

Über die Beziehung zwischen der elektrischen Eigenladung von Zellen und ihrer Phagozytose und Färbbarkeit
und einige Bemerkungen über die Beziehung zwischen der Eigenladung von Bakterien und ihrer Widerstandsfähigkeit gegen Farbstoffe.

Von

Masaji Seki.

(Aus dem anatomischen Institut der medizinischen Fakultät zu Okayama, Japan.)

Der Prozess der histologischen Färbung ist sehr kompliziert. Dabei sind chemische Reaktion, Absorption und Adsorption in verschiedenem Grade beteiligt. In vielen Fällen spielt die Adsorption die wichtigste Rolle. Nach Loeb¹⁾ färben sich Proteine und wahrscheinlich auch andere amphotere Elektrolyte, die in einer sauren Lösung elektrisch positiv geladen sind, mit elektronegativen Säurefarbstoffen. Wenn sie aber durch eine alkalische Lösung negativ geladen worden sind, so färben sie sich mit elektropositiven Farbstoffen. Die Gelatine z. B. färbt sich mit dem elektropositiven Neutralrot nur dann, wenn das pH des Flüssigkeitsmediums grösser ist als 4,7 und die Gelatine negativ geladen ist. Wird nun die so gefärbte Gelatine in einer Säurelösung abgespült, deren pH kleiner als 4,7 ist, so entfärbt sie sich. Schon früher haben auch Michaelis und Davidsohn²⁾ bei der Untersuchung von Gelatine mit den sauren Farb-

1) J. Loeb, Amphoteric Colloids. Journ. of Gener. Physiol., Vol. 1, No. 1 u. 2, 1918.

2) L. Michaelis u. H. Davidsohn, Weiterer Beitrag zur Frage nach der Wirkung der Wasserstoffionenkonzentration auf Kolloidgemische. Bioch. Zeitschr. Bd. 54, 1913.

stoffen Säurefuchsin und Eosin und den basischen Gentianviolett, Nilblau und Fuchsin Ähnliches beobachtet. Dass die elektrische Ladung der zu färbenden Körper und Farbstoffe den Färbungsprozess stark beeinflussen, ist auch sonst schon von vielen Forschern häufig bemerkt worden. Ferner ist durch Versuche, besonders durch die von Höber¹⁾, festgestellt worden, dass der Satz, dass basische Farbstoffe Vitalfarben, Säurefarbstoffe aber Nichtvitalfarben sind, weniger Ausnahmen hat als der von Overton aufgestellte Satz, dass die Vitalfarben lipoidlöslich, die Nichtvitalfarben dagegen lipoidunlöslich sind, wenn auch dieser Satz nach den bisherigen Erfahrungen fast durchweg als richtig erkannt worden ist. Auch die Höbersche Beobachtung scheint mir ihre wichtigste Ursache in den elektrischen Ladungsverhältnissen zu haben. Im folgenden möchte ich näher auf diese Frage eingehen.

I. Beziehung zwischen der elektrischen Eigenladung der Phagozyten und ihrem phagozytären Vermögen.

Die meisten Zellen sind elektrisch negativ geladen, die wenigen übrigen, z. B. die Histiozyten, dagegen positiv. Lillie²⁾ untersuchte Spermatozoen, Lymphozyten, Leukozyten, rote Blutkörperchen und Muskelzellen in Rohrzuckerlösung. Es gelang ihm, eine Abhängigkeit der kataphoretischen Wanderungsrichtung der Zellen von dem Gehalt an sauren, resp. basischen Protoplasmabestandteilen nachzuweisen. Zellen mit vorwiegendem Nukleinsäuregehalt, wie Spermatozoen und Lymphozyten, sind elektrisch negativ geladen und bewegen sich zur Anode. Dagegen sind Zellen mit reichem zytoplasmatischen Anteil positiv geladen und wandern

-
- 1) R. Höber, Die Durchlässigkeit der Zellen für Farbstoffe. Bioch. Zeitschr. Bd. 20, 1909. Siehe ferner R. Höber, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 4. Aufl. 1914 S. 426. ff.
 - 2) R. S. Lillie, On Differences in the Direction of the Electrical Convection of certain Free Cells and Nuclei. Amerc. Journ. of Physiol., Vol. 8, 1903.

zur Kathode. Auch unsere Untersuchung (Kosaka u. Seki) über die Lymphozyten und Leukozyten verschiedener Tiere (Kaninchen, Meerschweinchen, Ziege, Maus, Ratte, Katze, Hund und Taube) und des Menschen bestätigte diese Tatsache. Die Lymphozyten sind fast alle negativ geladen, während die Leukozyten meist schwach positiv sind. Neulich habe ich¹⁾ ebenfalls die schwach positive Ladung der Histozyten von Kaninchen, Meerschweinchen, Mäuse, Ratte und Tauben nachgewiesen und darauf aufmerksam gemacht, dass das energische phagozytäre Vermögen der Histozyten eine gewisse Beziehung zu ihrer positiven elektrischen Ladung habe. Diese Annahme gründet sich hauptsächlich darauf, dass wenn eine zu adsorbierende Substanz eine elektrische Ladung hat, so übt die Ladung des Adsorbens einen Einfluss auf den Prozess der Adsorption aus. Die meisten Stoffe, die in neutraler physiologischer Kochsalzlösung oder in Sera suspendiert werden und von Histozyten energisch aufgenommen werden sollen, sind elektrisch negativ geladen, z. B. Kohle, Karmin, Glas, Klümpchen von Eiweiss und Lezithin und Bakterien, so dass die positiv geladenen Histozyten diese elektronegativen Substanzen und Bakterien leichter aufzunehmen vermögen als negativ geladene Zellen.

Nach Kiyono muss die vitale Färbung von der supravitalen (agonalen) geschieden werden. Diese zwei verschiedenen Färbungen werden oft vom Dispersitätsgrade des gebrauchten Farbstoffes bestimmt. Die Farbstofflösung, die vital gut färbt, ist nämlich meist kolloidal, während diejenige, die supravital gut färbt, der echten Lösung näher steht und stärker diffusibel ist. Meiner Meinung nach ist hier noch zu bemerken, dass Farbstoffe, die supravital gut färben (nach Höber²⁾ u. a. auch die, die vital gut färben)—wie wohl bekannt—meistenteils basisch sind und ihre farbtragenden Anteile elektropositiv. Zellen verschiedenster Art (abgesehen von Histozyten und wenigen anderen) dagegen besitzen meist negative Ladung. Wenn diese negativ geladenen Zellen in agonalen Stadien die

-
- 1) M. Seki, Über die Galvanotaxis der Histozyten und über den Einfluss ihrer elektrischen Eigenladung auf ihr phagozytäres Vermögen. Mitteilungen der mediz. Gesellschaft zu Okayama, Nr. 402, 1923.
 - 2) Loc. cit.

Permeabilität ihrer oberflächlichen Schicht vergrößern, so liegt es nahe, anzunehmen, dass sie elektropositiv geladene Farbstoffe leichter anziehen und in den Zelleißern fesseln als negativ geladene.¹⁾ Daher untersuchte ich wiederholt das Verhältnis zwischen der elektrischen Ladung der Leukozyten und ihrer Färbbarkeit, indem ich die Leukozyten verschiedener Tiere, welche im Blute vorhanden oder nach Injektion physiologischer Kochsalzlösung in die Peritonealhöhle dahin ausgewandert waren, teils bei 120°C, teils in Formalinlösung fixierte und mit verschiedenen Farbstoffen färbte. Aber ich habe noch kein genügend sicheres Resultat bekommen. Der Grund ist wahrscheinlich der, dass die Leukozyten sehr leicht ihre Form ändern, also auch ihre Dicke, so dass man dünnere als weniger gefärbte annimmt. Überdies haben sie im Protoplasma eine verschiedene Granulierung, die sich mit gewissen Farbstoffen chemisch verschieden stark verbindet und so leicht täuscht.

Trotz dieses Misslingens bei den Leukozyten konnte ich bei den roten Blutkörperchen interessante Resultate bekommen. Darüber im nächsten Kapitel.

II. Beziehung zwischen der elektrischen Eigenladung der roten Blutkörperchen und ihrer Färbbarkeit.

Nach unserer früheren Arbeit²⁾ wandern die roten Blutkörperchen verschiedener Tiere in physiologischer Kochsalzlösung, mit Ausnahme der des Kaninchens, welche nach der Kathode wandern, zur positiven Elektrode—allerdings mit sehr unterschiedlicher Geschwindigkeit, wie folgt:

-
- 1) Die elektrisch positiv geladenen Histozyten nehmen gern elektronegative Teilchen und Farbstoffe auf.
 - 2) K. Kosaka u. M. Seki, Further Electro-biological Studies. Mitteilungen der medizinischen Gesellschaft zu Okayama, No. 386, 1922.

Rind<Schwein<Meerschweinchen<Mensch<Ziege, Maus
<Ratte, Katze, Hund.

Wenn man diese Blutkörperchen in destilliertem Wasser auflöst und die Wasserstoffionenkonzentration elektrometrisch untersucht, so sind diese Konzentrationen :

Kaninchen<Rind<Schwein<Ziege<Hund<Katze.

Diese Reihe deckt sich mit derjenigen der elektrischen Ladung; mit andern Worten, je schwächer alkalisch die Blutkörperchen sind, desto stärker negativ sind sie elektrisch geladen. Dieser Befund stimmt mit dem Lillieschen¹⁾ überein. Es fragt sich nun, ob die Färbbarkeit der roten Blutkörperchen je nach der verschiedenen elektrischen Ladung derselben verschieden ist.

Man streicht auf einen gereinigten Objektträger frisch dem lebenden Körper entnommenes Blut in möglichst dünner Lage aus und lässt es an der Luft trocknen. Das Blut wird den Ohrarterien von Kaninchen, Meerschweinchen, Ziege, Katze und Hund, den Halsarterien von Rind, Maus und Ratte und den Hautvenen des Vorderarmes des Menschen entnommen. Die lufttrocknen Ausstrichpräparate werden dann bei 120°C 30 Minuten lang erhitzt. Die Verschiedenheit der elektrischen Ladung der Blutkörperchen ist trotz dieser Behandlung ziemlich gut erhalten. Man bringt die so fixierten Präparate auf 8—10 Stunden in dünne Farbstofflösung. Dabei werden die Präparate in demselben Gefäße zu gleicher Zeit gefärbt. Die weitere gewöhnliche Behandlung nach der Färbung, wie Auswässern und Austrocknen wird hier vermieden. Die Präparate werden mit einer dünnen Schicht der betreffenden Farbstofflösung unter dem Mikroskop untersucht. Die hier in Betracht kommenden Farbstoffe sind alle von G. Grübler & Co., Leipzig. Jeder Farbstoff wird mit destilliertem Wasser verdünnt, ausgenommen Carmin und Hämatoxylin. Die Carminlösung ist verdünnte Carmin-Lithiumkarbonatlösung, und die Hämatoxylinlösung verdünntes Hansensches Hämatoxylin. Der Ladungssinn der Farbstoffe wird durch Kataphorese festgestellt. Die Resultate sind in Tabelle 1 und 2 angegeben.

七七七

1) Loc. cit.

Tabelle 1

Bemerkung: — keine Färbung, ± verschwindend geringe Färbung,
 + ganz schwache Färbung, ++ schwache Färbung,
 ## deutliche Färbung.

		Färbung der roten Blutkörperchen von:				
		Kaninchen	Meer- schwein- chen	Ratte	Katze	Hund
negativ geladene Farbstoffe	Aurantia	##	##	+	##	##
	Bordeaux R.	—	—	—	—	—
	Carmin rubr. opt.	—	—	—	—	—
	Carminsaur. Natron	—	—	—	—	—
	Congoroth	##	##	##	+	—
	Eosin bläul.	##	##	—	—	+
	Indigkarmin	##	##	+	+	+
	Indulin	##	##	+	+	+
	Rubin S.	+	±	—	—	—
	Säurefuchsin	##	##	—	—	±
positiv geladene Farbstoffe	Bismarckbraun	—	+	—	+	+
	Cresylechtviolett	+	+	+	##	##
	Crystallviolett	##	+	##	##	##
	Dahlia	—	—	##	##	##
	Fuchsin	—	+	##	##	##
	Gentianaviolett	—	±	##	##	##
	Hämatoxylin	—	—	##	##	+
	Methylenblau B. pat.	—	+	##	##	##
	Methylviolett B.	+	+	##	##	##
	Neutralrot	+	##	##	##	##
	Pyronin	—	—	##	##	##
	Thionin	—	—	##	##	##
	Toluidinblau	+	—	##	##	##

Tabelle 2

		Färbung der roten Blutkörperchen von:								
		Kaninchen	Rind	Meerschweinchen	Mensch	Ziege	Maus	Ratte	Katze	Hund
negativ geladene Farbstoffe	Aurantia									
	Bordeaux R.	##	++	++	+	+	++	+	+	±
	Carmin rubr. opt.									
	Carminsaur. Natron	++	++	++	++	±	++	++	-	+
	Congoroth	##	?	##	##	+	+	++	±	++
	Eosin bläul.	##	++	++	±	+	++	++	+	+
	Indigcarmin	++	++	+	-	-	-	-	+	+
	Indulin	##	++	++	##	++	##	++	+	+
	Rubin S.									
	Säurefuchsin									
positiv geladene Farbstoffe	Bismarckbraun									
	Cresylechtviolett	-	-	-	++	-	-	-	##	##
	Crystallviolett	+	±	++	++	++	##	##	##	##
	Dahlia	-	?	-	?	-	-	##	++	##
	Fuchsin	-	?	-	++	?	+	+	##	##
	Gentianaviolett	-	##	+	##	?	++	##	##	++
	Hämatoxylin	+	+	+	++	?	++	##	##	++
	Methylenblau B. pat.	-	-	+	+	+	++	+	++	##
	Methylviolett B.	+	+	-	-	##	##	##	++	++
	Neutralrot									
	Pyronin									
	Thionin	+	+	++	++	?	+	+	##	##
	Toluidinblau	-	-	-	-	+	+	+	-	##

Zu bemerken ist, dass die hier nicht gefärbten Blutkörperchen auch gefärbt werden können, wenn man konzentriertere Farbstofflösungen gebraucht oder die Dauer der Färbung verlängert. Das oben angegebene Resultat ist also

insofern besonders wertvoll, dass es erlaubt, die verschiedenen Färbegrade der Blutkörperchen miteinander zu vergleichen. Man kann das Resultat in aller Kürze so zusammenfassen: Je stärker negativ die roten Blutkörperchen geladen sind, desto stärker ziehen sie die positiv geladenen Farbstoffe an und färben sich mit ihnen und desto schwächer die negativ geladenen.

Das hier Erwähnte bezieht sich nur auf Blutkörperchen, die bei 120°C fixiert worden sind. Ich habe auch einen Versuch mit Präparaten unternommen, die nach dem Lufttrocknen in 4%iger Formalinlösung 15 Stunden lang fixiert und erst nach gründlichem Abspülen in die Farbstofflösungen gebracht worden waren. Das Resultat war wiederum bemerkenswert. Auch hier war in der Färbbarkeit der roten Blutkörperchen ein deutlicher Unterschied zu finden, wenn auch dieser Unterschied nicht so auffallend war wie im vorigen Versuche. Die Verschiedenheit der elektrischen Ladung der Blutkörperchen war auch hier trotz der Fixierung mit Formalin ziemlich gut erhalten, was ich mittels kataphoretischer Untersuchung feststellen konnte.

Ferner fixierte ich die lufttrocken gewordenen Präparate für 15 Stunden in einem Gemisch von absolutem Alkohol und Äther zu gleichen Teilen. Diese Präparate zeigen dann nicht mehr die oben gesehenen Unterschiede in der Färbbarkeit der roten Blutkörperchen. Auch die Unterschiede der elektrischen Ladung sind nicht mehr festzustellen. Man kann also wohl mit Recht annehmen, dass diejenige Substanz, welche in den Blutkörperchen je nach der elektrischen Ladung derselben verschiedene Färbbarkeit besitzt, in Alkohol und Äther löslich sei.¹⁾

1) O. Pascucci (Hofmeisters Beiträge Bd. 6, 1905) fand, dass die Stromata der Blutkörperchen zu etwa zwei Dritteln des Trockengewichts aus in Wasser und Kochsalzlösung unlöslichen Eiweissstoffen, zu etwa einem Drittel aus Lezithin, Cholesterin und geringen Mengen anderer in Alkohol oder Äther oder Chloroform löslichen Stoffen bestehen.

III. Beziehung zwischen der elektrischen Eigenladung der Bakterien und ihrer Widerstandsfähigkeit gegen Farbstoffe. Elektrische Ladung der in Formalinlösung aufbewahrten Bakterien.

Es sind schon zahlreiche Versuche gemacht worden, die elektrische Ladung von Bakterien zu bestimmen. Bechhold¹⁾ untersuchte Typhus-, Dysenteriebazillen und Staphylokokken und fand, dass alle Bakterien, agglutininbeladene und Normalbakterien, lebende und gekochte, zur positiven Elektrode wandern. Neisser und Friedemann²⁾ wiesen ebenfalls die anodische Wanderung der Normalbakterien nach. Aber nach ihnen werden Agglutininbakterien zwischen den Elektroden zusammengeflockt. Durch bis heute von vielen Forschern gemachte Arbeiten ist nachgewiesen, dass Typhus-, Dysenterie-, Milzbrand-, Coli-, Tuberkelbazillen und Staphylokokken elektronegativ geladen sind und nach der Anode wandern, während Flexner-Bazillen, Malariaplasmodien, Hühnerspirochäten und Recurrensspirochäten nach der Kathode wandern. Spirochaeta pallida wandert anodisch oder gar nicht. Trypanosomen wandern häufig zur Kathode.³⁾ Nach unserer Untersuchung⁴⁾ sind Staphylococcus albus und Bac. prodigiosus stark negativ geladen, während Staphylococcus aureus oft mässig negativ, manchmal aber sogar schwach positiv geladen ist. Später habe ich auch nachgewiesen, dass Staphylococcus albus, Bac. prodigiosus, der Heubazillus und der Colibazillus in neutraler physiologischer Kochsalzlösung in dieser Reihenfolge immer schwächer negativ geladen sind. Der Soorpilz ist deutlich negativ geladen. Vor kurzem hat Oka⁵⁾ eine ausführliche kataphoretische Untersuchung über viele pathogene Bakterien in neutraler

- 1) H. Bechhold, Die Ausflockung von Suspensionen bzw. Kolloiden und die Bakterienagglutination, Zeitschr. f. physik. Chemie, Bd. 48, Heft 4, 1904.
- 2) M. Neisser u. U. Friedemann, Studien über Ausflockungserscheinungen. Münch. med. Wochenschr., 1904, Nr. 11 u. 19.
- 3) Siehe: E. Putter, Untersuchungen über Bakterienkataphorese. Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Orig., Bd. 32, Heft 6, 1921.
- 4) K. Kosaka u. M. Seki, loc. cit.
- 5) M. Oka, Einfluss des konstanten Stromes auf die Bakterien. 34. jährl. mediz. Kongress: Februar 1923, Okayama.

physiologischer Kochsalzlösung angestellt. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt. Bakterien mit dem Zeichen * bzw. ** sind Bakterien gleichen Namens, aber verschiedenen Stammes.

Bakterien	Wanderungsrichtuugen	Geschwindigkeit (μ /sek)
Staphylococcus pyogenes albus	→+	5,37
Diplococcus gonorrhoeae	→+	4,32
Staphylococcus pyogenes aureus	→+	3,11
Bacillus tuberculosis	→+	2,92
Bacillus coli communis	→+	2,39
Bacillus anthracis*	→+	2,05
Vibrio cholerae	→+	2,00
Bacillus dysenteriae (Shiga)**	→+	1,60
Bacillus pyocyaneus	→+	1,05
Streptococcus pyogenes	→+	0,52
Bacillus diphtheriae	→+	0,48
Bacillus anthracis*	←←	0,04
Bacillus dysenteriae (I. Typus)	←←	0,36
Bacillus dysenteriae (IV. Typus)	←←	0,44
Bacillus paratyphosus B	←←	0,84
Bacillus dysenteriae (Shiga)**	←←	1,11
Bacillus typhosus	←←	1,41
Bacillus paratyphosus A	←←	1,56

Es fragt sich nun, ob das, was von der Färbbarkeit der roten Blutkörperchen erwähnt worden ist, auch von der Bakterien gilt. Vay¹⁾ fügte zu gewöhnlichem Fleischwasseragar Dahlia, bzw. Pfaublau (= Methyl = violett + Malachitgrün). Auf diesem Nährboden wuchs Staphylococcus albus und citreus niemals, während es mit Staphylococcus aureus gelang, einige Male bei sehr reichlicher Übertragung von Kulturmasse an einigen wenigen Stellen etwas Wachstum zu erzielen. Shiga-, Flexner-, Pest-,

1) F. Vay, Studien über die Strukturverhältnisse von Bakterien mit Hilfe von farbehaltigen Nährböden. Centralbl. f. Bakt. etc., I. Abt., Originale, Bd. 55, Heft 3, 1910.

Typhus-, Coli- und Paratyphusbazillen wuchsen sehr gut, und zwar in der hier angegebenen Reihenfolge immer besser. Ich selbst fand die Farbstoffe Dahlia und Pflaublau positiv geladen. Auch Hirakawa¹⁾ hat neulich eine ähnliche Untersuchung mit ungefähr 600 verschiedenen Farbstoffen durchgeführt. Nach ihm hindern Säurefarbstoffe das Wachstum der Bakterien wenig, basische Farbstoffe dagegen sehr stark. Aber Paratyphus A-, Paratyphus B-, Typhus- und Colibazillen, welche nach Oka und mir schwach negativ oder positiv geladen sind, werden von basischen Farbstoffen nur wenig beeinflusst. Dysenteriebazillen und Choleravibrio dagegen werden stark geschädigt. Milzbrand-, Heubazillen und Staphylococcus albus, welche am stärksten negativ geladen sind, sind auch in dieser Beziehung am empfindlichsten. Je stärker also die Bakterien negativ geladen sind, desto leichter wird ihre Keimfähigkeit von elektropositiven Farbstoffen aufgehoben.

Wie verhält es sich nun mit der Färbbarkeit der Bakterien? Es ist wohl bekannt, dass sich Bakterien in der Regel mit basischen Farbstoffen gut färben, mit Säurefarbstoffen dagegen schwerer, dass es hier aber wegen der sehr verschiedenen physikalischen und chemischen Eigenschaften der Bakterien viele Ausnahmen gibt. Was die vitale Färbung der Bakterien betrifft, so hat Hirakawa unter den 600 etwa 50 Farbstoffe gefunden, welche vital färben. Aber wie er auch bemerkte, ist es nicht möglich, mit allen Farbstoffen, die von lebenden Bakterien leicht aufgenommen werden, eine vitale Färbung zu erzielen, weil es eine notwendige Bedingung für die vitale Färbung ist, dass die Farbstoffe, ehe sie sich in den Bakterienleibern anhäufen und so für uns bemerkbar werden, das Leben der Bakterien nicht schädigen. Daher bedarf es noch weiterer Untersuchungen, ehe wir über die Beziehung zwischen der elektrischen Ladung der Bakterien und ihrer vitalen und postvitalen Färbung Bestimmtes sagen können.

Wie im vorigen Kapitel erwähnt worden ist, wird die elektrische Ladung der roten Blutkörperchen von Formalin sehr wenig beeinflusst. Es fragt sich nun, ob dasselbe auch bei Bakterien gilt. Die in 1%iger For-

1) H. Hirakawa, Einfluss des Farbstoffes auf die Bakterien (I. Mitteilung). Zeitschr. d. japan. mikrobiolog. Gesellschaft, Bd. 17, Heft 1, 1923. (japanisch)

malinlösung 2 Monate lang aufbewahrten Bakterien *Staphylococcus albus*, *Bacillus prodigiosus*, *Staphylococcus aureus* und *Bacillus typhosus* sind in physiologischer Kochsalzlösung kataphoretisch untersucht worden. Diese Bakterien zeigen in Bezug auf elektrische Ladung fast gar keinen Unterschied von normalen lebenden. Wenn man sie der Wirkung des Immunserrums (von Kaninchen) unterwirft (in mit 0,9%iger Kochsalzlösung auf 25-fache verdünnter Serumlösung bei 30°C 3 Stunden lang), so verlieren sie auch ihre Ladung und agglutinieren. Die Versuche haben folgendes ergeben :

		Kataphoretische Geschwindigkeit (μ /sek) der Bakterien :			
		Staphyl. albus	Bac. prodigiosus	Staphyl. aureus	Bac. typhosus
Immunserrum von	Staphyl. albus	1,1→+	1,7→+	1,0→+	0,8→+
	Bac. prodigiosus	3,7→+	←-0,3	2,0→+	0,5→+
	Staphyl. aureus	2,5→+	1,7→+	0,3→+	0,5→+
	Bac. typhosus	2,5→+	1,5→+	1,6→+	0
ohne Serum		4,4→+	2,0→+	1,2→+	0,2→+

Sicherheitshalber wiederholte ich diese Versuche mit den genannten Bakterien und noch zwei anderen, *Bacillus subtilis* und *coli*, welche alle 1 Woche lang in 0,5%iger Formalinlösung aufbewahrt worden waren. Das Ergebnis war ganz das gleiche.

IV. Zusammenfassung.

1. Es scheint berechtigt anzunehmen, dass die meisten Farbstoffe, die elektrisch negativ geladene Zellen vital und supravital gut färben, elektropositiv geladen sind. Die elektrisch positiv geladenen Histozyten nehmen elektronegative Teilchen und Farbstoffe leicht auf.

2. Die elektrische Ladung der roten Blutkörperchen wird durch Trocknen, durch Hitze (120°C) und durch Formalin wenig beeinflusst. Je

stärker elektrisch negativ die so fixierten roten Blutkörperchen geladen sind, desto stärker färben sie sich mit positiv geladenen Farbstoffen und desto weniger mit negativ geladenen.

3. Die Versuche von Oka, Vay, Hirakawa und auch meine eigenen Versuche machen es mir höchst wahrscheinlich, dass die Keimfähigkeit negativ geladener Bakterien durch elektropositive Farbstoffe um so stärker beeinträchtigt wird, je stärker negativ die Bakterien geladen sind.

4. Die in Formalinlösung aufbewahrten Bakterien zeigen in Bezug auf ihre elektrische Ladung fast gar keinen Unterschied von normalen, lebenden Bakterien. Und wenn man sie der Einwirkung von Immunsorum aussetzt, so verlieren sie auch wie lebende Bakterien ihre elektrische Ladung und agglutinieren.

Zum Schluss halte ich es für meine Pflicht, Herrn Prof. Dr. Kosaka für seine freundliche Anregung und Unterstützung und Herrn Prof. Dr. Yagita und Herrn Prof. Dr. Shikinami für gewährte Erleichterung bei dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.
