با EDTA و اسید لاکتیک بر استافیلوکوکوس اورئوس در محیط نورینت برات بررسی گردید. در مرحله بعد خواص ضد میکروبی مونولورین به تنهایی و همراه با اسید لاکتیک در گوشت استریل و همچنین خواص ضد میکروبی آن همراه با EDTA در گوشت غیر استریل ارزیابی شد. یافته‌های بدست آمده با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرف (ANOVA) ارزیابی شدند.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان داد حداقل غلظت کننده مونولورین بر روی استافیلوکوکوس اورئوس برابر ۳۲ میکروگرم در میلی لیتر بوده است. این میزان در اثر EDTA و اسید لاکتیک به‌طور معنی‌دار و به ترتیب به ۱۶ و ۸ میکروگرم در میلی‌لیتر کاهش یافته است ($p < 0.05$). یافته‌های حاصل از شمارش میکروبی در نمونه‌های گوشت استریل و غیر استریل موید تاثیر معنی‌دار افزودن EDTA و اسید لاکتیک در افزایش قدرت ضد میکروبی مونولورین بود ($p < 0.05$).

نتیجه گیری: مونولورین می‌تواند به عنوان یک ماده نگهدارنده و ممانعت کننده از فساد به گوشت گاو افزوده گردد. همچنین مواد آلی موجود در فرآورده‌های گوشتی می‌توانند خواص ضد میکروبی مونولورین را بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس کاهش دهند. در مقابل افزودن مواد شلاته کننده و اسید کننده به محیط‌های گوشتی می‌تواند به‌طور معنی‌دار سبب افزایش قدرت ضد میکروبی مونولورین بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس در مواد غذایی گردد.

کلید واژه‌ها: مونولورین، EDTA، اسید لاکتیک، استافیلوکوکوس اورئوس، گوشت

مقدمه:

دامی به این باکتری در مراحل مختلف تولید، فرآوری و آماده سازی و مصرف وجود داشته است (۱۰، ۱۱). خوشبختانه، مونولورین به واسطه داشتن خواص مهاري بر ضد باکتری های گرم مثبت تاثیرات ممانعتی قابل انتظاری بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس دارد. با این حال، ادعا شده که فعالیت ضد باکتریایی مونولورین و سایر مشتقات اسیدهای چرب می تواند تحت تاثیر مواد آلی (نظیر نشاسته، پروتئین های نظیر آلبومین سرم، لیپیدهای نظیر فسفولیپیدها و کلسترول) موجود در فرآورده های غذایی پروتئینی قرار گیرند (۴).

هدف از انجام این مطالعه تعیین اثرات مهاري مونولورین بر استافیلوکوکوس اورئوس در محیط کشت، گوشت استریل و غیر استریل گاو بود. تا از این طریق میزان تاثیر گذاری عوامل محیطی و به ویژه مواد آلی موجود در غذاهای پروتئینی بر قدرت ضد میکروبی مونولورین تعیین گردد.

مواد و روش ها:

مونولورین مورد استفاده در این پژوهش توسط پروفیسور J.J.Kabara از شرکت مد-چم (Med-Chem Labs, Inc, Illinois) اهداء گردید. برای تهیه محلول مونولورین از الکل اتیلیک به عنوان حلال استفاده شد.

باکتری ارزیابی شده در این مطالعه، استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923)، از کلکسیون میکروارگانیسم موسسه تحقیقاتی رازی اتباع گردید.

الف: بررسی اثر مونولورین بر روی استافیلوکوکوس اورئوس:

برای اندازه گیری حداقل غلظت مهار کننده (MIC) مونولورین از روش استاندارد رقیق سازی لوله ای (Standard tube dilution) استفاده شد. به این صورت که رقت های دو برابر (Twofold) از مونولورین در محیط کشت مایع تهیه گردید (۱۲). در سری لوله های حاوی محیط نوترینت برات (Nutrient Oxoid, UK) broth (۵ لوله و در هر یک ۲ میلی لیتر محیط کشت)، مونولورین به میزان ۴، ۸، ۱۶، ۳۲ و ۶۴ میکروگرم در میلی لیتر اضافه شد. به هر لوله ۰/۱ میلی لیتر از کشت ۲۴ ساعته استافیلوکوکوس اورئوس اضافه گردیده (کدورت کشت میکروبی با روش کدورت سنجی مک فارلند (MacFarland) و برابر لوله ۰/۵ تنظیم گشت. غلظت نهایی پس از رقیق سازی

گلیسرول مونولورات (Glycerol monolaurate)، در حقیقت ترکیب سورفکتانت طبیعی هستند که به طور طبیعی در شیر انسان و روغن نارگیل با غلظت های فراوان یافت می شود. FDA (Food and Drug Administration) استفاده از آن را برای مصارف خوراکی و آرایشی مجاز دانسته است (۱). مونولورین، در بین تمامی مشتقات اسیدهای چرب، یکی از قوی ترین خواص ضد میکروبی را دارا می باشد. مونولورین مانند هر منواستر اسید چرب، یک ترکیب لیپوفیلیک باشد و تاثیرات مهاري آن نیز ناشی از تداخل آن با غشاء سیتوپلاسمی میکروارگانیسم ها است (۲). اگرچه که مکانیسم فعالیت ضد میکروبی اسیدهای چرب و مشتقات آنها هنوز به خوبی شناخته نشده است ولی اعتقاد بر آنست که این خواص عمدتاً در اثر از هم گسیختگی دیواره سلولی و نفوذ پذیر نمودن سد دفاعی آن از سوی و از سوی دیگر مهار برخی اسیدهای آمینه است (۳). فعالیت مونولورین در همراه عواملی مانند افزایش درجه حرارت، انجماد، مواد اسیدی کننده، مواد شلاته کننده مانند EDTA، افزایش می یابد. نظر بر این است که عوامل مذکور میزان دسترسی مونولورین به غشاء سیتوپلاسمی را افزایش می دهند (۴). مونولورین سبب مهار تولید اگزوتوکسین (Exotoxin) باکتری های گرم مثبت نظیر استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*)، استرپتوکوک بتاهمولیتیک (*Streptococci β-hemolytic*) و باسیلوس آتراسیس (*Bacillus anthracis*) می شود (۳ و ۵). مونولورین همچنین سبب مهار القاء مقاومت نسبت به ونکومايسين در اتروکوکوس فکالیس (*Enterococcus faecalis*) می گردد. نشان داده شده است که مونولورین سبب تغییرات غشائی و فعال سازی سلول های دفاعی T می گردد. تمامی این فعالیت ها را مرتبط با درگیری مونولورین با سیستم های هدایت سیگنال وابسته به غشاء می دانند (۸، ۹). تحقیقات نشان داده اند که دودسیل گلیسرول (Dodecylglycerol) (متناظر اتری مونولورین) قادر است با فعال نمودن نوعی آنزیم پروتئولیتیک مسئول فعال نمودن اتولیزین (Autolysin)، سبب خودتخریبی دیواره سلولی در اتروکوکوس فاسیوم (*Enterococcus faecium*)، و سبب مهار بیوسنتز اسید گلیسرولیپید و لیپوتیکوئیک در استرپتوکوکوس موتانتس شود (۴).

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم ترین عوامل بروز مسمومیت های غذایی با منشاء فرآورده های پروتئین حیوانی است. اخیراً گزارشات متعددی از بروز آلودگی های فرآورده های

کشت سطحی شمارش شد (۱۱). یک نمونه از گوشت استریل بدون مونولورین که با استافیلوکوکوس اورئوس تلقیح شده بود به عنوان شاهد آزمایش گردید.

در ادامه برای بررسی تاثیر همراهی اسید لاکتیک و مونولورین بر باکتری مورد آزمون در محیط گوشت چرخ کرده استریل، به ۱۰ گرم گوشت چرخ کرده استریل ۰/۱ میلی لیتر از کشت باکتری اضافه شد. سپس مونولورین (۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm (میکروگرم در گرم گوشت) اضافه شد و در ادامه میزان pH مخلوط توسط اسید لاکتیک به مخلوط به ۵ کاهش می‌یافت.

د: اثر مونولورین روی گوشت چرخ کرده غیر استریل بدین منظور مقادیر ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm (میکروگرم در گرم گوشت) مونولورین به گوشت چرخ کرده غیر استریل اضافه شد و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. تعداد کلی میکروبی در فواصل ۱، ۳، ۵ و ۷ روز در محیط آگار خوندار و با استفاده از روش کشت سطحی شمارش شد (۱۱).

ر: اثر ضد میکروبی مونولورین به همراه EDTA روی گوشت چرخ کرده غیر استریل همانند بند د عمل شد. با این تفاوت که مونولورین و به همان میزان EDTA اضافه شدند. نمونه شاهد فاقد مونولورین و EDTA بود.

میانگی‌ها با آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) مقایسه شد. حداقل اختلاف معنی‌دار با $p < 0.05$ مورد پذیرش بود. آزمون مذکور از طریق نرم افزار (Sigma Scans Pro 11.0, SPSS Science, Chicago, IL) انجام شد.

یافته‌ها:

میزان حداقل غلظت مهارکننده مونولورین بر روی استافیلوکوکوس اورئوس در محیط کشت نوترینت برات (NB)، ۳۲ میکروگرم / میلی لیتر بود. حداقل غلظت مهارکننده مونولورین همراه با EDTA بر استافیلوکوکوس اورئوس به طور معنی دار کاهش یافت و به ۱۶ میکروگرم / میلی لیتر رسید ($p < 0.05$). حداقل غلظت مهارکننده مونولورین در محیط اسیدی شده با اسید لاکتیک بر روی باکتری آزمون در محیط کشت نوترینت برات (NB) کاهش یافت و به ۸ میکروگرم / میلی لیتر رسید ($p < 0.05$). نتایج بدست آمده از شمارش کلی میکروبی در گوشت استریل و غیر استریل نشان دهنده تاثیر

مجدد به $10^4 \times 8/3$ باکتری در هر میلی لیتر رسانیده شد. در ادامه مجموعه آنها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور (۳۷ درجه سانتی گراد) قرار داده شدند. کمترین غلظت مونولورین که باکتری در آن رشد نمود (فاقد کدورت) به عنوان MIC مونولورین تلقی می‌گردید. به طور همزمان لوله شاهد بدون مونولورین نیز جهت مقایسه رشد باکتری با سایر لوله‌ها تهیه گردید (۱۲).

ب: بررسی اثر توام مونولورین و EDTA بر روی استافیلوکوکوس اورئوس مانند مرحله الف، ۵ لوله حاوی محیط NB، با همان غلظت‌های مونولورین و کشت ۲۴ ساعته استافیلوکوکوس اورئوس آماده شد. سپس مقادیر یکسانی از EDTA به غلظت ۴ میکروگرم / میلی لیتر به هریک از لوله‌ها افزوده شد و مطابق بند الف انکوبه گردید.

کمترین غلظت مونولورین که باکتری در آن رشد نمود (فاقد کدورت) به عنوان MIC این ماده شیمیایی تلقی می‌گردید. به طور همزمان لوله شاهد بدون مونولورین و EDTA تهیه شد. برای قرائت نتایج مطابق بند الف عمل شد (۱۲).

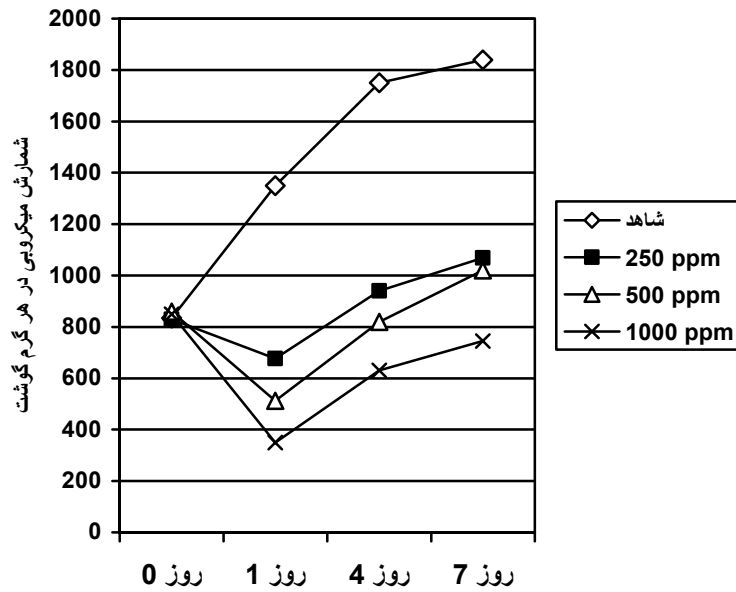
بررسی اثر توام مونولورین و اسید لاکتیک بر روی استافیلوکوکوس اورئوس:

نظیر مراحل قبل، لوله‌های حاوی محیط NB و مونولورین آماده شد. سپس به هر لوله ۰/۲ میلی لیتر محلول اسید لاکتیک ۹۹ درصد (pH = ۲) اضافه شد و به این ترتیب pH محیط به ۵ رسید. نهایتاً مانند مراحل بعد از افزودن کشت استافیلوکوکوس اورئوس و انکوباسیون آن نتایج قرائت شد. همزمان لوله شاهد بدون مونولورین و اسید لاکتیک تهیه گردید (۱۲).

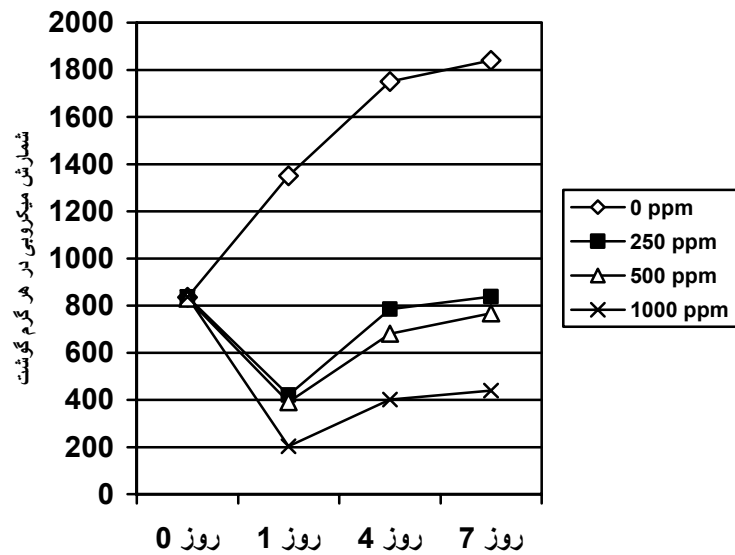
ج: اثر مونولورین روی گوشت استریل تلقیح شده با استافیلوکوکوس اورئوس به منظور حذف آلوده کننده‌هایی غیر از باکتری مورد آزمون، نمونه گوشت چرخ شده بدون چربی پیش از شروع آزمایش در حرارت ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل شد. مونولورین به نسبت ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ ppm (میکروگرم در هر گرم گوشت) با گوشت مخلوط گردید. جهت سهولت کار ابتدا مونولورین با آرد با نسبت ۱ به ۹ مخلوط شد. از این ترکیب با در نظر گرفتن غلظت موثر مورد نظر مونولورین به گوشت اضافه گردید. سپس ۰/۱ میلی لیتر از کشت ۲۴ ساعته باکتری (لوله شماره ۰/۵ مک فارلند) به ۱۰ گرم گوشت چرخ کرده استریل حاوی مونولورین اضافه شد. در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. در فواصل روزهای ۱، ۴ و ۷ تعداد باکتری در محیط آگار خوندار و با استفاده از روش

(نمودارهای ۱، ۲، ۳، ۴).

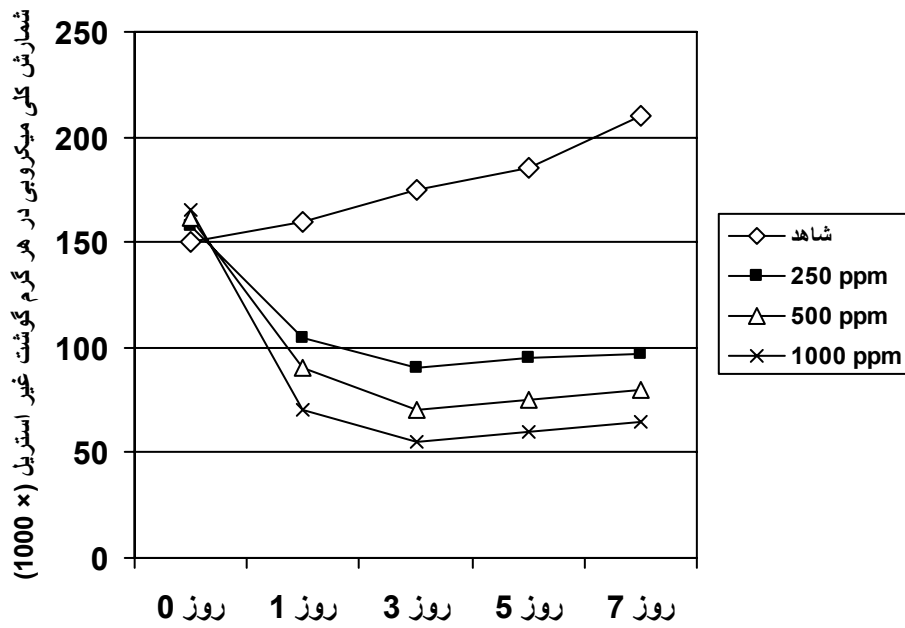
معنی دار همراهی اسید لاکتیک و EDTA با مونولورين در کاهش بار میکروبی محیط‌های مذکور بود ($p < 0.05$)



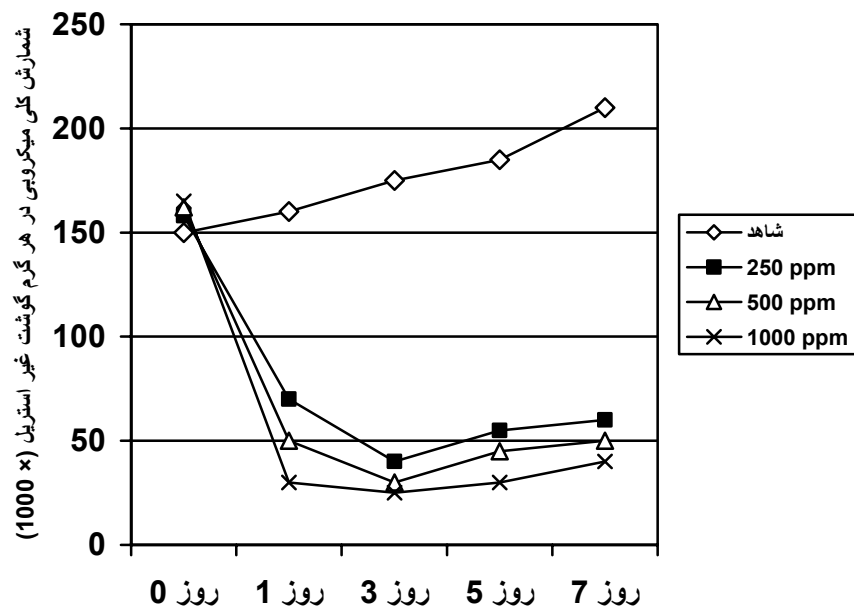
نمودار ۱: شمارش استافیلوکوکوس اورئوس در هر گرم گوشت استریل حاوی غلظت‌های مشخص از مونولورين



نمودار ۲: شمارش استافیلوکوکوس اورئوس در هر گرم گوشت استریل حاوی غلظت‌های مشخص از مونولورين به همراه اسید لاکتیک



نمودار ۳: شمارش استافیلوکوکوس اورئوس در یک گرم گوشت غیر استریل حاوی غلظت‌های مشخص از مونولورین



نمودار ۴: شمارش استافیلوکوکوس اورئوس در یک گرم گوشت غیر استریل حاوی غلظت‌های مشخص از مونولورین همراه با EDTA

بحث:

نتایج نشان دهنده آنست که مونولورين دارای اثرات قابل توجه مهارى بر روى استافیلوکوکوس اورئوس است. البته تاثیر مثبت مونولورين بر روى باکتری‌های گرم مثبت، توسط تعدادی از محققين مورد تائيد قرار گرفته است (۱۶،۱۵). بر مبنای نتایج حاصل از این مطالعه، MIC مونولورين در برابر باکتری مورد آزمون معادل ۳۲ میکروگرم / میلی لیتر است. این یافته‌ها با گزارش رضوی روحانی و گریفیت (۱۹۹۴) مطابقت دارد (۱۴). طیف محدود تاثیرات ضد باکتریایی مونولورين بر روى استافیلوکوکوس اورئوس را، مانند سایر باکتری‌های گرم مثبت، مرتبط با ساختمان دیواره سلولی آنها می‌دانند (۹). با اینحال نظر بر آنست که حضور عوامل شلاته کننده نظیر EDTA، به واسطه ترکیب با کاتیون پل‌های ارتباطی بین لایه لیپو پلی ساکاریدی و پپتیدوگلیکان باکتری‌های گرم منفی، سبب سست و ناپایدار شدن غشاء شده و از این طریق زمینه حساسیت آنها را نیز به تاثیرات مهارى مونولورين فراهم می‌آورند (۶).

نتایج این مطالعه در مورد حداقل غلظت مهار کننده مونولورين همراه EDTA نشان داد MIC مونولورين به نصف کاهش یافته است (۱۶ میکروگرم / میلی لیتر). یافته مذکور با گزارشات موجود در این زمینه مطابقت دارد (۶). نتیجه دیگر این مطالعه تاثیر سینرژيست اسید لاکتیک بر خاصیتی ضد میکروبی مونولورين بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس است. به گونه‌ای که سبب کاهش MIC مونولورين به حد ۸ میکروگرم / میلی لیتر می‌شود. این یافته مطابق با نظر برخی محققين است که تاثیر ضد میکروبی اسیدهای چرب را مربوط به مولکول غیر یونیزه آنها می‌دانند، که به صورت غیر یونیزه دارای بیشترین اثر ممانعت کنندگی می‌باشند. از این رو می‌توان انتظار داشت که با کاهش pH محیط، باعث کاستن از درجه یونیزاسیون اسیدهای چرب شده و از این طریق تاثیر ضد میکروبی آنها افزایش یابد (۱۷).

هدف دیگر از این مطالعه بررسی اثر مواد آلی موجود در گوشت بر تاثیر ضد میکروبی مونولورين بود. نتایج نشان دهنده آنست که کاربرد مونولورين به تنهایی سبب کاهش بار میکروبی در گوشت‌های استریل تلقیح شده با استافیلوکوکوس اورئوس می‌گردد. این تاثیر به نحوی است که افزایش غلظت مونولورين سبب کاهش بیشتر شمارش میکروبی در گروه‌های تیمار شده در مقایسه با گروه شاهد است. البته میزان مونولورين مورد نیاز

برای کاهش بار میکروبی بسیار بیشتر از MIC مونولورين می‌باشد. این مطلب را می‌توان به تاثیر مواد آلی (نظیر نشاسته، پروتئين‌ها، فسفولیپیدها و کلسترول) موجود در گوشت نسبت داد، که سبب کاهش تاثیر ضد میکروبی مونولورين در محیط گوشت می‌شوند. این یافته با گزارشات دیگر موجود در این زمینه تطابق دارد (۱۸،۴). استفاده از اسید لاکتیک همراه با مونولورين سبب کاهش شمارش میکروبی در گوشت استریل نسبت به استفاده از مونولورين به تنهایی شد. البته کاهش شمارش میکروبی را می‌توان به کاهش یونیزاسیون اسیدهای چرب مانند مونولورين در محیط اسیدی نسبت داد. همانطور که بیشتر اشاره شد می‌تواند سبب افزایش خاصیت ضد میکروبی آنان گردد (۱۷).

موضوع این مطالعه بررسی اثر ممانعت‌کنندگی مونولورين بر روى فلور طبیعی گوشت چرخ کرده و افزایش طول مدت نگهداری گوشت بود. بر اساس یافته‌های حاصله، شمارش کلی میکروبی با افزایش غلظت مونولورين کاهش می‌یابد و همچنین با گذشت زمان میزان بار میکروبی گوشت‌هایی که مونولورين به آنها اضافه می‌شود نسبت به گروه شاهد افزایش کمتری پیدا می‌کند. با عنایت به این که مونولورين تاثیرى مهارى فوق العاده‌ای بر باکتری‌های گرم مثبت دارد و به دلیل وجود دیواره لیپو پلی ساکاریدی تاثیر ضعیفی بر باکتری‌های گرم منفی دارد (۱۸،۱۵)، کاهش شمارش کلی میکروبی در نمونه‌های گوشت غیر استریل حاوی مونولورين را می‌توان عمدتاً در اثر کاهش باکتری‌های گرم مثبت از کل جمعیت میکروبی قلمداد کرد.

تاثیر مهارى انتخابی مونولورين بر روى باکتری‌های گرم مثبت می‌تواند منجر به کاهش قدرت رقابت باکتری‌های گرم مثبت و منفی به نفع باکتری‌های گرم منفی گردد. امر می‌تواند، در اثر فعالیت باکتری‌های گرم منفی نظیر *پسودوموناس آئروژینوزا*، سبب فساد فرآورده‌های گوشتی نگهداری شده در سردخانه‌ها و یخچال‌ها گردد (۱۹). با افزودن یک ماده شلاته کننده مانند EDTA، با نفوذ پذیر نمودن دیواره لیپو پلی ساکاریدی باکتری‌های گرم منفی نسبت به مونولورين، آنها را به تاثیر ضد میکروبی مونولورين آسیب پذیرتر نمود. نتایج این مطالعه نشان داد شمارش کلی میکروبی در نمونه‌های حاوی ترکیب مونولورين و EDTA نسبت به مونولورين به تنهایی کاهش بیشتر داشته. این کاهش بار میکروبی را می‌توان به افزایش تاثیر مونولورين روى باکتری‌ها باکتری‌های گرم منفی در حضور ماده شلاته کننده (EDTA) دانست.

نتیجه‌گیری:

میکروبی آن افزایش می‌یابد. لذا، می‌توان از آن در قالب یک نگهدارنده قوی و ایمن مواد غذایی به‌ویژه در غذاهای گوشتی و همچنین یک غذا-دارو (Medicinal food) در رژیم‌های تغذیه-درمانی بهره‌های فراوان جست.

مونولورین یک ماده طبیعی و مغذی با خواص ضد میکروبی و طیف محدود است، که خاصیت آن را می‌توان به کمک مواد اسیدی کننده و یا شلاته‌کننده تقویت نمود. در نهایت طیف ضد

فهرست مراجع:

- Kabara JJ. Food-grade chemicals for use in designing food preservatives. *J Food Prot*, 1981; **44**:633-647.
- Ruzicka J, Velclová K, Janis R, Krejci J. Antimicrobial effects of 1-monoacylglycerols prepared by catalytic reaction of glycidol with fatty acids. *J Europe Food Res Tech*, 2003; **217**(4):329-331.
- Schlievert PM, Deringer JR, Kim MH, Projan SJ, Novick RP. Effect of glycerol monolaurate on bacterial growth and toxin production. *Antimicrob Agents Chemother*, 1992; **36**:626-31.
- Dufour M, Manson JM, Bremer PJ, Dufour JP, Cook GM, Simmonds RS. Characterization of Monolaurin Resistance in *Enterococcus faecalis*. *Appl Environ Microbiol* 2007; **9**: 5507-5515.
- Projan SJ, Brown-Skrobot S, Schlievert PM, Vandenesch F, Novick RP. Glycerol monolaurate inhibits the production of beta-lactamase, toxic shock toxin-1, and other staphylococcal exoproteins by interfering with signal transduction. *J Bacterial* 1994; **176**:4204-9.
- Pechous R, Ledala N, Wilkinson BJ, Jayaswal RK. Regulation of the expression of cell wall stress stimulon member gene *msrA1* in methicillin-susceptible or -resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48**:3057-63.
- Vetter S, Tripp TJ, Schlievert PM. Glycerol monolaurate inhibits virulence factor production in *Bacillus anthracis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; **49**:1302-05.
- Witcher K J, Novick RP, Schlievert PM. Modulation of immune cell proliferation by glycerol monolaurate. *Clin Diagn Lab Immunol*, 1996; **3**:10-13.
- Ruzin A, Novick RP. Glycerol monolaurate inhibits induction of vancomycin resistance in *Enterococcus faecalis*. *J Bacteriol*, 1998; **1**: 182-185.
- Eidson M, Sewell CM, Graves G, Olson R. Beef jerky gastroenteritis outbreaks. *J Environ Health*, 2000, **62**:32-34.
- De Boer E, Zwartkruis-Nahuis JTM, Wit B, Huijsdens XW, De neeling AJ, Bosch T, et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. *Int J Food Microbiol*, 2008, **134**: 52-56.
- Baron EJO, Peterson LR, Finegold SM. Baily and Scott's Diagnostic Microbiology. Toronto, Mosbey, 1994, pp:168-176.
- Harrigan WF, Mac Cance ME. Laboratory methods in food and dairy microbiology. London, Academic press, 1976; pp: 157-158.
- Razavi Rohani SM, and Griffiths MW. The effect of mono and polyglycerol laurate on spoilage and pathogenic bacteria associated with foods. *J Food Safety*, 1994; **14**: 131-151.
- Kabara JJ, Orth DS. Preservative-free and self-preserving cosmetics and drugs principles and practice. NewYork, Marcel Dekker, 1997; pp: 119-134.
- Peterson ML, Schlievert PM. Glycerol Monolaurate Inhibits the Effects of Gram Positive Select Agents on Eukaryotic Cells. *Biochem*, 2006; **45**(7): 2387-2397.
- Verhaegh EGA, Marshall DL, Oh DH. Effect of monolaurin and lactic acid on *Listeria monocytogenes* attached to catfish filets. *Int J Food Microbiol*, 1999; **29**, (2-3):403-410.
- Kabara JJ. Inhibition of *Staphylococcus aureus* in a model agar-meat system by monolaurin: A research note. *J Food Safety*, 2007; **6** (3):197 - 201.
- Mbandi E, Brywig M, Shelef LA. Antilisterial effects of free fatty acids and monolaurin in beef emulsions and hot dogs. *Food Microbiol*, 2004; **21**(6): 815-818.