



ORIGINAL ARTICLE

Antibacterial Effect of Various Fermentation Products and Identification of Differentially Expressed Genes of *E. coli*

Jihye Heo

Department of Biomedical Laboratory Science, Donggang University, Gwangju, Korea

다양한 발효액의 항균효과와 대장균의 유전적 변화에 미치는 영향

허지혜

동강대학교 임상병리학과

ARTICLE INFO

Received April 11, 2022
Revised 1st May 3, 2022
Revised 2nd May 13, 2022
Accepted May 14, 2022

Key words

Differentially expressed genes
Escherichia coli
Fermentation
Fig vinegar

ABSTRACT

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*), *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) are typical opportunistic pathogens. Moreover, these bacteria are known to possess multidrug-resistant (MDR) properties. This study investigates the antimicrobial activity of six fermented products, which have varying efficacies against *P. aeruginosa*, *E. coli*, and *S. aureus*. To identify novel candidate genes, differential expression analysis was performed using an annealing control primer. In the disk diffusion method, Fig vinegar (FV) and *Diospyros kaki* Thunb vinegar (DTV) showed the greatest increase in inhibition compared to other fermented products, whereas fermented Korean traditional nature herb (FKTNH) had no antibacterial effect. This study identified down-regulation of *Escherichia coli* O157:H7 *ompW* gene for outer membrane protein W, whereas gene for synthetic construct Lao1 gene for L-amino acid oxidase were up-regulated in *E. coli* treated with 5% FV. Consuming fermented vinegar helps prevent bacterial infections. Especially, FV and DTV are potentially useful alternative natural products for multidrug resistance. Furthermore, both are expected to be used as effective natural antimicrobial agents, such as disinfectants.

Copyright © 2022 The Korean Society for Clinical Laboratory Science.

서론

평균수명이 늘어나고, 건강한 100세 시대를 추구하는 “well-aging” 을 위해 건강한 생활을 하고자 올바른 식습관을 바탕으로 양질의 영양소를 섭취하고자 하며, 특히 한국인이 전통의 방법으로 만들어 섭취한 김치, 청국장을 비롯한 각종 장류에 대한 효능이 입증되면서 ‘발효’에 대한 관심이 높아지고 있다. 발효(fermentation)의 정의를 살펴보면 “미생물이 유기 화

합물을 분해하여 알코올류, 유기산류, 이산화탄소를 생산하는 과정이다[1].” 발효의 방식으로 만들어진 음식은 특히 장건강에 유익하게 작용하며, 건강한 장으로부터 면역력이 증강되어 항암, 항염증, 항산화 등 다양한 기능이 입증되었다[2, 3].

무화과(*Ficus carica L.*)는 아열대성의 뽕나무과에 속하는 식물로서 우리나라에서는 주로 전남 영암, 경남, 남해안, 제주 지역에서 재배를 하고 있다. 무화과는 무기질, 식이섬유, 폴리페놀, 칼슘이 풍부하며 소화 촉진, 변비 개선, 피부 발진 등에 다방면으로 효과가 있는 것으로 알려져 있으며[4, 5] 곰보배추는 배추 잎과 비슷하면서 울퉁불퉁하여 붙여진 이름으로 추운 겨울철에도 잘 견디는 강한 생명력을 가져 설견초(雪見草), 동생초(冬生草)로 불리기도 하였다. 곰보배추에는 사포닌 성분, flavonoid

Corresponding author: Jihye Heo

Department of Biomedical Laboratory Science, Donggang University, Gwangju 61200, Korea

E-mail: jhheo0812@hanmail.net

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4788-2576>

성분이 풍부하여 염증, 배인 상처, 아토피에 탁월한 효과가 있다고 알려져 있다[6]. 파프리카(*Capsicum annuum L.*)는 단맛이 있는 고추로 분류되는 작물이다. 파프리카는 수분을 다량 함유하며 ascorbic acid, tocopherol, flavonoid, carotinoid 등이 풍부하여 흔히, 비타민 보석이라고 칭한다[7]. 감(*Diospyros kaki L.*)은 주로 한국, 중국, 일본 등 아시아 지역에서 주로 재배되는 과실이다[8]. 감은 크게 뚝은 감과 단감으로 나누며, 대봉감과 반시는 뚝은 감에 속한다. 감의 과실 내에는 페놀성 화합물인 epicatechin, epigallocatechin, gallic acid, catechin, catechin gallate이 풍부하며 노화방지, 심혈관 질환 예방, 항암효과, 백혈병 세포 증식 억제 등의 효능이 입증되었다[9, 10].

위의 식재료에 대한 추출물이 가진 다양한 효능과 항균능은 이미 많은 연구결과를 통해 입증된 바 있지만 발효물에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 그러므로 전통의 방식으로 발효한 각종 발효물을 대표적인 기회감염균인 포도알균, 녹농균, 대장균을 대상으로 항균효과를 확인하고자 한다. 더불어 발효물을 섭취하였을 때 직접적인 영향을 미칠 수 있는 대장균을 대상으로 유전적인 발현의 변화를 관찰하고자 한다.

재료 및 방법

1. 대상균주

Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922)와 *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)를 사용하였다. Tryptic soy broth에 접종 후 사용하여 산소성 배양기(Nuaire, Nu-5700, Plymouth, USA)에서 37°C로 18~24시간 배양을 하였다.

2. 사용배지

항균활성 측정을 위해서 tryptic soy agar (TSA)와 mueller-hinton agar (MHA)를 121°C 15분간 가압증기멸균(Han Yang Scientific Equipment Co., Ltd, Seoul, Korea)하여 사용하였다.

3. 발효액

무화과발효소(fermented fig, FF), 무화과 식초(fig vinegar, FV), 곰보배추발효소(fermented morel cabbage, FMC), 파프리카발효소(fermented paprika, FP), 대봉감식초(*Diospyros kaki* thumb vinegar, DTV), 토종약초발효소(fermented Korean traditional nature herb, FKTNH)의 총 6가지 발효액은 신유토토종약초영농조합에서 제공받아 사용하였다.

4. 디스크 확산법 측정

CLSI 가이드라인 M07-A10 [11]에 따라 대상균주를 MHA에 계대 한 후 37°C 배양기(Nuaire, Nu-5700, Plymouth, USA)에서 18시간 동안 배양 한 후 단일집락을 취하여 mueller hinton broth 2 mL에 현탁시켜 densicheck 탁도계(bioMerieux, Marcy l'Etoile, France)로 0.5 McFarland 표준값을 측정 하였다. 이 균을 MHA에 멸균된 면봉으로 고르게 분주하였다.

각각의 발효액을 멸균된 6 mm 디스크 종이에 30 µL씩 분주 한 뒤 3시간 동안 흡수시키는 방법으로 총 3회에 걸쳐 건조된 디스크를 MHA에 멸균된 핀셋으로 올려두었다.

대조 항균제 디스크는 tobramycin과 gentamycin (Becton dickinson, Sensi-DISC, USA) 10 µg을 사용하였다. 산소성 37°C 배양기(Nuaire, Nu-5700, Plymouth, USA)에서 18시간 배양하였다. 배양 후 디스크 주위의 억제대 직경(mm)을 caliper를 이용하여 측정하여 항균제 감수성 유무를 판단하였다. 이와 같은 실험은 3회 반복하여 평균값을 도출하였다.

5. 유전자발현 차이 관찰

5% 무화과식초가 포함된 기본영양배지에서 대장균을 배양 시, 성장속도는 다소 느리지만 집락의 형태는 동일한 점을 확인 한 후, 매일 18~20시간씩 21일간 계대배양한 대장균과 5% 무화과식초가 포함된 기본영양배지에서 계대배양한 대장균에 대한 유전자발현 차이를 분석하였다. 각각의 대장균에서 RNA추출 키트(Bioneer, Daejeon, Korea)를 이용하여 total RNA를 추출하였다. 이어서 추출한 RNA를 3 µg 농도로 취하여 reaction buffer, 2mM dNTPs, dT-ACP1, RNase inhibitor (Bioneer) 그리고 MMLV reverse transcriptase (Bioneer)와 42°C 90 분간 반응 시켜 1차적으로 cDNA를 합성하였다. 그 후 50 ng cDNA와 10 µM dT-ACP2를 1 µL취하고, 10 µM arbitrary ACP primer와 2X direct master mix (Komabiotech)를 94°C 1분, 50°C 3분, 72°C 1분간 시행하여 2차적으로 cDNA를 합성하였다. 중합효소연쇄반응은 94°C 40초, 65°C 40초, 72°C 49초를 40번 반복하고, 72°C에서 5분간 최종 연장을 하였다.

2% agarose gel에서 50V로 70분간 전기영동 후 green star nucleic acid staining solution으로 염색 후 유전자발현의 차이를 보이는 밴드를 gel document system (Kodak, EL logic 100 Image System, Japan)으로 관찰하였다.

유전자 발현차이를 보이는 밴드에서 해당 DNA를 추출하여 T-blunt PCR cloning kit (Solgent)를 이용하여 클로닝 후 plasmid를 추출하여 Bioneer사에 sequencing을 의뢰하였

다. 염기서열 분석과 상동성 비교는 GenBank (NIH, MD, USA)를 이용하였다.

결 과

1. 디스크 확산법에 의한 항균효과 관찰

디스크 확산법에 의한 각 발효액의 항균력은 Table 1과 같이 억제대 크기를 나타내었다. 그 중에서 무화과식초와 대봉감식초의 항균효과가 가장 우수한 것으로 나타났으며, 토종약초발효소는 항균효과가 가장 미미하였다. 무화과 식초는 평균 녹농균에서 23.23 mm, 대장균에서 22.02 mm, 포도알균에서 19.91 mm의 크기로 억제대를 형성하였다. 대봉감식초는 녹농균에서 21.99 mm, 대장균에서 19.30 mm, 포도알균에서 19.55 mm의 크기로 억제대를 형성하였다(Figures 1-3).

대조균으로 그람양성알균, 그람음성막대균에 모두 항균력을 가지는 tobramycin과 비교하였을 때 대등한 효과를 보였다. 더불어 검사의 정도관리는 CLSI 가이드라인 M100-S31 [12]에 따라 확인하였다.

가장 우수한 항균능이 관찰되는 pH3의 무화과식초를 보다 강한 산성의 pH2로 측정되는 일반 양조식초와 항균능을 비교한 결과, 양조식초는 항균능이 관찰되지 않은 반면 무화과식초는 19.36 mm의 억제대를 형성하며 Gentamycin과 상응하는 항균능을 보였다(Figure 4).

2. 무화과식초로 인한 대장균에서 발생하는 유전자발현 변화

대장균의 무화과식초로 인한 유전적 변화를 관찰하기 위해 21일 동안 대장균을 기본영양배지와 5% 무화과식초가 함유

된 기본영양배지에 계대배양 하였다. Annealing control primer를 기반으로 DDRT-PCR (differential display reverse transcription-polymerase chain reaction)을 이용하여 무작위 프라이밍 방식으로 유전자발현의 차이를 분석하였다. 그 결과 Figure 5와 같이 밴드의 진하기에 따라 특이적으로 발현이 감소하거나, 증가하는 유전자를 찾을 수 있었다.

무화과 식초를 처리하여 21일간 계대배양한 대장균에서 *Escherichia coli* O157:H7 *ompW* gene for outer membrane protein W 유전자의 발현은 약하게 감소하였으며, synthetic construct *Lao1* gene for L-amino acid oxidase, complete cds 유전자 발현은 증가하였다(Table 2).

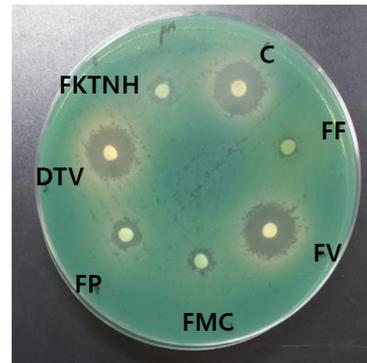


Figure 1. Antimicrobial inhibition zone of six kinds of fermented products against *P. aeruginosa* determined by disk diffusion method. Abbreviations: C, Control (10 µg tobramycin); FF, Fermented Fig; FV, Fig vinegar; FMC, Fermented Morel Cabbage; FP, Fermented Paprika; DTV, *Diospyros kaki* Thunb vinegar; FKTNH, Fermented Korean traditional nature herb.

Table 1. Antimicrobial activity of 90 µL of six kinds of fermented products determined by disk diffusion method

Bacteria	Inhibition zone (mm)						
	C	FF	FV	FMC	FP	DTV	FKTNH
<i>S. aureus</i>	26.10±3.98	12.71±4.58	19.91±1.14	13.09±2.61	13.67±1.59	19.55±2.04	ND
<i>P. aeruginosa</i>	22.24±1.67	13.92±1.34	23.23±2.07	15.69±1.90	12.87±2.53	21.99±3.73	15.36±2.19
<i>E. coli</i>	25.51±2.31	ND	22.06±1.93	ND	ND	19.30±0.26	ND

Abbreviations: C, Control (10 µg tobramycin); FF, Fermented Fig; FV, Fig vinegar; FMC, Fermented Morel Cabbage; FP, Fermented Paprika; DTV, *Diospyros kaki* Thunb vinegar; FKTNH, Fermented Korean traditional nature herb; ND, not detected.

Table 2. Sequence similarities of differentially expressed genes

Clone	Identity genebank	Accession No.	Identity (%)
ACP20-1 (U)	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 <i>ompW</i> gene for outer membrane protein W	AB287438	98.25
ACP20-2 (F)	Synthetic construct <i>Lao1</i> gene for L-amino acid oxidase, complete cds	LC556326	96.34

Abbreviations: ACP, Annealing Control Primer; U, Untreated; F, treated with 5% FV.

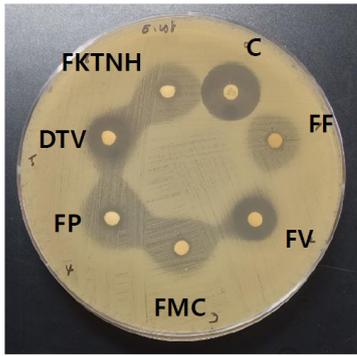


Figure 2. Antimicrobial inhibition zone of six kinds of fermented products against *E. coli* determined by disk diffusion method. Abbreviations: See Figure 1.

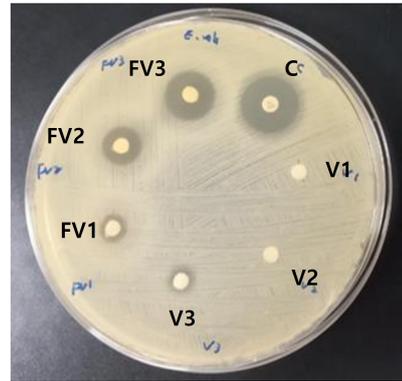


Figure 4. Antimicrobial inhibition zone of Fig vinegar (FV) and brewing vinegar (BV) against *E. coli* determined by disk diffusion method. Abbreviations: C, Control (10 µg gentamycin); V1, 30 µL BV; V2, 60 µL BV; V3, 90 µL BV; FV1, 30 µL FV; FV2, 60 µL FV; FV3, 90 µL FV.

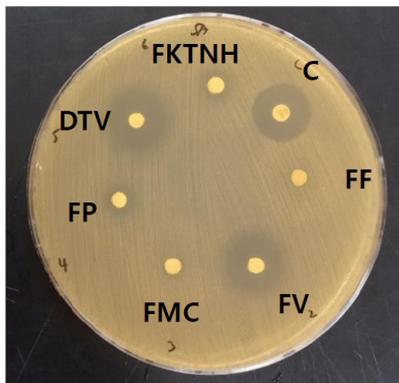


Figure 3. Antimicrobial inhibition zone of six kinds of fermented products against *S. aureus* determined by disk diffusion method. Abbreviations: See Figure 1.

고찰

포도알균은 그람양성균으로, 현미경으로 관찰 시 마치 포도알이 모여있는 모양처럼 보여서 포도알균이라고 이름을 붙였다. 대부분 토양이나 생활 속 사물에 많이 분포하고 있고, 여러 생물체의 점막이나 피부에서 흔히 찾아볼 수 있다. 그러나 점막이나 피부에 상처가 있을 때 포도알균이 몸 안으로 침투하여 감염을 일으킬 수 있다[13, 14]. 녹농균은 자연환경에서 자주 발견되는 호기성의 그람음성균이다. 건강한 사람에게는 큰 영향을 미치지 않지만 다양한 독력인자를 분비하기도 하고, 불리한 영양 환경 조건에서도 증식할 수 있기 때문에 유의해야 한다[15, 16]. 대장균은 그람음성균으로 대장과 소장에서 많이 볼 수 있는 세균이다. 그러나 오염된 생 채소, 덜 익힌 육류 섭취로 인해 Shiga toxin을 분비하는 *E. coli* O157:H7에 감염되면 식중독을 유발하여 출혈성 설사와 경련을 동반한 복통 증상이 나타난다[17]. 그 외에도 대장균의 병원성 인자로 인해 요로감염이 유발되기도

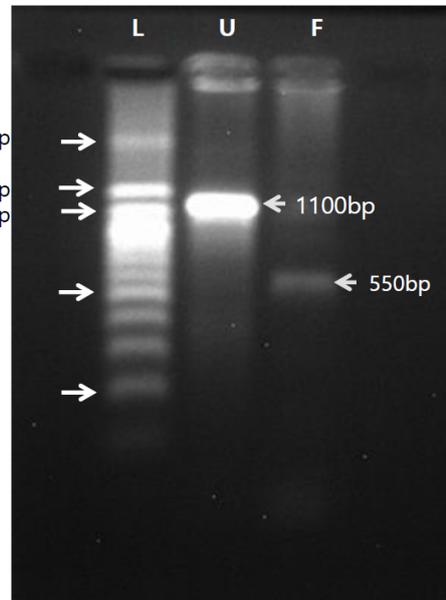


Figure 5. Differentially expressed genes of *E. coli* and *E. coli* treated with 5% FV. Abbreviations: U, Untreated; F, treated with 5% FV; L, 100 bp DNA ladder.

한다[18].

본 연구는 포도알균, 녹농균, 대장균에 대해 전통의 방식으로 발효명장이 제조한 6가지 발효액이 가지는 항균 효과를 관찰하였다. 대조 항균제인 tobramycin과 비교한 결과, 무화과식초와 대봉감식초의 항균효과가 가장 우수하게 tobramycin의 항균력과 상응하는 것으로 나타났다. 특히 무화과식초는 더 강한 산성을 띄는 양조식초보다 우수한 항균력이 나타났으며, 이는 단순히 강한 산성으로 인해 세균의 증식이 억제되는 것이 아님을 의미한다. 가축나무잎, 인동초, 역새풀, 아관문, 어성초, 와송, 적하수오, 천년초, 쑥, 쇠비름, 쇠뜨기 등을 혼합하여 발효시

킨 토종약초발효소는 항균효과가 가장 미미하였다.

6가지 발효액 중에서 가장 뛰어난 효과를 보인 무화과식초가 세균의 유전자발현에 영향을 미치는지 관찰하기 위해, 특히 발효액을 섭취하였을 때 장에서 직접적인 영향을 미칠 수 있는 균인 대장균을 대상으로 유전적인 발현의 변화를 관찰하였다. 그 결과 *Escherichia coli* O157:H7 *OmpW* gene for outer membrane protein W 유전자의 발현이 크게 감소하였다. *OmpW* 단백질은 세균의 외막단백질 중 소수성 porin의 성질을 가짐으로서 식균작용을 방해하며 세균을 보호하는 역할을 한다[19, 20]. 그러므로 무화과식초가 *OmpW* 단백질 발현의 감소에 영향을 주며, 이에 따라 대장균의 식균작용을 방해하는 현상을 감소시켜 항균효능을 가질 수 있도록 영향을 미치는 것으로 추측할 수 있다. 반대로, 무화과식초를 처리하여 계대배양한 대장균에서 synthetic construct *LaoI* gene for L-amino acid oxidase, complete cds 유전자의 발현은 증가하였다. *LaoI*은 세포자살 유도, 부종 유도, 출혈, 혈소판 응집 억제와 같은 노화 진행 과정에서 주로 발견되는 단백질이다[21]. 그러므로 무화과식초가 대장균의 노화, 사멸 등을 유도하여 항균효과를 발휘하는 것으로 해석할 수 있다.

무화과식초로 인한 *Escherichia coli* O157:H7 *OmpW* gene for outer membrane protein W 발현의 감소와 synthetic construct *LaoI* gene for L-amino acid oxidase, complete cds 유전자의 발현 증가에 관한 세부 기전을 추가로 분석해 볼 필요가 있을 것으로 사료된다. 더불어 항균효과를 가지는 발효액을 이용하여 대장균을 비롯한 다양한 병원성 균주를 대상으로 충분한 기간 동안 계대배양하며 유전적 변화를 관찰함으로써 항생제 내성 또는 부작용에 대한 우려가 있는 항생제의 대체제로써 건강 친화적인 해당 발효액을 활용할 수 있을 것으로 기대한다.

요 약

녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*), 대장균(*Escherichia coli*) 및 포도알균(*Staphylococcus aureus*)은 기회감염균이다. 또한 이들 세균은 다제내성(Multiple-Drug Resistance, MDR) 세균의 성질을 가지는 것으로 알려져 있다. 녹농균, 대장균, 포도알균에 대한 다양한 효능을 지닌 6가지 발효액의 항균 활성을 분석하였다. 발효액을 섭취했을 때 대장균에서 유전적 발현 변화가 일어나는지 알아보기 위해 annealing control primer를 사용하여 유전자발현 분석을 수행하였다. 디스크확산법을 통해 무화과식초와 대봉감식초가 다른 발효액에 비해 억제대의 크기가 가장 크게 나타났고, 토종약초발효소는 항균효

과가 없었다. 대장균에 5% 무화과식초를 처리하여 21일간 매일 계대배양하여 *Escherichia coli* O157:H7 *OmpW* gene for outer membrane protein W 유전자 발현이 감소하며, Synthetic construct *LaoI* gene for L-amino acid oxidase, complete cds 유전자가 발현이 증가함을 확인하였다.

발효액 중에서 특히 무화과식초를 섭취하는 것은 우리 주변에 항상 존재하는 대장균에 대해 방어능력을 더욱 단단하게 가질 수 있음을 의미하며, 나아가 다제내성균에 대한 천연치료제로 유용하게 쓰일 수 있기를 기대한다.

Acknowledgements: This work was supported by the Samyang Igeon Scholarship Foundation Research Grant in 2021.

Conflict of interest: None

Author's information (Position): Heo J, Professor.

REFERENCES

1. Lee HJ. Lighting of health promotion using fermentation. Korean soc wel. 2019;14:469-478. <http://doi.org/10.21097/ksw.2019.05.14.2.469>
2. Kim CW, Bae EJ, Kang JE, Choi HS, Heong ST. Antibacterial and antioxidative activities of licorice extracts fermented with Nuruk molds. Korean J Food Preserv. 2018;25:830-836. <https://doi.org/10.11002/kjfp.2018.25.7.830>
3. Kim SY, Gam DH, Kim JH, Yeom SH, Park JH, Kim JW. Enhancement of antioxidant and skin cancer inhibition effects by fermented *Luffa aegyptiaca* extract. Korea Idu Soc. 2021;22:408-414. <https://doi.org/10.5762/KAIS.2021.22.3.408>
4. Jeong MR, Kim BS, Lee YE. Physicochemical characteristics and antioxidative effects of Korean Figs (*Ficus carica* L.). J East Asian Soc Diet Life. 2002;12:566-573. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2014.43.12.1843>
5. Vinson JA. The functional food properties of figs. Cereal Food World. 1999;44:82-87.
6. Jang HJ, Jung JS. Study of UV protection, deodorization and antimicrobial properties of cotton fabrics dyed with the liquids extracted from *Salvia Plebia* R. Br. Fashion & Text Res J. 2016;18:380-386. <http://dx.doi.org/10.5805/SFTI.2016.18.3.380>
7. Kim JS, Ahn J, Lee SJ, Moon B, Ha TY, Kim S. Phytochemicals and antioxidant activity of fruits and leaves of paprika (*Capsicum annuum* L., var. Special) cultivated in Korea. Prev Nutr Food Sci. 2011;76:C193-C198. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01891.x>
8. Matsuo T, Itoo S, Ben-Arie R. A model experiment for elucidating the mechanism of astringency removal in persimmon fruit using respiration inhibitors. Hort J. 1991;60:437-442. <https://doi.org/10.2503/jjshs.60.437>
9. Kim Y, Lee S, Kim M, Kim G, Chung HS, Park HJ, et al.

- Physicochemical and organoleptic qualities of sliced-dried persimmons as affected by drying methods. *Korean J Food Sci Technol.* 2009;41:64-68.
10. Lee HJ, Lim SY, Kang MK, Park JJ, Chung HJ, Yang SJ. Beneficial effects of daebong persimmon against oxidative stress, inflammation, and immunity in vivo. *Prev Nutr Food Sci.* 2015;44:491-496. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2015.44.4.491>
 11. Clinical Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard-12th, M07-A10. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2015. p27-47.
 12. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Approved standard 31st ed, M100-S31. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2020. p156-173. <https://doi.org/10.1128/JCM.00213-21>
 13. Chen CJ, Huang YC. New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Asia. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20:605-623. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12705>
 14. Pollitt EJG, Szkuta PT, Burns N, Foster SJ. *Staphylococcus aureus* infection dynamics. *PLoS Pathog.* 2018;14:e1007112. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007112>
 15. Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB. Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: Lessons from a versatile opportunist. *PLoS Pathog.* 2000;2:1051-1060. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)01259-4](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)01259-4)
 16. Gilardi GL. Infrequently encountered *Pseudomonas* species causing infection in humans. *Ann Intern Med.* 1972;77:211-215. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-77-2-211>
 17. Su CY, Brandt LJ. *Escherichia coli* O157: H7 infection in humans. *Ann Intern Med.* 1995;123:698-707. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-123-9-199511010-00009>
 18. Johnson JR. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev.* 1991;4:80-128. <https://doi.org/10.1128/cmr.4.1.80>
 19. Wu XB 1, Tian LH, Zou HJ, Wang CY, Yu ZQ, Tang CH, et al. Outer membrane protein OmpW of *Escherichia coli* is required for resistance to phagocytosis. *Res Microbiol.* 2013;164:848-855. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2013.06.008>
 20. Abreu AG, Barbosa AS. How *Escherichia coli* circumvent complement-mediated killing. *Front Immunol.* 2017;8:1-6. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00452>
 21. Lee M, Chung I, Yee Fung S, Kanthimathi MS, Hong Tan N. Antiproliferative activity of king cobra (*Ophiophagus hannah*) venom L-amino acid oxidase. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2014;114:336-43. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12155>