

О біологической реакціи на мышьякъ.

Д-ра Д. В. Игнатовича.

I

Происхожденіе реакціи и ея сущность.

Въ прежнее время для приготовленія красокъ очень часто употреблялся мышьякъ. Такъ, реалгаръ (двусѣрнистый мышьякъ) давалъ красную краску, аурипигментъ (трехсѣрнистый мышьякъ) желтую; Шеелевская зелень (щелочная мышьяковистая соль окиси мѣди) и Швейнфуртская зелень (мышьяковисто-уксусно-кислая мѣдь) примѣнялись въ качествѣ зеленыхъ красокъ. Особенно часто примѣнялась Швейнфуртская зелень, благодаря красивому зеленому цвѣту и нерастворимости въ водѣ. Легкія матеріи для бальныхъ платьевъ, различныя шелковыя матеріи, вуали, искусственные цвѣты и листья, дѣтскія игрушки, бумажныя обложки для конфетъ и съѣстныхъ припасовъ—все это, если имѣло зеленый цвѣтъ, красилось Швейнфуртской зеленою. Эрисманъ говоритъ, что при изслѣдованіи одного образчика зеленого тарлатана (матеріи, употреблявшейся для дамскихъ платьевъ) оказалось, что все платье по расчету содержало не менѣе 60 граммовъ мышьяковистой кислоты. Матеріи не зеленого цвѣта также подчасъ содержали значительныя количества мышьяка, потому что онъ часто употреблялся въ красильномъ дѣлѣ въ качествѣ протравы.

Еще въ большихъ количествахъ мышьякъ въ видѣ красокъ примѣнялся при изготовленіи обоевъ и при окраскѣ стѣнъ жилыхъ помѣщеній. Такъ Th. Nochъ указываетъ, что на обмазку одной комнаты средней величины употреблено было около одного кило-

грамма краски, содержащей не менѣе 58 процентовъ мышьяковистаго ангидрида. Rossbach нашель, что обои одной комнаты, поверхность стѣны которой равнялась 46 квадратнымъ метрамъ, содержали столько мышьяковистаго ангидрида, что его было бы достаточно вызвать отравленіе у 5400 человекъ или смерть у 900.

Большое же содержаніе мышьяка въ обояхъ и краскахъ на стѣнахъ не могло, конечно, не отражаться на здоровьи жившихъ въ такихъ помѣщеніяхъ. И дѣйствительно, — наблюдалось очень много случаевъ отравленія мышьякомъ тамъ, гдѣ онъ могъ про- извести свое дѣйствіе только изъ обоевъ или стѣнныхъ красокъ.

Тогда возникъ вопросъ: какъ же происходитъ отравленіе въ такихъ помѣщеніяхъ?

Механическое стираніе красокъ со стѣны и обоевъ и распыленіе ихъ считалось для этого не вполне достаточнымъ, такъ какъ если оно и бываетъ, то случайно и въ небольшихъ количествахъ.

Подмѣтили, что въ помѣщеніяхъ, оклеенныхъ мышьякъ содержащими обоями, часто появляется особый пронзительный запахъ чеснока, который является характернымъ для мышьяковистаго водорода, и Hamberg (1875 г.), изслѣдуя воздухъ въ одномъ изъ такихъ зараженныхъ помѣщеній, нашель, что онъ (воздухъ), пропущенный чрезъ слой ваты въ количествѣ 2160 литровъ, давалъ въ аппаратѣ Марша ясное зеркало мышьяка. Пропусканіе воздуха чрезъ слой ваты дѣлалось съ той цѣлью, что-бы очистить его отъ пыли и пылеобразныхъ частицъ мышьяка.

Тогда явилось предположеніе, что мышьякъ выдѣляется изъ краски обоевъ въ видѣ летучихъ соединеній подѣ влияніемъ тепла и сырости, особенно въ присутствіи органическихъ веществъ, напримеръ — клея, которымъ обои прикрѣпляются къ стѣнамъ.

Но болѣе тщательныя наблюденія показали, что этихъ условий также еще недостаточно для образованія летучихъ соединеній мышьяка. Fleck указалъ, что появленіе чесночнаго запаха можно наблюдать только въ такихъ помѣщеніяхъ, гдѣ имѣется на лицо, кромѣ трехъ вышеуказанныхъ условий, — еще одно, именно: гдѣ на сырыхъ мѣстахъ стѣны развиваются плѣсневые грибки. Вслѣдъ за Fleck'омъ цѣлый рядъ другихъ изслѣдователей пришелъ къ такому же заключенію.

Тогда въ 1891 году Gosio сдѣлалъ опыты съ питательной средой содержащей мышьякъ, культивируя на ней различные плѣсневые грибки и получилъ въ нѣкоторыхъ случаяхъ ясно выраженный чесночный запахъ культуръ. Послѣ этого онъ сталъ изолировать отдѣльныя плѣсени и оказалось, что способностью давать чесночный запахъ въ присутствіи мышьяка обладаютъ только немногіе изъ плѣсневыхъ грибковъ. Gosio перечисляетъ слѣдующіе виды: *Penicillium brevicaulis*, *Aspergillus glaucus*, *A. niger*, *A.*

Virens и A. Virescens, затѣмъ *mucor ramosus*, *Sterygmatocystis ochracea*, *cephalotecium rosacea* и одинъ изъ видовъ *mucor mucedo*. Изъ всѣхъ этихъ грибовъ—*penicillium breviscaule* оказался самымъ чувствительнымъ биологическимъ реагентомъ по отношенію къ мышьяку, почему именно этотъ грибокъ обыкновенно и примѣняется для открытія мышьяка. *Penicillium breviscaule*, развиваясь на объектахъ, содержащихъ хотя бы слѣды мышьяка, вызываетъ образованіе летучихъ мышьяковыхъ соединеній, обладающихъ характернымъ чесночнымъ запахомъ.

Этотъ способъ обнаруженія мышьяка при помощи живыхъ существъ—плѣсневыхъ грибовъ—носитъ названіе биологическаго способа открытія мышьяка или биологической реакціи на мышьякъ. Сущность ея состоитъ въ томъ, что если въ подлежащемъ изслѣдованію матеріалѣ имѣется мышьякъ, то при выращиваніи на немъ грибка *penicillium breviscaule*, обязательно развивается чесночный запахъ.

По предложенію профессора Н. А. Геркена я занялся изученіемъ этой реакціи.

II

Питательныя среды для выращиванія грибовъ вообще и penicillium breviscaule въ частности.

Приступая къ работѣ, мнѣ прежде всего было необходимо поддерживать культуру *penicillium breviscaule*, полученную мной отъ проф. Н. А. Геркена, чтобы съ одной стороны всегда имѣть запасъ чистыхъ и свѣжихъ грибовъ—на случай возможныхъ загрязненій, и съ другой стороны для ознакомленія и изученія ихъ морфологическихъ свойствъ.

Для выращиванія плѣсневыхъ грибовъ предлагались различныя питательныя среды, обыкновенно слабо-кислыя и сахаръ—содержащія, какъ на примѣръ: пюре изъ вареныхъ сливъ, виноградный сокъ съ агаромъ, пивные дрожжи и т. д. Но всѣ эти среды не всегда и не вездѣ можно достать, особенно чистые пивные дрожжи. Поэтому я попытался приготовить другую среду—изъ такъ называемой „квасной гущи“ или иначе—просто „гущи“. Она представляетъ собою осадокъ, получающійся на днѣ бочки съ квасомъ, который готовится изъ ржаной муки, солода и дрожжей. Такъ какъ квасъ является національнымъ русскимъ напиткомъ, то гущу повсюду можно достать очень легко. Но гуща, не смотря на свое названіе, всетаки сравнительно жидка, а избытокъ жидкости вредитъ росту *penicillium breviscaule*. Для избѣжанія этого

недостатка оказалось необходимымъ фильтровать гущу черезъ бумажный фильтръ и пользоваться лишь остаткомъ на немъ. Этотъ остатокъ размѣшался по колбамъ и пробиркамъ, стерилизовался по общимъ правиламъ, и, по охлажденіи, засѣвался грибомъ.

Въ такомъ видѣ матеріалъ для питательной среды оказался мало пригоднымъ, потому что трудно было накладывать въ пробирки густую массу и кромѣ того сильная кислотность ея задерживала ростъ *penicillium brevicaulis*.

Послѣ этой неудачи былъ приготовленъ 2 процентный агаръ-агаръ съ прибавкой къ нему третьей части нефилътрированной квасной гущи. Эта смѣсь разливалась въ пробирки и стерилизовалась обычнымъ способомъ. Приготовленный такимъ образомъ косою „агаръ-гуща“ оказался очень подходящей средой для выращивания грибка. Позднѣе я сталъ примѣнять и другую среду—„агаръ-квасъ“, составленный изъ 2-хъ частей 2 процентнаго агаръ-агара и 1 части обыкновеннаго кваса. Эта среда оказалась столь же хорошей, какъ и агаръ-гуща, но имѣющей, кромѣ того, преимущество прозрачности, а это обстоятельство весьма важно при разсматриваніи колоній грибовъ подъ микроскопомъ.

III

Penicillium brevicaulis, его ростъ и микроскопическое строеніе.

Приготовленные такимъ способомъ пробирки засѣвались при помощи обыкновенной платиновой петли *penicillium brevicaulis*. Чтобы выяснитъ условія наилучшаго роста грибка, часть пробирокъ ставилась въ термостатъ, при температурѣ въ 37°—С., а часть оставалась при комнатной температурѣ. Уже въ началѣ вторыхъ сутокъ въ послѣднихъ пробиркахъ можно было замѣтить по мѣстамъ слабый слизисто-бѣловатый налетъ; а въ пробиркахъ стоявшихъ въ термостатѣ еще ничего не обнаруживалось и только на третьи сутки въ нихъ развивался слизисто-бѣловатый налетъ; въ пробиркахъ же, стоявшихъ при комнатной температурѣ къ этому времени налетъ становился болѣе толстымъ, плотнымъ и кромѣ того получалъ прекрасный бѣлый цвѣтъ. Затѣмъ, какъ въ тѣхъ, такъ и въ другихъ пробиркахъ дальнѣйшій ростъ грибка обнаруживался только выше уровня конденсаціонной воды. Въ началѣ четвертыхъ сутокъ колоніи грибовъ во всѣхъ пробиркахъ значительно увеличались какъ въ горизонтальномъ, такъ и въ вертикальномъ направленіяхъ; на пятыи сутки средины отдѣльныхъ колоній дѣлались матовыми, какъ бы осыпанными мукой, а края оставались тѣми же бѣлыми какъ и прежде и только въ термостатныхъ пробиркахъ

эта разница была выражена нѣсколько слабѣ; на шестые сутки поверхность колоній покрывалась сплошнымъ мучнистымъ налетомъ, отдѣльныя колоніи сливались и границы между ними различались съ трудомъ. При дальнѣйшемъ стояніи пробирокъ колоніи грибовъ не измѣнялись, только цвѣтъ ихъ нѣсколько темнѣлъ и принималъ слегка сѣро-желтоватый оттѣнокъ.

Изъ этихъ наблюденій обнаружилось, что грибокъ *penicillium breviscaule* лучше растетъ при комнатной температурѣ, чѣмъ при температурѣ тѣла, т. е. при 37°. Должно замѣтить, что комнатная температура колебалась отъ 14° и до 20° R. Послѣ этого часть пробирокъ съ грибомъ была помѣщена на окнѣ при температурѣ приблизительно въ 10—12° R, а часть возлѣ печки, гдѣ температура держалась все время приблизительно на 20° R. Въ первыхъ пробиркахъ грибокъ развивался слабо и очень медленно; напротивъ, во вторыхъ, стоявшихъ при температурѣ въ 20° R, грибокъ совершенно развился даже не въ шесть дней, а въ четыре. На основаніи этихъ наблюденій можно, по моему мнѣнію, сдѣлать заключеніе, что optimum температуры для развитія *penicillium breviscaule* находится гдѣ-нибудь около 20° R.

Параллельно съ наблюденіемъ роста грибка производилось и его микроскопическое изслѣдованіе. Препараты для этого готовились обычнымъ способомъ: на предметное стеклышко наносилась капелька глицерина; въ нее помѣщалась частичка взятой изъ пробирки колоніи; послѣдняя тщательно расчищивалась иглами и покрывалась покровнымъ стеклышкомъ. Препараты разсматривались съ малымъ и большимъ увеличеніемъ. Оказалось, что первоначальный слизисто-бѣловатый налетъ состоитъ изъ тонкихъ и нѣсколько вытянутыхъ въ длину клѣтокъ. Эти клѣтки—нити переплетаются между собою во всевозможныхъ направленіяхъ и въ мѣстахъ переплета часто срастаются, такъ что въ результатѣ получается довольно толстая и плотная войлокообразная масса. Это грибница или мицелій *penicillium breviscaule*. Изъ нея отходятъ болѣе толстыя прямыя нити—споросцы; они на свободныхъ концахъ вилообразно развѣтвляются, иногда нѣсколько разъ, и каждая вѣтвь оканчивается какъ бы кисточкой изъ тоненькихъ ниточекъ—это такъ называемыя стеригмы; онѣ заканчиваются спорами въ видѣ мелкихъ, шарообразныхъ одноклѣточныхъ тѣлецъ съ слабо желтоватой окраской. Замѣчаемый на колоніяхъ грибка мучнистый сѣро-желтоватый налетъ и состоитъ исключительно изъ такихъ споръ.

Такую картину въ ея послѣдовательномъ развитіи можно наблюдать разсматривая въ микроскопъ или сильную лупу колонію грибка, развившуюся только изъ одной споры. При этомъ можно видѣть, что грибокъ этотъ внутри среды почти не вросаетъ, а развивается главнымъ образомъ на поверхности.

IV

Питательныя среды для постановки біологической реакціи на мышьякъ и общія правила для производства ея.

Послѣ ознакомленія съ ростомъ и строеніемъ грибка *penicillium breviscaule* было приступлено къ производству опытовъ съ нимъ. Первые опыты ставились въ колбахъ съ агарь-гущей и мышьякомъ; результаты получались положительныя; но собиравшаяся на поверхности питательной среды конденсаціонная вода очень задерживала ростъ грибовъ. Поэтому пришлось прибѣгнуть къ употребленію другихъ средъ.

Gosio, положившій начало біологической реакціи, рекомендовалъ въ качествѣ питательной среды вареный картофель. Послѣдній употреблялся въ видѣ клиновидныхъ кусковъ или пластинокъ; при этомъ изслѣдуемый матеріалъ заземлялся между двумя кусочками картофеля или же помѣщался въ особыя углубленія, которыя вырѣзывались на поверхности пластинокъ. Этотъ способъ, хотя и даетъ хорошіе результаты, но не удобенъ въ томъ отношеніи, что позволяетъ изслѣдовать сразу только небольшія количества испытываемаго матеріала. Для устраненія этого недостатка Gosio предложилъ картофельную кашу; но и она оказалась мало пригодной питательной средой, потому что противно-сладкій запахъ большихъ массъ варенаго картофеля иногда, особенно при небольшомъ количествѣ мышьяка въ изслѣдуемомъ матеріалѣ, совершенно заглушаетъ слабый чесночный запахъ. Кромѣ того, изслѣдование жидкостей съ картофельной кашей неудобно и потому, что получается избытокъ жидкости, а послѣдній задерживаетъ ростъ *penicillium breviscaule*.

Самой удобной средой для производства біологической реакціи является такъ называемая „хлѣбная каша“, впервые предложенная для этой цѣли Abel'емъ и Bittenberg'омъ. Для приготовленія ея берется черствый хлѣбъ, освобождается отъ корокъ, крошится на мелкіе кусочки и высушивается въ печи. Эти сухари могутъ сохраняться очень долгое время.

Какой же хлѣбъ удобнѣе всего брать для приготовленія сухарей?

Обыкновенный ржаной хлѣбъ, такъ называемый „черный“, мало пригоденъ, потому что сваренная изъ него каша обладаетъ самостоятельнымъ довольно сильнымъ запахомъ. Нѣсколько лучше въ этомъ отношеніи „пеклеванный“ или „ситный“ хлѣбъ, то есть хлѣбъ, испеченный изъ 1-го сорта ржаной муки. Но наиболѣе пригоденъ пшеничный хлѣбъ, именно булка „французская“ или

домашняя; пшеничный же вѣсовой хлѣбъ или „калачъ“ имѣеть очень кислый запахъ и потому тоже мало годится. Но работа съ булками по справедливому замѣчанію Abel'я, обходится довольно дорого. Поэтому я перешелъ главнымъ образомъ на такъ называемый „сѣрый хлѣбъ“, приготовляемый изъ трехъ четвертей грубой пшеничной муки (5-го сорта) и одной четверти обыкновенной ржаной. Этотъ хлѣбъ хорошъ тѣмъ, что и вареный почти не имѣеть никакого запаха. Въ крайнемъ случаѣ, если сухарей изъ сѣраго или бѣлаго хлѣба не имѣется, а почему либо требуется скоро сдѣлать биологическую реакцію, можно воспользоваться кускомъ свѣжей домашней булки, или даже „ситнаго“ хлѣба. При употребленіи послѣдняго должно, по возможности, брать такіе кусочки, гдѣ бы не было сѣмянъ тмина (*semen seu fructus carvi*), которыя очень часто прибавляются къ хлѣбу въ качествѣ пряности. Поставленные мной опыты показали, что прибавки этихъ сѣмянъ уже въ количествѣ 0,1 грамма на колбу въ 100 граммовъ сильно задерживаетъ развитие *penicillium breviscaule*.

Измельченные хлѣбные сухари или маленькіе кусочки свѣжей булки насыпаются въ колбы.

Послѣднія не должны быть слишкомъ малы; самыя подходящія—емкостью отъ 200 до 500 кубическихъ сантиметровъ,—подходящія потому, что въ нихъ скопляется достаточное количество газа для яснаго обнаруженія чесночнаго запаха и даже для производства съ этимъ газомъ химической реакціи на мышьякъ. Колбы обязательно должны быть чисто вымыты дистиллированной водой и высушены.

Когда въ такую колбу всыпано извѣстное количество сухарей, къ нимъ прибавляется изслѣдуемый матеріалъ. Если послѣдній—твердое тѣло, то его необходимо превратить въ мелкіе кусочки и уже въ такомъ видѣ всыпать въ колбу съ сухарями. Обыкновенно приходится брать одинаковые объемы какъ сухарей, такъ и испытываемого матеріала; но если есть основаніе предполагать, что испытываемый матеріалъ можетъ вредно вліять на ростъ *penicillium breviscaule*, то удобнѣе сразу взять больше сухарей, чѣмъ испытываемого вещества.

Колбы съ послѣднимъ и сухарями нѣсколько разъ встряхиваются, чтобы оба эти вещества были перемѣшаны болѣе или менѣе равномерно. Послѣ этого въ колбу наливается такое количество дистиллированной воды, чтобы содержимое колбы было хорошо пропитано ей; но избытка воды не должно быть.

Если же подлежащее изслѣдованію вещество—жидкость, то ею прямо пропитываются сухари въ колбѣ, конечно, если составъ ея не препятствуетъ росту грибовъ; если же она обладаетъ такимъ свойствомъ, то сначала необходимо парализовать его разве-

деніемъ водой или же нейтрализаціей. Кислыя жидкости и даже кислоты—сѣрную, соляную, азотную и т. д. нейтрализуютъ двууглекислымъ натромъ или углекислымъ кальціемъ; особенно удобенъ послѣдній, потому что даже избытокъ его не мѣшаетъ росту грибка. Если же изслѣдуемая жидкость очень щелочной реакціи, то ее нейтрализуютъ какими либо органическими кислотами, напримеръ—лимонной или виннокаменной. Конечно, при этомъ необходимо наблюдать, чтобы всѣ прибавляемыя вещества сами были совершенно свободны отъ мышьяка.

Должно замѣтить, что такія вещества, какъ карболовая кислота, креозотъ и ихъ производныя не могутъ быть изслѣдованы посредствомъ этой реакціи, потому что уже незначительная примѣсь ихъ убиваетъ грибокъ.

Когда колбы приготовлены, ихъ плотно закрываютъ ватными пробками и стерилизуютъ. Для этого можно пользоваться автоклавомъ, дѣйствуя имъ при температурѣ 120—134° въ теченіе 10—20 минутъ; но если автоклава подъ руками нѣтъ, то можно стерилизовать даже на водяной банѣ; конечно въ такомъ случаѣ стерилизація должна производиться нѣсколько дней подъ рядъ и каждый день не менѣе часа.

Послѣ того какъ стерилизованныя колбы совершенно остынутъ, ихъ засѣваютъ культурой *penicillium breviscaule*. Для этого предложенъ слѣдующій способъ: берется стерильный бульонъ, заражается въ достаточномъ количествѣ спорами грибка и сильно встряхивается; а затѣмъ этимъ бульономъ равномерно поливается содержимое колбы. Такой способъ засѣванія очень хорошъ въ томъ отношеніи, что даетъ возможность распределить зародыши сразу по всей поверхности колбы.

Но здѣсь, во первыхъ, можетъ не отказаться въ запасъ стерилизованнаго бульона; во вторыхъ, при вливаніи бульона въ колбу легко можетъ получиться избытокъ жидкости и, въ третьихъ, наконецъ, при такомъ способѣ засѣванія колбъ очень легко можетъ произойти загрязненіе культуры *penicillium breviscaule* другими грибами, если не въ моментъ зараженія бульона, то при наливаніи его въ колбы.

Поэтому мнѣ казалось болѣе удобнымъ засѣвать свои колбы обыкновенной толстой платиновой петлей, конецъ которой былъ немного загнуть, такъ что получалось нѣчто вроде ложки. Такой петлей можно сразу взять столько споръ грибковъ, что ихъ будетъ достаточно для зараженія колбы въ очень многихъ мѣстахъ. Этотъ способъ гораздо проще, менѣе хлопотливъ и результаты, въ общемъ, даетъ не хуже перваго, только можетъ быть на день позже.

При засѣваніи колбу надо держать въ горизонтальномъ положеніи.

Засѣянные колбы тотчасъ же закрываются обожженными ватными пробками, поверхъ которыхъ надѣваются резиновые колпачки. Последніе необходимы для того, чтобы предохранить колбу отъ быстрого высыхания и чтобы чесночный запахъ, развившійся въ какой-либо колбѣ, распространяясь въ воздухъ, не ввелъ бы въ заблужденіе при изслѣдованіи запаха другой сосѣдней колбы.

Послѣ этого колбы ставятся въ комнату при температурѣ 17—20° R, но не на солнечной сторонѣ.

Дня черезъ два—три уже можно наблюдать появленіе чесночнаго запаха. Scholtz указываетъ, что запахъ появляется уже черезъ нѣсколько часовъ и не позже, какъ черезъ сутки; но мы ни разу не удавалось подмѣтить его именно въ это время, потому что только черезъ 36 часовъ посѣянные споры хорошо проросли и давали сформированныя колоніи. Напротивъ, скорѣе бываетъ запоздалое развитіе запаха, напримѣръ на 5—6-е сутки, а нѣкоторые авторы, какъ Бутягинъ—напримѣръ, указываютъ, что запахъ иногда появляется только черезъ 10—15 дней.

Запоздалое появленіе запаха скорѣе всего можно объяснить тѣмъ, что при смѣшеніи испытуемаго вещества съ сухарями—последнее случайно не попало на верхъ и грибокъ при своемъ развитіи сначала не приходитъ въ соприкосновеніе съ содержащимъ мышьякъ веществомъ.

Если же по истеченіи двухъ недѣль чесночный запахъ не разовьется въ колбѣ, то это укажетъ на отсутствіе мышьяка въ испытуемомъ веществѣ.

V

Чувствительность реакціи съ penicillium breviscaule.

Перехожу теперь къ описанію самыхъ опытовъ съ penicillium breviscaule.

Для изученія реакціи этого грибка съ мышьякомъ я пользовался однопроцентнымъ растворомъ мышьяковистой кислоты въ видѣ официального препарата solutio arsenicalis Fowleri. Остановился я на этомъ препаратѣ потому, что его очень легко всегда достать и легко можно дозировать и брать для опытовъ самыя ничтожныя количества мышьяка.

Пробы съ Fowler'овымъ растворомъ ставились такъ: въ тщательно вымытыя дистиллированной водой колбы всыпалось по 15,0 граммовъ сухарей изъ сѣраго хлѣба и наливалось столько дистиллированной воды, чтобы получилась хлѣбная каша безъ избытка жидкости; для этого приходилось вливать въ каждую колбу

по 45 кубическихъ сантиметровъ воды, то есть въ три раза больше, чѣмъ сухарей. Въ такую хлѣбную кашу вливался Fowler'овъ растворъ въ количествѣ 1,0—0,1—0,01—0,001, 0,0001 и 0,00001 кубическаго сантиметра. Каждый изъ этихъ растворовъ вносился въ двѣ колбы и кромѣ того были приготовлены еще двѣ колбы съ хлѣбной кашей, но безъ Fowler'ова раствора. Последнія должны были показать, что приготовленная хлѣбная каша сама по себѣ была свободна отъ мышьяка.

Здѣсь кстати, можно указать, что и въ дальнѣйшемъ, при всякомъ новомъ опытѣ, всегда готовились одна-двѣ контрольные колбы. Онѣ служили, во 1-хъ, для доказательства чистоты употребленныхъ матеріаловъ и, во 2-хъ, для полученія грибка *penicillium breviscaule* для посѣвовъ на другихъ колбахъ при новыхъ опытахъ.

Черезъ два дня на третій появлялся чесночный запахъ въ колбахъ съ 0,1 и 1,0 Fowler'ова раствора, черезъ три дня въ колбахъ съ 0,01 и 0,001 а черезъ четыре дня былъ обнаруживаемъ чесночный запахъ и въ колбахъ съ $\frac{1}{10}$ миллиграмма *Solutio Fowleri*, то есть съ одной миллионной частью грамма мышьяковистой кислоты; колбы же съ $\frac{1}{100}$ миллиграмма Fowler'ова раствора и безъ него не давали никакого запаха даже черезъ двѣ недѣли.

Нѣсколько позже мнѣ представился случай продѣлать эту биологическую реакцію съ кусочкомъ вещества красновато-желтаго цвѣта, которымъ пытался отравиться одинъ алкоголикъ. Симптомы отравленія, да и внѣшній видъ этого вещества, заставляли предполагать, что это одно изъ соединеній мышьяка, вѣроятно реальгаръ. Маленькій кусочекъ его былъ положенъ въ центръ колбы съ 60 граммами обычно приготовленной хлѣбной каши, а черезъ три дня послѣ стерилизаци и засѣванія грибкомъ въ колбѣ развился ясный чесночный запахъ. Изъ оставшейся части этого вещества кусочекъ вѣсомъ около 0,1 былъ изслѣдованъ химически и оказался содержащимъ мышьякъ.

VI

Изслѣдованіе марли, обоевъ, бумажныхъ салфетокъ, цветныхъ мыльковъ и нѣкоторыхъ анилиновыхъ красокъ.

Когда вопросъ о чувствительности къ мышьяку имѣвшася въ моемъ распоряженіи грибка былъ выясненъ, то начаты были изслѣдованія такихъ веществъ, въ которыхъ можно было рассчитывать найти мышьякъ.

Прежде всего были взяты для изслѣдованія три образчика марли зеленого цвѣта, но различныхъ оттѣнковъ. Такая марля очень часто употребляется дамскими портными. Отъ каждаго образца брался кусокъ въ сто квадратныхъ сантиметровъ, разрѣзался на мелкія части и смѣшивался въ колбѣ съ сухарями. Но такъ какъ объемъ разрѣзанной марли былъ не великъ, то въ каждую колбу сухарей всыпалось только по 10 граммовъ, воды же понадобилось по 35 кубическихъ сантиметровъ. Послѣ обычной стерилизации колбы были засѣяны грибокѣмъ, но даже и черезъ 2 недѣли во всѣхъ колбахъ какъ съ марлей, такъ и безъ нея, не было никакого запаха. Одновременно такое же изслѣдованіе производилось и въ колбахъ съ кашей изъ французской булки; ростъ грибка и результатъ изслѣдованія получился такой же, какъ и въ первыхъ колбахъ.

Послѣ марли были изслѣдованы обои. Правда обои производства русскихъ фабрикъ были уже и раньше изслѣдованы. Такъ: Драгендорфъ въ Юрьевѣ изслѣдовалъ 176 образцовъ обоевъ и въ 41 случаѣ нашелъ мышьякъ; позднѣе Бубновъ въ Москвѣ изслѣдовалъ 121 образецъ обоевъ и всѣ они дали отрицательный результатъ. Всѣ эти изслѣдованія производились химическимъ путемъ. А такъ какъ біологическая реакція много чувствительнѣе, чѣмъ химическія, и, кромѣ того, въ доступной мнѣ литературѣ не было указаній на изслѣдованіе русскихъ обоевъ біологическимъ путемъ, то было интересно поставить нѣсколько опытовъ въ этомъ направленіи. Съ этой цѣлью было приобрѣтено въ нѣсколькихъ магазинахъ г. Казани 23 куска обоевъ различныхъ качествъ и въ различныхъ цѣны, преимущественно, однако, обои брались низшихъ сортовъ (отъ 25 и до 8 копеекъ за кусокъ). Самое изслѣдованіе производилось такимъ образомъ: согласно „положеніямъ для всеобщаго испытанія обоевъ“, опубликованнымъ въ 1882 году Томсомъ, профессоромъ Рижскаго Политехникума, отъ каждаго образца обоевъ отрѣзался кусокъ въ 100 квадратныхъ сантиметровъ, размельчался на части и смѣшивался съ сухарями; но сухарей при этомъ приходилось брать около 50 граммовъ, воды же около 165 куб. сантиметровъ. Послѣ этого колбы стерилизовались текучимъ паромъ втеченіе трехъ дней по одному часу и засѣвались грибокѣмъ.

Въ 22 случаяхъ получился отрицательный результатъ, и только въ одномъ дешевомъ сортѣ, „пасхальномъ“ какъ называли его торговцы, на пятый день появился слабый, еле замѣтный чесночный запахъ. Тогда былъ взятъ кусокъ этого сорта обоевъ не въ сто квадратныхъ сантиметровъ, а въ пятьсотъ. А такъ какъ онъ, будучи изрѣзанъ, имѣлъ сравнительно очень большой объемъ, то въ обычно употреблявшихся колбахъ прежнимъ способомъ нельзя было продѣлать эту реакцію. Поэтому взятый кусокъ обоевъ былъ

сначала сварены въ дистиллированной водѣ и превращены въ кашу. Последняя была смѣшана въ колбѣ съ сухарями и послѣ стерилизаціи засѣяна *penicillium breviscaule*. Уже черезъ три дня въ колбѣ появился ясно выраженный чесночный запахъ.

Такимъ же способомъ, какъ и oben, было изслѣдовано шесть сортовъ ресторанныхъ бумажныхъ салфетокъ, такъ называемыхъ „японскихъ“. Изслѣдованіе ихъ было вызвано рисунками ярко-зеленаго и краснаго цвѣтовъ. Такъ какъ салфетки эти очень тонки, то объемъ одной изрѣзанной салфетки оказался равнымъ приблизительно объему 35 граммовъ сухарей; поэтому въ каждую колбу вливалось около 140 кубическихъ сантиметровъ воды. Черезъ 2 недѣли послѣ стерилизаціи и засѣванія грибомъ—результатъ получился отрицательный.

Вслѣдъ за этимъ были испытаны на мышьякъ различныхъ цвѣтовъ мѣлки, которые очень часто употребляются при преподаваніи. Было взято по 2,0 (грамма) превращенныхъ въ порошокъ семи мѣловыхъ карандашей фабрики Голицинскаго въ Москвѣ и по 2,0 же отъ четырехъ сортовъ цвѣтнаго мѣла въ кускахъ. Такъ какъ брался небольшой объемъ мѣла, то сначала приготавлилась хлѣбная каша (15,0 сырыхъ сухарей + 45,0 воды), а затѣмъ мѣлъ насыпался на поверхность ея. Съ каждымъ сортомъ мѣла было приготовлено по 2 колбы. Черезъ четыре дня грибокъ хорошо развился, но запаха ни въ одной колбѣ не было. Только черезъ 10 дней въ колбахъ съ 2 граммами синяго мѣла въ кускъ появился какой-то особенный очень слабый запахъ. Такъ какъ точно опредѣлить—былъ ли это чесночный запахъ—не представлялось возможнымъ, то были приготовлены снова 2 колбы съ хлѣбной кашей и въ каждую колбу было всыпано по 7,5 граммовъ того же сорта мѣла. Эти колбы, засѣяныя грибомъ, стояли по 18 дней и все-таки чесночнаго запаха въ нихъ не появилось.

До сихъ поръ изслѣдовались все окрашенные предметы. Между тѣмъ интересно было подвергнуть изслѣдованію и самыя краски употребляемыя въ микроскопической техникѣ—были изслѣдованы біологически еще въ 90-хъ годахъ прошлаго столѣтія (Аbelemъ и Bittenberg'омъ). Поэтому мной были изслѣдованы болѣе употребительныя. Такъ какъ, по словамъ Казанскихъ торговцевъ, наибольшимъ спросомъ пользуются зеленая, красная, фіолетовая и желтая краски, то онѣ именно и были изслѣдованы. Бралась колба съ 15 граммами сухарей и въ нее вливалось по 45 кубическихъ сантиметровъ дистиллированной воды, въ которой предварительно растворялось по 0,2 грамма краски. Послѣ стерилизаціи текучимъ паромъ по одному часу въ теченіе трехъ дней подрядъ, колбы были засѣяны грибомъ. На 3-и сутки красная, зеленая и фіолетовая краски дали ясный чесночный запахъ; въ колбѣ

же съ желтой краской и через двѣнадцать дней результатъ былъ отрицательный.

VII

Изслѣдованіе мочи, рвотныхъ массъ, волосъ и ногтей.

Перехожу теперь къ другой части своихъ опытовъ.

Какъ извѣстно мышьякъ очень часто употребляется въ терапіи. Интересно было провѣрить, какъ можно открыть мышьякъ биологическимъ путемъ въ мочѣ, волосахъ и ногтяхъ у лицъ, лечившихся имъ. Поэтому у нѣсколькихъ больныхъ, которымъ вприскивался подъ кожу 1% растворъ *Natrii arsenicici* собиралась моча и изслѣдовалась. Всѣхъ такихъ изслѣдованій было сдѣлано одиннадцать и всѣ онѣ дали положительный результатъ. Должно замѣтить, что моча всегда бралась изъ общаго суточного количества и при томъ какъ въ началѣ курса леченія, такъ и въ концѣ его; уже послѣ 5—6 вприскиваній можно было обнаружить присутствіе мышьяка; при концѣ же леченія чесночный запахъ былъ еще сильнѣе. У этихъ же больныхъ была изслѣдована моча и до начала вприскиваній; но тогда результатъ получался отрицательный. Такой же отрицательный результатъ дали и три колбы съ мочей отъ лицъ здоровыхъ, не принимавшихъ мышьяка. Самыя изслѣдованія производились такъ: въ колбу насыпалось около 65 граммовъ сухарей и наливалось 200 кубическихъ сантиметровъ испытуемой мочи; если реакція ея была рѣзко кислая, то производилась нейтрализація содой. При этихъ опытахъ у меня было и три неудачныхъ случая, именно была взята моча туберкулезнаго больного, который одновременно съ леченіемъ мышьякомъ принималъ внутрь *guajacolum carbonicum* по 0,3 грамма три—четыре раза въ день. Не смотря на то, что моча была тщательно нейтрализована и стерилизована, да и сухарей имѣлся избытокъ—все таки грибки не росли; когда же моча этого больного была разведена водой въ 2 раза, то ростъ грибка хотя и получился, но опять таки очень слабый и запахъ развился не чесночный, а какой-то другой, не менѣе противный.

Въ это же время мнѣ пришлось видѣть больного отравившагося реальгаромъ, о чемъ выше было уже упомянуто. Отъ этого больного чрезъ сутки послѣ отравленія, уже послѣ того какъ желудочно-кишечный трактъ былъ основательно очищенъ, мной было взято для изслѣдованія около стакана жидкихъ рвотныхъ массъ, окрашенныхъ въ желто-зеленый цвѣтъ (примѣсь желчи). Въ 2 колбы было всыпано по 30 граммовъ сухарей и влито по 50 кубиче-

скихъ сантиметровъ этихъ массъ. Такъ какъ реакція ихъ была рѣзко-кислая, то онѣ были нейтрализованы двууглекислымъ натромъ и разбавлены до 100 кубическихъ сантиметровъ дистиллированной водой. На пятыя сутки въ колбахъ появился ясный чесночный запахъ. Химическое изслѣдованіе этихъ массъ на присутствіе мышьяка, послѣ разрушенія органическихъ веществъ сѣрной кислотой, дало отрицательный результатъ.

Моча у этого больного не была изслѣдована, потому что послѣ отравленія у него наступила анурия (при катетеризаціи выдѣлялось только нѣсколько капель) а чрезъ три дня больной умеръ.

Послѣ смерти у него были взяты волосы; но даже неоднократное изслѣдованіе ихъ дало отрицательный результатъ. Такъ какъ Abel и Buttenberg имѣли положительный результатъ при изслѣдованіи волосъ даже лицъ лечившихся мышьякомъ, то я объяснилъ свою неудачу тѣмъ, что больной послѣ отравленія жилъ только три дня; мышьякъ же откладывается лишь въ растущихъ волосахъ. Изслѣдованіе волосъ лицъ не принимавшихъ мышьяка всегда давало отрицательный результатъ; такой же результатъ получался у меня и при изслѣдованіи длинныхъ волосъ у лицъ, лечившихся мышьякомъ.

Тогда у нѣкоторыхъ больныхъ часть волосъ на головѣ и лобѣ была выстрижена, другимъ же были выбриты бороды. Послѣ 20—25 дневнаго леченія мышьякомъ у нихъ были взяты волосы, выросшіе на ранѣе выстриженныхъ мѣстахъ и результатъ изслѣдованія былъ положительный. Такъ какъ волосъ бралось не больше 0,4 грамма, то смѣшивать ихъ съ сухарями представлялось неудобнымъ; поэтому мелко изрѣзанные волосы прямо насыпались на поверхность 60 граммовъ хлѣбной каши, при этомъ наблюдалось, чтобы хлѣбные кусочки выдавались изъ-подъ волосъ; на нихъ, послѣ стерилизаціи, преимущественно, и наносился грибокъ.

Всего изслѣдованій волосъ съ положительнымъ результатомъ было шесть отъ шести различныхъ лицъ, именно: 1) — 0,4 волосъ съ головы послѣ 24 дней леченія, то есть послѣ введенія 0,21 *Natrii arsenicici*; 2) 0,35 волосъ съ головы послѣ 28 дней леченія или послѣ введенія подъ кожу 0,225 *Natr. arsenic.* 3) — 0,35 волосъ бороды послѣ 0,28 *Natr. arsen.* 4) 0,2 волосъ съ бороды послѣ 0,3 *Natr. arsenic.*; 5) — 0,2 волосъ съ головы и лобка послѣ 0,28 *Natr. arsenic.* и 6-е) 0,3 волосъ съ головы и лобка послѣ 0,34 *Natr. arsenicici*.

Одна больная ежедневно принимала внутрь по 4 миллиграмма *Natr. arsenicici* и когда послѣ 45 дневнаго леченія, то есть послѣ приѣма всего 0,180 миллиграммовъ *Natr. arsenicic.*, было изслѣдовано 0,2 грамма волосъ съ головы, то результатъ получился тоже положительный.

Заговоривъ объ изслѣдованіи волосъ при внутреннемъ употребленіи мышьяка, скажу нѣсколько словъ и объ изслѣдованіи мочи въ этихъ случаяхъ. У меня положительный результатъ получался только послѣ приѣма 10—15 капель *solutio arsenicalis Fowleri*. Между тѣмъ въ литературѣ имѣются указанія, что въ мочѣ можно отырыть мышьякъ уже послѣ однократнаго приѣма 5 капель Fowler'ова раствора. Объясняется эта разница тѣмъ, что мнѣ пришлось пользоваться для изслѣдованія только суточнымъ количествомъ мочи, тогда какъ авторы, получившіе положительный результатъ послѣ однократнаго приѣма 5 капель, могли изслѣдовать и изслѣдовали мочу отдѣльно послѣ каждаго мочеиспусканія.

Кромѣ мочи и волосъ у лицъ, принимавшихъ мышьякъ, были изслѣдованы и ногти, но результатъ получался отрицательный. Происходило это, пожалуй, отъ того, что ногти растутъ сравнительно очень медленно; такъ что когда больной оканчивалъ свое леченіе и уходилъ изъ подъ наблюденія, то еще нельзя было получить ту часть ногтей, которая выростала при леченіи.

VIII

Присутствіе мышьяка въ летучихъ соединеніяхъ съ чесночнымъ запахомъ въ колбахъ съ penicillium breviscaule.

При постановкѣ опытовъ съ биологической реакціей на мышьякъ невольно возникаетъ вопросъ: дѣйствительно-ли чесночный запахъ, развивающійся при ростѣ *penicillium breviscaule* на средахъ съ подозрительнымъ на мышьякъ матеріаломъ, зависитъ отъ летучихъ соединеній мышьяка?

Для выясненія этого вопроса предложено было нѣсколько способовъ, но самый удобный это способъ Abela и Buttenberg'a. Поэтому я пользовался именно этимъ способомъ. Брался обыкновенныя колбы съ 60 граммами хлѣбной каши; туда прибавлялся мышьякъ въ количествѣ трехъ граммовъ Fowler'ова раствора; чрезъ три дня послѣ стерилизаціи и засѣванія грибомъ, когда послѣдній уже развился и появлялся замѣтный чесночный запахъ, изъ колбъ, приведя ихъ въ горизонтальное положеніе, вынимались ватныя пробки и вмѣсто ихъ вставлялись обыкновенныя бутылочныя пробки, въ которыхъ сначала было просверлено отверстіе приблизительно въ $\frac{3}{4}$ сантиметра шириной; въ это отверстіе вставлялась трубка изъ оранжеваго стекла длиною въ 10—15 сантиметровъ; трубка наполнялась смѣсью порошка химически чистаго ляписа съ прокаленнымъ асбестомъ; верхній конецъ этой трубочки закрывался рыхлой ватной пробкой, нижній—оставался открытымъ. Что-

бы развивающійся въ колбѣ газъ не могъ выходить наружу помимо этой трубочки, вся пробка сверху тщательно заливалась расплавленнымъ воскомъ или параффиномъ. Такія колбы ставились въ комнатѣ при температурѣ около 18° R на 2 недѣли. Основаніемъ для этого опыта служить слѣдующее соображеніе: если обладающее чесночнымъ запахомъ соединеніе есть дѣйствительно летучее соединеніе мышьяка, то оно при прохожденіи чрезъ трубочку съ асбестомъ и ляписомъ соединится съ послѣднимъ и дастъ мышьяковистое серебро; необходимая для этого влага будетъ доставляться изъ самой колбы путемъ испаренія. Такъ какъ мышьяковое соединеніе серебра желтаго цвѣта, то уже простымъ глазомъ можно было бы убѣдиться въ присутствіи мышьяка; кромѣ того, если имѣть его (серебра) въ достаточномъ количествѣ, то въ аппаратѣ Марша легко получить зеркало мышьяка. Дѣйствительно въ 2 трубочкахъ съ ляписомъ и асбестомъ послѣ 2 недѣль бѣлый порошокъ ляписа сталъ желтовато-темнымъ, а при изслѣдованіи въ аппаратѣ Марша далъ хотя и слабое, но замѣтное зеркало.

Такимъ образомъ чесночный запахъ развивающійся въ колбахъ зависитъ отъ выдѣленія тамъ мышьяка въ видѣ летучихъ соединеній. Какое именно соединеніе выдѣляется—на этотъ счетъ существуютъ различныя мнѣнія: одни говорятъ, что это соединеніе есть мышьяковистый водородъ, другіе,—что какодилъ или ди-метилъ мышьякъ, иные указываютъ на benzsarsin'овую кислоту. Весьма возможно, что въ колбахъ развивается смѣсь какъ мышьяковистаго водорода, такъ и летучихъ органическихъ соединеній. Впрочемъ врядъ-ли этотъ вопросъ можетъ имѣть большое практическое значеніе, такъ какъ всѣ эти соединенія ядовиты.

IX

Изслѣдованіе теллура и селена.

На сколько мнѣ извѣстно, вопросъ о специфичности биологической пробы на мышьякъ рѣшался до сихъ поръ въ утвердительномъ смыслѣ. Abel и Bittenberg изслѣдовали привадежащія къ группѣ мышьяка фосфоръ, сурьму и висмутъ и получили отрицательный результатъ. Такой же результатъ дали изслѣдованія калия, натрія, кальція, бора, сѣры и магнія (въ видѣ сѣрнокислой магнезіи). Между тѣмъ въ руководствахъ по химіи и токсикологіи имѣются указанія на то, что теллуръ и его соединенія, также какъ и мышьякъ, обладаютъ способностью развивать чесночный запахъ—при извѣстныхъ условіяхъ, конечно. Близко къ теллуру стоитъ и селень. Профессоръ Кункель въ своемъ руководствѣ прямо под-

черкиваетъ, что теллуръ и селенъ физиологически дѣйствуютъ также, какъ и мышьякъ, но только, можетъ быть, нѣсколько слабѣе и медленнѣе. Поэтому мной было произведено біологическое изслѣдованіе именно этихъ двухъ элементовъ. Химически чистые селенъ и теллуръ, отлитые въ формѣ палочекъ, размельчались въ порошокъ простымъ соскабливаніемъ ножа и этотъ порошокъ въ количествѣ 0,1 грамма всыпался въ колбы съ 60 граммами хлѣбной каши. Колбы стерилизовались и засѣвались грибомъ. Оказалось, что оба эти элемента нисколько не препятствуютъ росту грибка. Мало этого, чрезъ три дня послѣ посѣва въ колбѣ съ теллуromъ появился ясный чесночный запахъ, который по мѣрѣ разростанія грибка по поверхности хлѣбной каши все усиливался и, наконецъ дошелъ до того, что достаточно было снять съ колбы резиновый колпачекъ и даже не открывать ватной пробки, чтобы сразу бросился въ носъ сильный чесночный запахъ. Въ колбахъ съ селеномъ на третій день тоже появлялся постепенно усиливавшійся запахъ, но совершенно другого характера, — скорѣе напоминающій запахъ гнилой рѣдки.

Такъ какъ при изученіи отношенія грибка *penicillium breviscaule* къ мышьяку брался 1% растворъ мышьяковистой кислоты, то при дальнѣйшихъ опытахъ съ теллуromъ была взята теллуристая кислота и изъ нея приготовленъ 1% растворъ. Что сама по себѣ теллуристая кислота не содержала примѣси мышьяка это было провѣрено химическимъ изслѣдованіемъ ея въ количествѣ около 0.5 грамма. Послѣ этого были приготовлены колбы съ 60 граммами хлѣбной каши въ каждой и туда влить 1% растворъ теллуристой кислоты по 1,0—0,1—0,01—0,001 и 0,0001 грамма, то есть по $\frac{1}{100}$ — $\frac{1}{1000}$ — $\frac{1}{10000}$ — $\frac{1}{100000}$ и $\frac{1}{1000000}$ части грамма чистой теллуристой кислоты. Во всѣхъ колбахъ черезъ 3—5 дней получался ясный чесночный запахъ. При такихъ же опытахъ съ селеномъ послѣдній давалъ всегда свой специфическій запахъ. Но такъ какъ у меня былъ только чистый металлическій селенъ, то порошокъ его растирался съ молочнымъ сахаромъ и послѣ этого уже отвѣшивались нужныя количества.

Такимъ образомъ біологическая реакція одинаково получается какъ съ мышьякомъ, такъ и съ теллуromъ. Этимъ какъ бы поддѣляется ея специфичность. Но такъ какъ теллуръ встрѣчается въ природѣ весьма рѣдко и въ сравнительно малыхъ количествахъ, то большого практическаго значенія это не имѣетъ. Тѣмъ не менѣе всегда необходимо имѣть въ виду, что такой же запахъ даетъ и теллуръ, который въ природѣ встрѣчается, между прочимъ, и въ соединеніи съ сурьмой и висмутомъ. Поэтому особенно осторожно нужно ставигъ заключеніе о присутствіи мышьяка тамъ, гдѣ въ

испытуемомъ матеріалѣ можно подозрѣвать нахождение и висмута или сурьмы. Извѣстны случаи, гдѣ примѣсь теллура была даже въ такомъ часто употребляемомъ въ медицинѣ препаратѣ висмута, какъ *Bismuthum subnitricum*. Профессоръ Кункель говоритъ, что приходилось наблюдать случаи, когда, у лицъ принимавшихъ этотъ препаратъ даже выдыхаемый воздухъ имѣлъ ясно выраженный чесночный запахъ; при изслѣдованіи этого препарата въ немъ найдена примѣсь теллура.

X

Оцѣнка біологической реакціи.

Переходя къ оцѣнкѣ біологической реакціи на мышьякъ, должно замѣтить, что по своей чувствительности она безусловно превосходитъ всѣ извѣстныя до сихъ поръ реакціи. Затѣмъ, самое производство ея очень простое и легкое: всѣ необходимые для нея предметы почти всегда имѣются подъ рукой. Единственно, что нѣсколько затрудняетъ постановку біологической реакціи—это необходимость имѣть въ запасѣ культуру *Penicillium breviscaule*, такъ какъ этотъ грибокъ водится главнымъ образомъ въ Италіи. Но разъ культура имѣется на лицо, то и это затрудненіе само собой исчезаетъ, тѣмъ болѣе, что споры этого грибка могутъ сохранять свою жизнеспособность очень долгое время даже безъ перевивки на новыя питательныя среды; у меня имѣется пробирка, простоявшая пять мѣсяцевъ; питательная среда изъ агарь-гущи совершенно высохла и свернулась въ трубочку, а взятый съ нея нѣсколько дней тому назадъ бѣлый налетъ далъ быстрое развитіе грибка; извѣстны также случаи, когда грибокъ выросъ изъ споръ, хранившихся около двухъ лѣтъ.

Къ достоинствамъ же этой реакціи относится и то, что, за исключеніемъ фенола и его производныхъ, почти нѣтъ веществъ, которыхъ нельзя было бы изслѣдовать при ея помощи.

Наконецъ, должно также указать и на то, что разъ появившійся чесночный запахъ въ хорошо закрытой колбѣ сохраняется очень долго, цѣлыми годами, а это тоже очень важное качество, такъ какъ иногда бываетъ необходимо представить доказательство присутствія мышьяка въ изслѣдованномъ веществѣ спустя долгое время послѣ производства изслѣдованія.

Однако не смотря на всѣ свои достоинства біологическая реакція на мышьякъ за время своего почти 20 лѣтняго существованія не получила большого практическаго значенія. Объясняется

это тѣмъ, что на ряду съ такими достоинствами она имѣетъ и крупные недостатки.

Первымъ такимъ недостаткомъ нужно признать необычайную чувствительность ея; благодаря ей можно открыть мышьякъ даже и тамъ, гдѣ онъ попалъ совершенно случайно и въ ничтожномъ количествѣ. Но въ научномъ отношеніи біологическая реакція можетъ имѣть важное значеніе,—именно тамъ, гдѣ почему-либо требуется доказать, что данное вещество совершенно свободно отъ мышьяка. Примѣромъ можетъ служить слѣдующее: Gautier въ началѣ этого столѣтія сдѣлалъ въ Парижской Академіи Наукъ цѣлый рядъ сообщеній о томъ, что нѣкоторые органы человѣка и животныхъ постоянно содержатъ мышьякъ, хотя и въ небольшихъ количествахъ, и что, такимъ образомъ, мышьякъ есть нормальная составная часть организма. Gautier доказывалъ, что въ 100 грамахъ вещества щитовидной железы содержится 0,75 грамма мышьяка,—въ мозгу и грудной железнѣ незначительныя количества, а въ волосахъ, ногтяхъ, костяхъ, кожѣ и молокѣ—слѣды; въ общемъ, говорилъ Gautier, въ человѣкѣ вѣсомъ въ 69 килограммовъ, т. е. около 4 пудовъ 12 фунтовъ, содержится постоянно около $\frac{34}{100}$ миллиграмма мышьяка. Ziemke занялся проверкой этого и на ряду съ другими способами опредѣленія мышьяка, ради контроля ихъ, воспользовался біологической пробой и результаты получилъ отрицательные.

Крупнымъ же, пожалуй, недостаткомъ этой реакціи можно считать и то, что здѣсь приходится руководствоваться главнымъ образомъ чувствомъ обонянія, которое у различныхъ лицъ бываетъ очень различно и даже у одного и того же лица часто мѣняется въ зависимости отъ массы различныхъ условій.

Какъ на болѣе мелкіе недостатки этой реакціи можно указать во 1-хъ на то, что при посредствѣ ея можно сдѣлать не количественное, а только качественное опредѣленіе мышьяка и во 2-хъ на то, что грибокъ *penicillium brevicaulis* встрѣчается не въ Россіи, а въ другихъ государствахъ; выписываніе же культуръ этого грибка изъ заграницы является всетаки дѣломъ обременительнымъ, а для многихъ и недоступнымъ.

XI

Нѣкоторые виды нашихъ плѣневыхъ грибковъ и ихъ отношеніе къ мышьяку.

Какъ уже было упомянуто, еще Gosio, а затѣмъ и Abel и Buitenberg указывали, что не только *penicillium brevicaulis*, но и

нѣкоторые другіе виды грибовъ обладаютъ способностью развивать ясный чесночный запахъ при выращиваніи ихъ на питательныхъ средахъ съ мышьякомъ. Поэтому мнѣ казалось необходимымъ приложить біологическій методъ изслѣдованія мышьяка и къ нашимъ плѣсневымъ грибкамъ.

Съ этой цѣлью нѣсколько чашечекъ Petri съ стерилизованной агарь-гущей были открыты и поставлены на столъ въ лабораторіи при Кабинетѣ Общей Хирургіи, помѣщающемся въ зданіи бывшаго студенческаго Общежитія. Черезъ сутки чашечки были закрыты и помѣщены въ комнату съ слабымъ свѣтомъ при температурѣ въ 18° R. Черезъ три дня на нихъ развилось до 20 колоній; при дальнѣйшемъ ростѣ оказалось, что всѣ эти колоніи принадлежатъ пяти различнымъ видамъ грибовъ. Кромѣ ихъ развилось и нѣсколько колоній *sarcina flava*. Тогда сдѣланы были перевивки и такимъ образомъ получены чистыя культуры. При изученіи ихъ оказалось слѣдующее:

Грибокъ № 1 уже черезъ сутки далъ небольшую колонію бѣлаго цвѣта; въ срединѣ ея на третьи сутки появился зеленый цвѣтъ налетъ. Онъ сначала представлялся въ видѣ зеленой точки на бѣломъ фонѣ, а потомъ постепенно расширялся, при чемъ первоначальный пушистый бѣлый налетъ все время окружалъ его въ видѣ узкаго кольца. Мѣстами на зеленомъ налетѣ замѣтны были капельки бѣлой полупрозрачной жидкости. Когда грибокъ разросся по всей поверхности питательной среды бѣлое кольцо совершенно исчезло.

Подъ микроскопомъ (на агарь-квасѣ) оказалось, что первоначальный бѣлый налетъ и бѣлое кольцо, окружающее зеленую средину колоніи, представляютъ изъ себя постепенно разрастающійся мицелій; онъ состоитъ изъ довольно длинныхъ клѣтокъ, во многихъ мѣстахъ переплетающихся и даже срастающихся между собой; нѣкоторые изъ клѣтокъ дѣлятся, но не разъединяются и такимъ образомъ получаютъ сравнительно длинныя нити. Эти нити виллообразно развѣтвляются и на концахъ ихъ образуется какъ бы кисточка изъ тонкихъ и сравнительно короткихъ ниточекъ. Черезъ нѣкоторое время на концахъ кисточекъ развиваются мелкія, одно-клеточныя, шарообразныя тѣльца—споры, которыя въ массѣ придаютъ колоніи грибка зеленый цвѣтъ. Судя по развитію и строенію этого грибка онъ есть не что иное, какъ *penicillium Glaucum*, очень распространенный въ природѣ.

Грибокъ № 2 далъ бѣлую колонію, на которой черезъ три дня также появилось зеленое пятно, но совершенно другого оттѣнка, чѣмъ у перваго вида грибка; кромѣ того и отдѣльныя нити мицелія нѣсколько поднимаются кверху и образуютъ какъ бы цѣлый лѣсъ съ массой переплетающихся между собой вѣтвей; въ осталь-

номъ макроскопическое развитіе этого грибка шло тѣмъ же путемъ, какъ и у *penicillium glaucum*. Подъ микроскопомъ же можно было видѣть, что мицелій состоитъ изъ тонкихъ, но болѣе длинныхъ цилиндрическихъ нитей, закругленныхъ на свободныхъ концахъ. Поднимающіяся въ верхъ нити—спороносцы—безъ перегородокъ и на концахъ шарообразно вздуты. Нѣкоторыя изъ такихъ вздутій окружены лучеобразно-сходящимися выпуклинами, на концахъ которыхъ сидятъ мелкія, круглыя, тѣльца—споры; такъ какъ онѣ на всѣхъ выпуклинахъ сидятъ одновременно, то самое вздутіе представляется какъ бы покрытымъ шапочкой. Сами по себѣ споры зеленовато-желтаго цвѣта, но въ массѣ придаютъ грибку зеленый цвѣтъ. Этотъ грибокъ есть *Eurotium Aspergillus glaucus* De-Bary или *Eurotium herbariorum*. Онъ также очень распространенъ въ природѣ и часто развивается на засахаренныхъ фруктахъ, фруктовомъ сокѣ, вареньи и на гербаріяхъ.

Грибокъ № 3 далъ сначала колонію не бѣлаго цвѣта, а коричнево-желтаго, при чемъ, при ростѣ она представлялась какъ бы собранной въ крупныя складки плюшевой матеріей. Складки эти начинались отъ центра колоніи лучеобразно и къ периферіи постепенно расширялись. Черезъ три дня на колоніи появился черный налетъ. Такъ какъ онъ состоялъ изъ споръ, сидящихъ шапочкой на шарообразномъ вздутіи спороносца, то и этотъ грибокъ долженъ быть отнесенъ къ одному изъ видовъ *aspergillus*. Грибковъ дающихъ черный налетъ извѣстно три вида: *Aspergillus Niger*, *A. nigricans* и *A. nigrescens*. Къ какому же изъ нихъ должно было отнести данный видъ?

Нѣсколько раньше въ томъ же помѣщеніи, гдѣ пойманъ изъ воздуха этотъ видъ, культивировался грибокъ *Aspergillus nigricans*, добытый изъ уха человѣка. Поэтому скорѣе всего можно было предположить, что и пойманный мной грибокъ есть *Aspergillus nigricans*. Дѣйствительно, изученіе подъ микроскопомъ споръ этого грибка показало полное сходство ихъ со спорами *Aspergillus nigricans*, имѣющимися въ Кабинетѣ Хирургической Патологіи.

Грибокъ № 4 далъ бѣлую колонію, которая и при дальнѣйшемъ своемъ развитіи оставалась бѣлой. Макроскопическое и микроскопическое изслѣдованіе показали тождественность этого грибка съ уже описаннымъ выше грибкомъ *penicillium brevicaulis*. Очевидно, что при предшествовавшихъ моихъ опытахъ часть споръ случайно попала въ воздухъ и оттуда была снова поймана.

Грибокъ № 5 далъ быстро выростающій на питательной средѣ мицелій, состоящій изъ очень длинныхъ вѣтвящихся и переплетающихся между собою клѣтокъ—нитей. Сначала мицелій былъ бѣлаго цвѣта, но со временемъ пожелтѣлъ и даже приобрѣлъ буроватый оттѣнокъ. При своемъ ростѣ этотъ грибокъ отдѣлялъ мел-

кія круглыя одноклѣточные споры желтоватаго цвѣта, которыя отлетали даже на крышку чашки Petri, а въ пробиркахъ и на противоположную сторону ея. При продолжительномъ стояніи въ пробиркѣ мицелій этого грибка образуетъ бѣлую войлокообразную сѣть, занимающую все пространство, свободное отъ питательной среды. Подъ микроскопомъ оказалось, что въ грибницѣ (мицеліѣ) попадаются нити, которыя приблизительно на протяженіи двухъ третей отъ свободнаго конца поперечно раздѣлены правильно расположенными перегородками. Нити эти по перегородкамъ разрываются и такимъ образомъ даютъ споры. Такой способъ образованія споръ свойственъ грибкамъ *oidium*. Но такъ какъ грибковъ этого вида имѣется болѣе ста сортовъ, то я и не могъ точнѣе опредѣлить названіе этого грибка.

Кромѣ описанныхъ грибковъ былъ культивированъ еще одинъ, добытый изъ чернаго налета, развившагося на обояхъ одного помѣщенія. При своемъ ростѣ онъ далъ не бѣлую, а желтовато-коричневую колонію; на ней позднѣе развился черный налетъ, состоящій изъ споръ, которыя образуются также, какъ и вообще у всѣхъ видовъ *aspergillus*. Но споры его не похожи на споры *aspergillus nigricans* и значительно меньше споръ *Aspergillus niger*; послѣднія видимы простымъ невооруженнымъ глазомъ. Поэтому данный видъ скорѣе всего можно считать за *Aspergillus nigrescens*.

Изъ всѣхъ описанныхъ видовъ грибковъ при роскошномъ ростѣ ихъ на хлѣбной кашѣ съ 1,0 solutio Fowleri, только одинъ далъ ясный чесночный запахъ, именно—*Eurotium herbariorum* или—старое названіе—*Aspergillus glaucus*. *Aspergillus nigrescens* не далъ никакого запаха; *aspergillus nigricans* далъ особый затхлый запахъ, *penicillium glaucum*—общезвѣстный „запахъ плѣсени“. Что касается *oidium*, то и онъ далъ запахъ, но очень своеобразный, отчасти напоминающій запахъ формалина, а отчасти запахъ кислой молочной сыворотки. Такой же запахъ эти грибки давали и при своемъ развитіи на питательныхъ средахъ безъ мышьяка и только одинъ *Eurotium herbariorum* въ этомъ случаѣ не давалъ никакого запаха.

XII

Опыты съ Eurotium herbariorum.—Общее заключеніе.

Послѣ этого были начаты опыты съ мышьякомъ и *Eurotium herbariorum*. Какъ и раньше, при опытахъ съ *penicillium breviscaule*, были приготовлены колбы съ хлѣбной кашей и къ ней было прибавлено по 1,0—0,1—0,01—0,001 и 0,0001 грамма 1% мышь-

яковистой кислоты. После стерилизации колбы были засеяны грибомъ *Eurotium herbariorum*. Оказалась, что даже через 2 недѣли въ колбахъ съ $\frac{1}{10}$ миллиграмма 1% мышьяковистой кислоты, то есть съ одной миллионной частью грамма мышьяка, чесночный запахъ не образовывался. Между тѣмъ въ колбахъ съ 0,001 (миллиграмомъ) и выше этотъ запахъ былъ ясно выраженъ и чѣмъ больше было мышьяковистой кислоты, тѣмъ сильнѣе былъ и запахъ. Точно такіе же опыты и съ такимъ же результатомъ были продѣланы и съ теллуристой кислотой. Изслѣдованіе 0,003 грамма реалгара и 0,075 грамма металлическаго теллура тоже дало положительный результатъ.

При всѣхъ этихъ опытахъ чрезъ 5—6 дней въ культурѣ грибка на хлѣбной кашѣ появлялись какія-то точки желтоватаго цвѣта. При болѣе тщательномъ изслѣдованіи точекъ оказалось, что онѣ представляютъ изъ себя споры грибка, но развивающіяся не на вздутіи спороносца, а въ особыхъ сумкахъ. Сумки эти образуются такъ: изъ мицелія вырастаетъ нить, которая не даетъ шарообразнаго вздутія, а завертывается спиралью; кольца спирали сближаются, а свободный конецъ нити загибается внутрь такой чашечки. У основанія чашечки появляется нѣсколько отростковъ, которые какъ бы охватываютъ чашечку. Эти отростки образуютъ клѣтки, которыя, размножаясь, даютъ сумку, а изъ колецъ спирали образуются споры. Сумки со спорами настолько велики, что легко видимы простымъ глазомъ, какъ довольно большія желтоватыя точки. Чѣмъ обильнѣе питательная среда, тѣмъ больше развивается такихъ сумокъ. На хлѣбной кашѣ получалась такая масса ихъ, что я сначала счелъ было самую культуру загрязненной; но перевѣвка этого грибка съ хлѣбной каши на тонкій слой агарь-кваса дала опять культуру безъ сумокъ.

Опыты съ мочей и волосами больныхъ, лечившихся мышьякомъ дали съ этимъ грибомъ отрицательный результатъ.

Такъ какъ у меня не имѣлось веществъ, содержащихъ болѣе значительныя количества мышьяка, то пришлось приготовить ихъ искусственнымъ путемъ. Съ этой цѣлью къ 100 кубическимъ сантиметрамъ мочи здороваго человѣка прибавлялось $\frac{1}{20000}$ часть грамма мышьяковистой кислоты; эта моча обычнымъ путемъ смѣшивалась съ хлѣбными сухарями и, после стерилизации, засеивалась культурой *Eurotium herbariorum*. Черезъ 4 дня въ колбахъ развивался слабый чесночный запахъ. Точно также 100 квадратныхъ сантиметровъ обоевъ, пропитанные $\frac{1}{10000}$ частью грамма мышьяка и мѣловые карандаши (по 3,0 грамма) пропитанные $\frac{1}{50000}$ дали запахъ чеснока. При изслѣдованіи же обоевъ съ (одной стотысячной) $\frac{1}{100000}$ частью грамма мышьяка развился очень слабый, еле ощутимый, запахъ чеснока, который можно было открыть толь-

ко нюхая колбу съ культурой этого грибка на хлѣбной кашѣ, но безъ мышьяка.

Такимъ образомъ *Eurotium herbariorum* также даетъ биологическую реакцію на мышьякъ. Правда чувствительность этого грибка значительно меньше, чѣмъ *penicillium breviscaule*. Но для практическихъ цѣлей при открытіи мышьяка довольствуются обыкновенно аппаратомъ Марша, при помощи котораго удается определить до $\frac{1}{20000}$ и даже до $\frac{1}{50000}$ грамма. Приблизительно въ этихъ же предѣлахъ имѣется чувствительность къ мышьяку и у *Eurotium herbariorum*. А если принять во вниманіе, что при изслѣдованіи съ помощью аппарата Марша необходимо разрушеніе органическихъ веществъ, которое довольно хлопотливо и отнимаетъ сравнительно много времени, то мнѣ кажется, что въ иныхъ случаяхъ биологическая реакція на мышьякъ при помощи грибка *Eurotium herbariorum* можетъ съ успѣхомъ замѣнить Маршевскую реакцію. Это тѣмъ болѣе возможно, что *Eurotium herbariorum* у насъ встрѣчается вездѣ и въ большомъ количествѣ, такъ что достать его очень легко; другія же вещества, какъ колбы, булка, вода и т. д. также всегда имѣются подъ рукой.

Резюмируя все сказанное, должно замѣтить, что биологическая реакція на мышьякъ можетъ и должна занять видное мѣсто среди другихъ реакцій, употребляемыхъ для той же цѣли; при чемъ для научныхъ цѣлей, гдѣ, напримѣръ, требуется доказательство абсолютнаго отсутствія мышьяка, для реакціи необходимо пользоваться грибкомъ *penicillium breviscaule*; для практическихъ же цѣлей, напримѣръ—санитарныхъ, судебно медицинскихъ, медико-полицейскихъ и т. д. удобнѣе дѣлать реакцію съ грибкомъ *Eurotium herbariorum*.

Въ заключеніе считаю своимъ долгомъ выразить глубокую благодарность профессору Н. А. Геркену за его помощь и указанія при моей работѣ.

Литература.

- 1) R. Abel und P. Buttenberg: Ueber die Einwirkung von Schimmelpilzen auf Arsen und seine Verbindungen (Zeitschrift für Hygiene, 32 Band 1899 г.
- 2) Вармингъ. Систематика растений 1893 г.
- 3) Н. Сорокинъ. Растительные паразиты человѣка и животныхъ 1882 г. вып. I и II.

- 4) Бутягинъ. Отчетъ о заграничной командировкѣ 1902—1904 г. (извѣстія Томскаго Университета кн. XXVII 1905 г.).
- 5) Prof. Kunkel. Handbuch der Toxicologie 1899 г.
- 6) З. Орловскій.—О вліяніи мышьяка на ростъ и химическій составъ *Aspergilli nigri*. Диссерт. С-П-Б. 1902 г.
- 7) Кантеръ. О сравнительномъ вліяніи солей тяжелыхъ металловъ на ростъ и химическій составъ грибка *Aspergillus niger* Диссерт. С-П-Б. 1903 г.
- 8) Вѣстникъ общественной гигиены и судебной медицины за 1903 г. кн. II (рефератъ по судебн. медицины).
- 9) Менделѣевъ. Основы химіи.

Оглавленіе.

	<i>Стр.</i>
I. Происхожденіе реакціи и ея сущность.	67
II. Питательныя среды для выращиванія грибковъ вообще и для <i>penicillium breviscaule</i> —въ частности.	69
III. <i>Penicillium breviscaule</i> ; его ростъ и микроскопическое строеніе.	70
IV. Наиболе удобная питательная среда для постановки біологической реакціи на мышьякъ и общія правила для производства ея.	72
V. Чувствительность реакціи съ <i>Penicillium breviscaule</i> . . .	75
VI. Изслѣдованіе марли, обоевъ, бумажныхъ салфетокъ, цвѣтныхъ мѣлковъ и нѣкоторыхъ анилиновыхъ красокъ. . .	76
VII. Изслѣдованіе мочи, рвотныхъ массъ, волосъ и ногтей. . .	79
VIII. Присутствіе мышьяка въ летучихъ соединеніяхъ съ чесночнымъ запахомъ въ колбахъ съ <i>penicillium breviscaule</i>	81
IX. Изслѣдованіе теллура и селена.	82
X. Оцѣнка біологической реакціи	84
XI. Нѣкоторые виды нашихъ плѣсневыхъ грибковъ и ихъ отношеніе къ мышьяку.	85
XII. Опыты съ <i>Eurotium herbariorum</i> .—Общее заключеніе. . .	88
