

Staphylokinase 단독변환 혈청형 F 포도구균 phage의 분리 및 특성

박 청 규 · 서 미 숙

경북대학교 수의과대학
(1999년 12월 27일 접수)

Isolation and characteristics of serotype F staphylococcal phage singly converting staphylokinase

Cheong-kyu Park, Mi-sook Seo

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University

(Received Dec 27, 1999)

Abstract : Lysogenic conversion of *Staphylococcus aureus* to loss of β -hemolysin production by serological group F phages is always associated with gain in staphylokinase production. In this study, the new phages belonging to serotype F were detected during the course of isolation of phages from *Staph aureus* of bovine origin and some characteristics of the new phages isolated were investigated. The new phages, ϕ 470 and ϕ 499, isolated from *Staph aureus* producing β -hemolysin and staphylokinase(β^+K^+) were found to convert β^+K^+ strain to β^-K^+ . *Staph aureus* strains lysogenized by this serotype F single-converting phage ϕ 470 or ϕ 499 could be again lysogenized with serotype F double-converting phage ϕ 506. The frequency of lysogenization of indicator strains by serotype F single-converting phage was 100%, whereas the frequency for serotype F double-converting phage ϕ 506 varied from 4.2% to 97.6% according to the indicator strains. The indicator strain lysogenized with phage ϕ 470 was resistant to phage ϕ 499, and vice versa, but not to phage ϕ 506. Therefore, phage ϕ 470 and ϕ 499 were shown to be identical by immunity test.

Key words : *Staphylococcus aureus*, staphylokinase, single-lysogenic conversion, lysogenization, bacteriophage

서 론

Temperate phage가 prophage의 형으로 숙주균의 염색체상에 어떤 정해진 위치에 삽입되어 용원화되면 용원균은 특징의 형질을 상실하거나 또는 획득하는 결과가 초래되고 이 성질은 prophage에 의하여 인정된 상태로 균의 분열증식에 수반되어 다음 세대로 계속하여 전달된다. 임상재료에서 분리된 *Staphylococcus aureus*의 대부분 균주가 한 종류 또는 그 이상의 용원성 prophage를 보유하고 있음은 잘 알려진 사실이다¹.

*Staph aureus*에 있어 용원변환에 대해서는 Winkler et al²이 혈청형 F phage에 의해 β -hemolysin 산생양성, staphylokinase 산생음성(β^+K^-)의 균주가 β^+K^+ 로 변환되는 2중변환의 현상을 처음으로 보고했고 그 뒤 Kondo et al^{3,4}이 혈청형 F phage에 의해 용원화된 균주(β^+K^-)에서 자외선 조사와 Ethidium bromide 처리로 prophage를 제거시킴으로써 본래의 형질(β^+K^-)로 되돌아감을 확인하였다. 또한 최근에 Coleman et al⁵과 Carroll et al⁶은 β -hemolysin 양성, staphylokinase 음성, enterotoxin A 음성($\beta^+K^-EntA^-$)의 균주를 $\beta^+K^+EntA^+$ 로 변환시킬 수 있는 혈청형 F 3중변환 phage를 보고하기도 하였다. 그리고 Kondo와 Fujise⁷는 β^+K^+ 의 특성을 나타내는 균주에서 staphylokinase만 음성에서 양성으로 단독변환시키는 혈청형 B phage를 분리하였고 이 혈청형 B phage에 의해 용원화된 균주를 다시 탈용원화 시킴으로써 본래의 형질로 되돌아감($\beta^+K^+ \rightarrow \beta^+K^-$)을 또한 확인한 바 있다.

한편 Mason과 Allen⁸은 혈청형 A군에 속하는 여러 포도구균 phage 중에서 유일하게 phage 42E에 의해서만 용원균의 β -hemolysin 산생이 양성에서 음성으로 전환됨($\beta^+K^- \rightarrow \beta^+K^+$)을 관찰하였고 그리고 Lee 및 Iardolo^{9,10}는 phage L54a의 용원화에 의해 lipase 활성이 상실되어 나타나는 negative conversion을 보고하기도 하였다.

저자들은 젖소 유방염유래 *Staph aureus* 균주들로부터 phage를 분리하던중 β^+K^+ 의 성상을 나타내는 균주에서 지금까지 혈청형 B phage의 특성으로 간주되었던 staphylokinase만 단독으로 변환시키는 혈청형 F군에 속하는 새로운 phage를 분리하였고 이 분리된 새로운 phage의 특성을 더욱 구명하기 위해 이 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

공시균주 : 젖소 유방염으로부터 분리된 *Staph aureus* 470, 499 그리고 506을 공시하여 혈청형 B 또는 F phage의 분리를 시도하였다. 균주 470과 499는 β^+K^+ 그리고 506은 β^+K^- 의 특성을 나타내는 균주였다. Phage 증식 및 지시균 균주로는 역시 젖소 유방염 유래 β^+K^- 의 특성을 나타낸 *Staph aureus* 258, 402, 681 및 D446을 사용하였다.

β -Hemolysin 산생능 검사 : Trypticase soy agar(TSA, BBL)에 변양 혈액을 1.5% 되게 첨가한 변양 혈액천배지를 준비한 후 공시균들을 접종 배양하여 β -hemolysin 산생능 유무를 검사하였다.

Staphylokinase 산생능 검사 : Bovine fibrinogen(fraction I, type I-S, Sigma)을 사용하여 Devriese와 Van de Kerckhove¹⁶의 방법에 따라 bovine fibrin-dog plasminogen 환원 배지를 준비하여 공시균들의 staphylokinase 산생능 유무를 검사하였다.

Phage의 유발 : Morse와 LaBelle¹⁷의 방법에 준하였다. 즉, 공시균을 TSA에 접종하여 37°C에서 18시간 배양한 후 배양액 소량을 2ml의 인산염 완충액(pH 7.2)에 부유시켜 배트리 접시에 넣고 자외선 살균등(15W)으로 30cm의 거리에서 20초간 서서히 진탕하면서 조사한 후 조사균액을 동량의 2배 농도 trypticase soy broth(TSB, BBL)에 가하여 배양하였다.

Phage의 분리 : UV조사 공시균액을 37°C에서 6시간 배양한 다음 원심하여 상층액을 syringe filter(0.45 μ m, Nalgene)로 여과한 후 지시균 평판배지에 여과균액을 점적 건조시킨 다음 30°C에서 18시간 배양하였다. 진적부에 지시균의 용균반이 형성되었을 때 용균부위의 한천판을 인산염 완충액 4ml가 든 시험관에 넣고 충분히 진탕한 후 syringe filter로 여과하여 phage를 분리하였다. 분리된 phage는 Swanstrom과 Adams¹⁸가 제안한 soft-agar 법에 의해 증식시켜 4°C에 보관하면서 시험에 공시하였다.

지시균평판배지 준비는 지시균을 2ml의 TSB에 접종하여 4~5시간 37°C에서 배양한 후 이 균액을 400 μ g/ml의 CaCl₂가 함유된 TSA 평판에 균등하게 도말한 다음 여분 균액을 제거하였다. 이 평판배지를 37°C에서 20분 정도 건조시킨 다음 지시균 평판배지 사용하였다.

지시균의 용원화 : 지시균평판배지 외에 100 \times RTD의 phage 액을 점적시켜 37°C에서 18시간 배양하였다. 형성된 용균반내의 지시균을 백균이로 수집하여 2ml의 TSB에 부유시키고 이 부유균액을 생리식염수로 10배 단계

회석하여 각 단계별 회석 0.1ml를 변양혈액한천배지와 bovine fibrin-dog plasminogen 한천배지에 분신시켜 37℃에서 24시간 배양한 후 지시균의 용원화 빈도를 산정하였다.

Phage 항혈청 생산 : 혈청형 A, B 및 F phage에 대한 항혈청 생산은 미국의 American Type Culture Collection (ATCC)으로부터 구입한 표준형별 phage 3A, 71 및 42D와 phage 증식용 표준균주를 사용하여 ATCC의 지시에 따라 phage를 증식시켜 4℃에 보관하면서 Dowell과 Rosenblum¹⁹의 방법에 따라 항혈청을 생산하였다. 즉, 고역가의 phage 액($10^5 \sim 10^7 \times \text{RTD}$)을 토끼에 5일 간격으로 5ml씩 8회 피하 주사하였고 마지막 주시후 7일에 전 채혈하여 혈청을 분리하였다.

Phage 중화시험 : Dowell과 Rosenblum¹⁹의 방법에 준하였다. 즉, phage 항혈청을 생리식염수로 2배 단계희석한 혈청 0.1ml에 $2 \times \text{RTD}$ 의 phage액을 동량 가하여 혼합하고 37℃에서 30분간 처리한 후 각 희석단계별 혼합액 1적을 상응하는 phage 증식용 균주가 도말된 평판배지 위에 점적하고 37℃에서 18시간 배양하였으며 중화항체는 점적부위의 용원반 형성이 저지된 최종 혈청희석 배수로 나타내었다.

결 과

용원성 *Staph aureus* 3균주의 특성과 이들 균주로부터 분리된 phage는 Table 1에 제시된 바와 같다. Phage 506은

Table 1. Phages and characteristics of lysogenic *Staphylococcus aureus* strains

Strain No.	Lysogenic strain		Phage No. isolated
	Origin	Type ^a	
506	Bovine mastitis	β K ⁺	φ 506
470	Bovine mastitis	β K ⁺	φ 470
499	Bovine mastitis	β K ⁺	φ 499

^a β^+ ; β^- , β -hemolytic and non- β hemolytic; K⁺, staphylokinase positive.

및 소유방염유래의 β -hemolysin 음성, staphylokinase 양성의 특성을 지닌 균주506으로부터 분리되었고 phage 470과 499는 β -hemolysin 양성, staphylokinase 양성인 균주470과 499로부터 각각 분리되었다.

혈청형 A군에 속하는 phage 3A에 대한 항혈청을 사용하여 ATCC의 표준형별 phage중 phage 3A, 혈청형 B군의 phage 71, 혈청형 F군의 phage 42D 그리고 분리 phage 3주의 중화시험 결과는 Table 2에서와 같다. 동일항원인 phage 3A는 혈청희석 1:320까지 완전히 중화될 수 있었으나 그외 공시한 phage들은 혈청희석 1:20에서도 중화가 일어나지 않음을 보였다.

혈청형 B군에 속하는 phage 71에 대한 항혈청을 사용하여 표준형별 phage 3주와 분리 phage 3주의 중화시험 결과는 Table 3에서와 같이 phage 71은 혈청희석 1:320까지 중화될 수 있었으나 그외 공시한 phage들은 혈청의

Table 2. Neutralization test of the standard typing phages and the isolated phages with antiserum against serotype A phage φ 3A^a

Phage	Neutralization titer ^b					
	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640
φ 3A	-	-	-	-	-	+
φ 71	++++	+++	++	+	-	+
φ 42D	++++	+++	++	+	-	+
φ 506	++++	+++	++	+	-	+
φ 470	++++	+++	++	+	-	+
φ 499	++++	+++	++	+	-	+

^a To demonstrate neutralization, 0.1ml of serum diluted with 0.9% NaCl by twofold dilution method was mixed with 0.1ml of phages at $2 \times \text{RTD}$, and incubated for 30 min at 37℃. After incubation, one drop of each mixture was placed on a sector of agar plate previously flooded with the correspondent propagating strain, and was incubated for 18h at 30℃.

^b -, no lysis; +, 1-20 plaques; ++, 21-100 plaques; +++, >100 plaques to semi-confluent lysis; +++++, confluent lysis.

Table 3. Neutralization test of the standard typing phages and the isolated phages with antiserum against serotype B phage ϕ 71^a

Phage	Neutralization titer ^b					
	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640
ϕ 3A	+++	++++	++++	++++	++++	++++
ϕ 71	-	-	-	-	-	+
ϕ 42D	++++	++++	++++	++++	++++	++++
ϕ 506	++++	++++	++++	++++	++++	++++
ϕ 470	++++	++++	++++	++++	++++	++++
ϕ 499	++++	++++	++++	++++	++++	++++

^{a,b} See footnote a and b, Table 2.

석 1:20에서도 phage 활성은 중화가 되지 않은 결과를 나타내었다.

혈청형 F군에 속하는 phage 42D의 항혈청에 대한 표준형별 phage 3주와 분리 phage 3주의 중화능을 검사한 결과는 Table 4에서와 같다. 동일 phage인 phage 42D가 혈청희석 1:320까지 중화됨을 보였고 분리된 3주의 phage도 모두 이와같은 양상을 보임에 따라 이들 3주의 분리 phage는 모두 혈청형 F에 속함을 나타내 주었다.

지시균으로 *Staph aureus* 258을 사용하여 β -hemolysin과 staphylokinase의 산생에 미치는 용원화의 영향은 Table 5에 제시된 바와 같다. 분리된 phage 506은 지시균의 β -hemolysin 산생을 양성에서 음성으로 그리고 staphylokinase 산생을 음성에서 양성으로 변환시킴에 따라 이 phage는 2중 변환 F phage인 것으로 나타났고 phage 470과 499는 지시균의 staphylokinase만 음성에서 양성으로 변환시켜

이들 두 phage는 staphylokinase만 단독변환 시키는 혈청형 F phage임을 확인할 수 있었다 그리고 한 지시균이 동일 F 혈청형에 속하는 두 phage(ϕ 470과 ϕ 506)에 의해 2중으로 용원화 되는 현상을 또한 관찰할 수 있었다.

분리된 3 phage를 사용하여 분리된 지시균들의 용원화율을 조사한 성적은 Table 6에서와 같다. 2중변환 F phage인 phage 506은 지시균의 균주에 따라 4.2%에서 97.6%까지 다양한 용원화빈도를 보였으나 단독변환 F phage인 phage 470과 499는 지시균의 균주에 관계없이 100%의 용원화 빈도를 나타내었다.

분리된 phage에 대한 각 용원균주의 면역성을 시험한 결과는 Table 7에서와 같다. Phage 506에 의한 용원균주는 phage 506에 대해서는 저항성이었으나 phage 470과 499에는 감수성을 보였다. Phage 470과 499에 의한 각 용원균주는 phage 506에는 모두 감수성이었으나 phage 470

Table 4. Neutralization test of the standard typing phages and the isolated phages with antiserum against serotype F phage ϕ 42D^a

Phage	Neutralization titer ^b					
	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640
ϕ 3A	++++	++++	++++	++++	++++	++++
ϕ 71	++++	++++	++++	++++	++++	++++
ϕ 42D	-	-	-	-	-	+
ϕ 506	-	-	-	-	-	++
ϕ 470	-	-	-	-	+	++
ϕ 499	-	-	-	-	-	++

^{a,b} See footnote a and b, Table 2.

Table 5. Influence of lysogenization on the production of β -hemolysin and staphylokinase by *Staphylococcus aureus*

<i>S. aureus</i> ^a	No of prophage	Serotype of phage	β -hemolysin production ^b	Staphylokinase production ^c
258	0	•	+	-
258(ϕ 506)	1	F	-	-
258(ϕ 470)	1	F	+	+
258(ϕ 499)	1	F	+	+
258(ϕ 470, ϕ 506)	2	F, F	-	+

^a Lysogenizing phage strain in parentheses.

^b +, α -, β -hemolytic and non β -hemolytic on 1.5% sheep blood agar plate.

^c -, +, staphylokinase negative and staphylokinase positive on bovine fibrin-dog plasminogen agar plate(Devriese and Van de Kerkhove¹⁶).

Table 6. Lysogenization rate of the indicator strains with phage ϕ 506, ϕ 470, and ϕ 499

Phage	Lysogenization rate(%) on indicator strain ^a			
	258	402	681	D446
ϕ 506	97.6	6.5	81.4	4.2
ϕ 470	100	100	100	100
ϕ 499	100	100	100	100

^a The indicator strains(β^+ K⁻) were lysogenized by spotting the phages on flooded plates. Lysogenization was estimated from the percentage of the number of non- β -hemolysin producing colonies on 1.5% sheep blood agar plates (ϕ 506) and the percentage of the number of staphylokinase producing colonies in total colonies on bovine fibrin-dog plasminogen agar plates (ϕ 470 and ϕ 499).

Table 7. Immunity reaction of each lysogenic strain to the test phages

<i>S. aureus</i> ^a	Phage ^b		
	ϕ 506	ϕ 470	ϕ 499
258	+	+	+
258(ϕ 506)	-	+	+
258(ϕ 470)	-	-	-
258(ϕ 499))	+	-	-
258(ϕ 470, ϕ 506)	-	-	-

^a Lysogenizing phage strain in parentheses.

^b +, lysis; -, no lysis.

과 499에는 각각 저항성을 보임에 따라 이들 두 phage는 변역성시험에 의해 동종의 phage인 것으로 나타났다.

고 찰

혈청형 F군에 속하는 포도구균 phage는 용원균의 β -hemolysin 산생을 양성에서 음성으로 그리고 staphylokinase를 음성에서 양성으로 두가지 특성을 동시에 변환시킬에 따라 실제로 임상재료에서 분리된 β K⁺의 특성을 나타내는 *Staph aureus*로부터 혈청형 F phage는 흔히 분리되고 있다^{5,20-22}. 그리고 혈청형 B phage는 F phage와는 달리 용원균의 staphylokinase만 단독으로 변환시킬 수 있고 β K⁻의 특성을 지닌 균주에서 분리됨이 지금까지 알려진 사실이다^{7,10,11,20}. 이 연구에서 첫소유방염유래 β K⁻의 특성을 나타낸 공시균 2주도 부터 적어도 혈청형 B phage가 분리될 수 있을 것으로 예상하고 phage 분리를 시도하였다. 그 결과 분리된 phage 470과 499는 지시균(β K⁻)의 staphylokinase만 양성으로 변환(β K⁻)시켜 Kondo와 Fujise¹⁰가 보고한 혈청형 B phage와 동일한 특성을 나타내었다. 그러나 분리된 이들 phage는 혈청형 F군인 phage 42D의 항혈청에 의해 완전히 중화됨에 따라 혈청학적으로 F phage임이 판명되었다. 따라서 staphylokinase 단독변환은 혈청형 B phage만의 유일한 특성은

아니며 혈청형 F군에 속하는 이 연구의 phage 470과 499의 용원화에 의해서도 또한 일어남을 확인할 수 있었고 이런 현상은 지금까지 보고된 바 없다.

Carroll *et al.*⁹은 혈청형 F 이중변환 포도구균 phage에 의한 용원균의 표현형질이 β 'K'에서 β 'K'로 변환되는 기전을 밝히는 연구에서 이 phage의 DNA가 정위특이성 기전에 따라 숙주균의 염색체 DNA상에 있는 β -hemolysin 산생 유전자의 5'말단 부위에 통합됨으로써 삽입적 불활성화에 의해 β -hemolysin 유전자의 정보발현이 저해되고 staphylokinase 산생능은 phage DNA에 존재하는 유전자에 의해 획득되는 결과가 초래됨을 보고한 바 있다. 또한 최근에 Borecká *et al.*²⁰은 *Staph aureus* NCTC 8325의 제한효소절단지도에서 관찰한 바와 같이 혈청형 B phage는 *Sma* I 제한절단편 B에 통합되나 혈청형 F 이중변환 phage는 *Sma* I 제한절단편 E에만 통합됨을 보임에 따라 혈청형 B와 F phage는 서로 삽입장소를 달리 하면서 특정 부위에 삽입되는 특이성이 있음을 보고하였다. 그러나 이 연구에서 분리된 phage 506과 phage 470은 다같이 혈청형 F에 속하면서 한 숙주균이 이들 두 F phage에 의해 동시에 용원화됨을 볼 수 있었는데 이와같은 소견은 동일 숙주균의 염색체 DNA상에서 이들 두 F phage는 삽입장소를 서로 달리 하고 있음을 시사해주고 있다. 이 연구에서 새로이 분리된 phage 470과 499가 혈청형은 F군에 속하면서 숙주균의 표현형질 변환은 혈청형 B phage와 같은 양상을 나타내주고 있으므로 앞으로 이 phage의 숙주균 염색체 DNA상에 삽입되는 위치를 밝히는 연구가 요구된다 하겠다.

Winkler *et al.*⁵은 그들이 분리한 혈청형 F 이중변환 phage중의 하나인 phage 269의 자외선 조사에 의해 지시균(β 'K)의 β -hemolysin 산생에는 영향을 주지 않으면서 staphylokinase 산생만 변환시키는 하나의 phage를 분리하고 이 phage를 변이주로 간주하였다. 그러나 그들이 얻은 이 변이 phage의 혈청형에 대해서는 언급하지 않았다. 이 연구에서 staphylokinase만 단독으로 변환시키는 혈청형 F인 phage 470과 499가 혈청형 F 이중변환 phage로부터 유래된 변이주인지 또는 혈청형 B phage의 항원적 변이에 기인한 변이 phage인지 아니면 지금까지 알려지지 않은 고유한 혈청형 F phage의 한 종류인지는 이 연구의 결과만으로는 알 수 없고 추후 약외의 용원균으로부터 이와같은 phage의 분리빈도와 특성 등을 더욱 구명함으로써 이 phage의 본태가 밝혀지리라 사료된다. 한

편 Bradley와 Kay²³ 그리고 Rosenblum과 Tyrone²⁴은 포도구균 phage의 전자현미경적 관찰에서 혈청형 B와 F phage 사이에 형태학적 차이는 인지되지 않음을 보고한 바 있다. 이 연구의 결과로서 *Staph aureus*에 있어 staphylokinase의 용원변환은 지금까지 알려진 혈청형 B phage와 혈청형 F 이중변환 phage 뿐만 아니라 이 연구에서 새로이 분리된 혈청형 F 단독변환 phage(ϕ 470과 499)에 의해서도 이루어지는 3유형으로 구분될 수 있음을 나타내 주었다.

결 론

몇소 유방염유래의 β -hemolysin과 staphylokinase를 산생하는 *Staphylococcus aureus* 균주로부터 staphylokinase만 단독으로 변환시키는 혈청형 F군에 속하는 새로운 phage(ϕ 470 및 ϕ 499)가 분리되었다. 이 혈청형 F 단독변환 phage에 의한 용원균은 다시 혈청형 F 이중변환 phage(ϕ 506)에 의해 중복으로 용원화 될 수 있었다. Phage 470과 phage 499에 의한 지시균의 용원화율은 100% 였다. 그러나 phage 506에 의한 용원화 빈도는 지시균의 균주에 따라 4.2%에서 97.6%까지 다양하였다. Phage 470으로 용원화된 지시균은 phage 499에 대해서는 저항성이었으나 phage 506에는 감수성을 보여 phage 470과 phage 499는 권역성 시험에 의해 동종의 phage인 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

1. Rosenblum ED, Dowell CE. Lysogeny and bacteriophage typing in coagulase positive staphylococci. *J Infect Dis*, 106:297-303, 1960.
2. Read RB, Pritchard WL. Lysogeny among the enterotoxigenic staphylococci. *Can J Microbiol*, 9:879-889, 1963.
3. Shimizu A. Isolation and characteristics of bacteriophages from staphylococci of chicken origin. *Am J Vet Res*, 38: 1389-1392, 1977.
4. Nakagawa M. Studies on bacteriophage typing of staphylococci isolated from bovine milk II. Some observations on the lysogenic strains. *Jap J Vet Res*, 8:279-284, 1960.
5. Winkler KC, de Waart J, Grootser C, *et al.* Lysogenic conversion of staphylococci to loss of β -toxin. *J Gen*

- Microbiol*, 39:321-333, 1965.
6. Kondo I, Fujise K, Sakurai S. Staphylokinase mediated by lysogenic conversion. *Zentralbl Bakteriol Parasitenkd Infektionskr Hyg, Abt 1 Suppl* 5, 529-538, 1976.
 7. Kondo I, Nakahara H, Ishikawa T, *et al.* Simple effective method for delysogenizing *Staphylococcus aureus*. *Jikeikai Med J*, 23:223-231, 1976.
 8. Coleman DC, Sullivan DJ, Russell RJ, *et al.* *Staphylococcus aureus* bacteriophages mediating the simultaneous lysogenic conversion of β -lysin, staphylokinase and enterotoxin A: Molecular mechanism of triple conversion. *J Gen Microbiol*, 135:1679-1697, 1989.
 9. Carroll JD, Cafferkey MT, Coleman DC. Serotype F double-and triple-converting phage insertionally inactivate the *Staphylococcus aureus* β -toxin determinant by a common molecular mechanism. *FEMS Microbiol Letters*, 106:147-156, 1993.
 10. Kondo I, Fujise K. Serotype B staphylococcal bacteriophage singly converting staphylokinase. *Infect Immun*, 18:266-272, 1977.
 11. Mason RE, Allen WE. Characteristics of *Staphylococcus aureus* associated with lysogenic conversion to loss of beta-hemolysin production. *Can J Microbiol*, 21:1113-1116, 1975.
 12. Lee CY, Iandolo JJ. Mechanism of bacteriophage conversion of lipase activity in *Staphylococcus aureus*. *J Bact*. 164:288-293 1985.
 13. Lee CY, Iandolo JJ. Integration of staphylococcal phage L54a occurs by site-specific recombination: structural analysis of the attachment sites. *Proc Nat Acad Sci USA*, 83:5474-5478, 1986.
 14. Lee CY, Iandolo JJ. Lysogenic conversion of staphylococcal lipase is caused by insertion of the bacteriophage L54a genome into the lipase structural gene. *J Bact*, 166:385-391, 1986.
 15. Lee CY Iandolo JJ. Structural analysis of staphylococcal bacteriophage α 11 attachment sites. *J Bact*, 170: 2409-2411, 1988.
 16. Devriese LA, Van de Kerckhove A. A comparison of methods used for testing staphylokinase(fibrinolysin) production in *Staphylococcus* strains. *Antonie van Leeuwenhoek*. 46:457-465, 1980.
 17. Morse ML, LaBelle JW. Characteristics of a staphylococcal phage capable of transduction. *J Bact*, 83: 775-780, 1962.
 18. Swanstrom M, Adams MH. Agar layer method for production of high titer phage stocks. *Proc Soc Exptl Biol Med*, 78:372-375, 1951.
 19. Dowell CE, Rosenblum ED. Serology and Transduction in staphylococcal phage. *J Bact*, 84:1071-1075. 1962.
 20. Borecká P, Rosypal S, Pantáček R, *et al.* Localization of prophage of serological group B and F on restriction fragments defined in the restriction map of *Staphylococcus aureus* NCTC 8325. *FEMS Microbiol Lett*, 143:203-210, 1996.
 21. Humphreys H, Keane CT, Hone R, *et al.* Enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* isolates from cases of septicaemia and from healthy carriers. *J Med Microbiol*, 28:153-172, 1989.
 22. Parker MT. The significance of phage-typing patterns in *Staphylococcus aureus*. In: Easman CSF, Adam C, ed. *Staphylococci and Staphylococcal infections*, Academic Press, London, 1:33-62, 1983.
 23. Bradley DE, Kay D. The fine structure of bacteriophage. *J Gen Microbiol*, 23:553-563, 1960.
 24. Rosenblum ED, Tyrone S. Serology, density, and morphology of staphylococcal phages. *J Bact*, 88:1737-1742, 1964.