

This means that a considerable increase in the amount of ascorbic acid can only be proved when the formation of collagen starts. Conversely, ascorbic acid has not been demonstrated histochemically in the early stages of development of carrageenin granuloma, although this does not mean that it has not been present at all. Some small error may be due to insufficient sensitivity of the technique. Only with an accumulation of fibroblasts has the level of ascorbic acid considerably increased.

The findings have confirmed not only our earlier observation (BARTOŠ⁴) but also the observation of KASABJAN⁵ showing that ascorbic acid is found mainly in the cytoplasm of fibroblasts and/or epitheloid cells. Examination of slices under an optic microscope has also revealed that

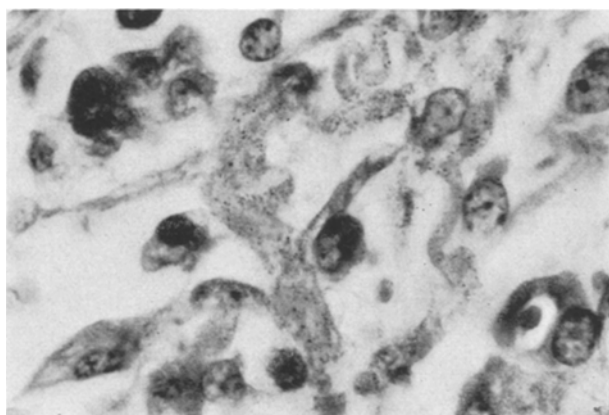


Fig. 2. Carrageenin granuloma 9 days after s.c. injection of carrageenin. The black granules in the cytoplasm of the cells or in the collagenous structure which is being formed are not granules of ascorbic acid but granules of reduced silver.

ascorbic acid is present in the peripheral portions of fibroblasts which, in some places, show a gradual transition to the fibrous structures of collagen.

The findings lead to the conclusion that during the formation of new connective tissue ascorbic acid is dependent on the presence of fibroblasts and/or on the young newly-formed fibrous structure in the closest vicinity of these cells. If we accept the opinion that ascorbic acid takes part in the formation of hydroxyproline or hydroxylysine, we may believe that it is in the fibroblasts that this process takes its course most intensively.

Zusammenfassung. Es wird die Histotopochemie der Ascorbinsäure im Laufe der Karagenin-Granulombildung untersucht. Die Ascorbinsäure ist an die Fibroblasten, eventuell an die junge Faserstruktur gebunden, die sich in einer unmittelbaren Nähe des Fibroblasten-Cytoplasmas befindet. Es wird angenommen, dass sich die Ascorbinsäure an der Hydroxylation von Prolin oder Lysin beteiligt, und dass dieser Prozess am intensivsten in den Fibroblastenzellen vor sich geht.

F. BARTOŠ⁶

Institute of General Biology, Charles' University Medical Faculty, Hradec Králové (Czechoslovakia), May 31, 1966.

⁴ F. BARTOŠ, *Nature (London)* 204, 1104 (1964).

⁵ S. S. KASABJAN, *Arch. patol. (Moskva)* 18, 91 (1956).

⁶ Acknowledgment: I should like to thank Ing. B. ČMUCHALOVÁ of the laboratories of Dr. M. CHVAPIL for supplying the experimental material.

Isolation of Bacteriophages from the Bovine Rumen

Although rumen microorganisms have been the object of intensive study because of their role in rumen physiology^{1,2}, the isolation of bacteriophages from rumen sources seems not to have been described. It is the purpose of this communication to point out that bacteriophages are prevalent in the rumina of cattle.

While investigating the survival of bacteria supposedly not native to the rumen³, bacteriophages active against several *Serratia* spp. indigenous to the rumen were isolated. Almost every sample of rumen fluid examined contained active bacteriophages. Host range studies⁴ of these phages showed that rumen *Serratia* spp. were not susceptible to phage isolated from soil, water and sewage. The phages isolated from the rumen would not lyse a number of *Serratia* spp. from a variety of other sources.

Whether the *Serratia* spp. and phages were indigenous to the rumen or came from exogenous sources (drinking water, soil or feed) could not be ascertained. The maximum number of *Serratia* spp. found in the drinking water was 20 viable cells/ml, and feed and soil were negative. Survival curves, obtained when *Serratia* spp. and phages

were introduced into the rumen or inoculated into nutrient broth, indicated that the phages adsorbed to the cells, but no increase in plaque-forming units occurred at 39°C. This inhibition of replication by incubation at elevated temperatures was probably similar to that described by POLLARD and WOODYATT⁵, which might indicate that neither the *Serratia* spp. nor phages were normal rumen inhabitants. An alternative explanation is that the phages active against *Serratia* spp. were propagated in the rumen by infecting bacteria closely related to *Serratia* spp. (see reference ⁶). Nevertheless, these findings stimulated a search for phages of bacteria more commonly associated with rumen populations.

¹ M. P. BRYANT, *J. Anim. Sci.* 22, 801 (1963).

² R. E. HUNGATE, M. P. BRYANT, and R. A. MAH, *A. Rev. Microbiol.* 18, 131 (1964).

³ J. C. ADAMS, P. A. HARTMAN, and N. L. JACOBSON, *Can. J. Microbiol.* 12, 363 (1966).

⁴ J. A. GAZAWAY, unpublished data.

⁵ E. POLLARD and S. WOODYATT, *Biophys. J.* 4, 367 (1964).

⁶ H. E. PRINSLOO and J. N. COETZEE, *Nature* 203, 211 (1964).

Streptococcus bovis was selected as one test organism because of its universal association with the rumina of cattle; *S. bovis* phages could be routinely isolated⁷. Attempts to obtain phages active against another test organism, *Bacteroides ruminicola*⁸, have not been successful⁹; however, difficulty was encountered in obtaining appropriate lawns for plaque detection under anaerobic conditions.

Although many factors that influence the number and kinds of microorganisms in the rumen have been elucidated¹⁰, the role of bacteriophages in the rumen remains to be determined¹¹.

Zusammenfassung. Die Isolierung der im Pansen vorkommenden Bakteriophagen wird erstmals beschrieben. Bakteriophagen, die *Streptococcus bovis* und Pansen *Serratiae* spp. angreifen, wurden aus vielen Pansen-Proben isoliert und eingehend untersucht; *Bacteroides ruminicola* Phage wurde dabei nicht aufgefunden.

J. C. ADAMS¹², J. A. GAZAWAY, JR.¹³,
M. D. BRAILSFORD¹⁴, P. A. HARTMAN
and N. L. JACOBSON

*Departments of Bacteriology and Animal Science,
Iowa State University, Ames (Iowa 50010, USA),
June 1, 1966.*

⁷ M. D. BRAILSFORD and P. A. HARTMAN, submitted for publication.

⁸ K. A. PITTMAN and M. P. BRYANT, J. Bact. 88, 401 (1964).

⁹ G. THOMAS, unpublished data.

¹⁰ A. C. I. WARNER, in *Physiology of Digestion in the Ruminant* (Butterworths, Washington 1965), p. 346.

¹¹ Journal Paper No. J-5026 of the Iowa Agricultural and Home Economics Experiment Station. Projects Nos. 1267 and 1348.

¹² Present address: Department of Bacteriology, Washington State University, Pullman, Washington.

¹³ National Science Foundation Undergraduate Research Participant.

¹⁴ Present address: U.S. Army Biological Center, Fort Detrick, Frederick, Maryland.

Zur Wirkung parenteral verabfolgter L-Glutaminsäure auf die bioelektrische Aktivität des Gehirns

Seit den Untersuchungen von QUASTEL und WHEATLEY, WEIL-MALHERBE, ROBERTS et al., TOWER, HIMWICH et al.¹ über die Bedeutung der Aminosäuren für den Hirnstoffwechsel hat das Interesse für die bioelektrische Aktivität des Gehirns erheblich zugenommen. Besonders die Glutaminsäure stand lange im Vordergrund der Untersuchungen, da man dieser Aminosäure auch bei enteraler Verabfolgung eine therapeutische Wirkung bei den verschiedensten Krankheitsbildern, insbesondere bei den Oligophrenien (ALBERT, HOCH und WAELSCH; ZIMMERMAN und BURGEMEISTER; ZIMMERMAN, BURGEMEISTER und PUTNAM; SCHACHTER²), aber auch eine antikonvulsive Wirkung bei cerebralen Krampfanfällen (PRICE, WAELSCH und PUTNAM; WAELSCH und PRICE; ZIMMERMAN, BURGEMEISTER und PUTNAM³) zuschrieb. Dagegen beobachteten YAMAMURA et al.⁴ nach Injektion von 2%-igem Natriumglutamat in die A. carotis communis bei Epileptikern eine Zunahme der Krampfanfälle. HAYASHI⁵ fand 1954, daß durch intracisternale Applikation von L-Glutaminsäure sowohl bei Tieren als auch bei Menschen tonisch-klonische Konvulsionen ausgelöst werden können. Dieses Anfallsgeschehen wurde von uns später eingehend tierexperimentell untersucht und elektroencephalographisch verfolgt (WIECHERT und HERBST⁶). Die vorliegenden Untersuchungen sollen zeigen, ob bei hochdosierter parenteraler Applikation von L-Glutaminsäure Veränderungen auch im Hirnstrombild von Hunden hervorgerufen werden können.

Methodik. Als Versuchstiere dienten ausgewachsene Hunde beiderlei Geschlechts von 9–12 kg Körpergewicht aus eigener Zucht. Die EEG-Ableitungen erfolgten mittels Nadelelektroden von der intakten Kopfhaut der nicht narkotisierten, durch Tricuran⁷ relaxierten Tiere bipolar von frontal nach occipital beiderseits mit Hilfe eines 8-Kanal-Direktschreibers der Firma Schwarzer. Wir infundierten kontinuierlich L-Glutaminsäure als Natrium-Glu-

tamat 0,69 g/kg Hund innerhalb von 50 min in die V. saphena parva entsprechend einer Dosis von 20 g/die, wie sie üblicherweise bei Kindern in der Klinik verordnet wurde. In weiteren Versuchen wurde die Dosis der L-Glutaminsäure auf das Doppelte (1,38 g/kg Hund) gesteigert. Als Modifikation der Versuchsanordnung wurde diese Menge auch in die Carotis comm. in einem Zeitraum von etwa 25 min kontinuierlich infundiert. Die Konzentration der Glutaminsäure vor und während des Versuches wurde im Serum der Tiere und nach Ende der Infusion auch im Liquor entsprechend der früher beschriebenen Methode (WIECHERT⁸) durch die zweidimensional aufsteigende Papierchromatographie bestimmt.

¹ J. H. QUASTEL und A. H. M. WHEATLEY, Biochem. J. 26, 725 (1932); H. WEIL-MALHERBE, Biochem. J. 30, 665 (1936); J. ment. Sci. 95, 930 (1949); Naturwissenschaften 40, 545 (1953); D. B. TOWER, Clin. chim. Acta 2, 397 (1957); Neurochemistry of Epilepsy (Thomas Springfield, Ill, 1960); E. ROBERTS und C. F. BAXTER, Neurology 8, 77 (1958); R. ROBERTS, P. J. HARMAN und S. FRANKEL, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 78, 799 (1951); H. E. HIMWICH, K. WOLFF, A. L. HUNSICKER und W. A. HIMWICH, J. nerv. ment. Dis. 121, 40 (1955).

² K. ALBERT, P. HOCH und H. WAELSCH, J. nerv. ment. Dis. 114, 471 (1951); F. T. ZIMMERMAN und B. B. BURGEMEISTER, Archs. Neurol. 65, 291 (1951); Archs. Neurol. Psychiatr. (AMA) 81, 639, 649 (1959); F. T. ZIMMERMAN, B. B. BURGEMEISTER und T. J. PUTNAM, Archs. Neurol. 61, 275 (1949); Amer. J. Psychiatr. 105, 661 (1949); M. SCHACHTER, J. Prats. 61, 4 (1951); Neurone 6, 53 (1958).

³ J. C. PRICE, H. WAELSCH und T. J. PUTNAM, J. Am. med. Ass. 122, 1153 (1943); H. WAELSCH und J. C. PRICE, Archs. Neurol. Psychiatr. Lond. 51, 393 (1944); F. T. ZIMMERMAN, B. B. BURGEMEISTER und T. J. PUTNAM, Archs. Neurol. 56, 489 (1946).

⁴ M. YAMAMURA, S. ANSAI, S. ONO, H. ASHIYA, K. SUGAWARA und S. OGASAWARA, Hiroshima med. J. 3, 109 (1952).

⁵ T. HAYASHI, Keio J. Med. 3, 183 (1954).

⁶ P. WIECHERT und A. HERBST, Acta biol. med. germ. 14, 444 (1965); J. Neurochem. 13, 59 (1966).

⁷ Tri-(diäthylaminoäthoxy)-1,2,3-benzotrijodaäthylat, VEB Deutsches Hydrierwerk Rottleben.

⁸ P. WIECHERT, Acta biol. med. germ. 10, 305 (1963).