

A capacidade sulfidrigena ¹ (produção de H²S) é uma propriedade geral das bacterias heterotroficas *

por

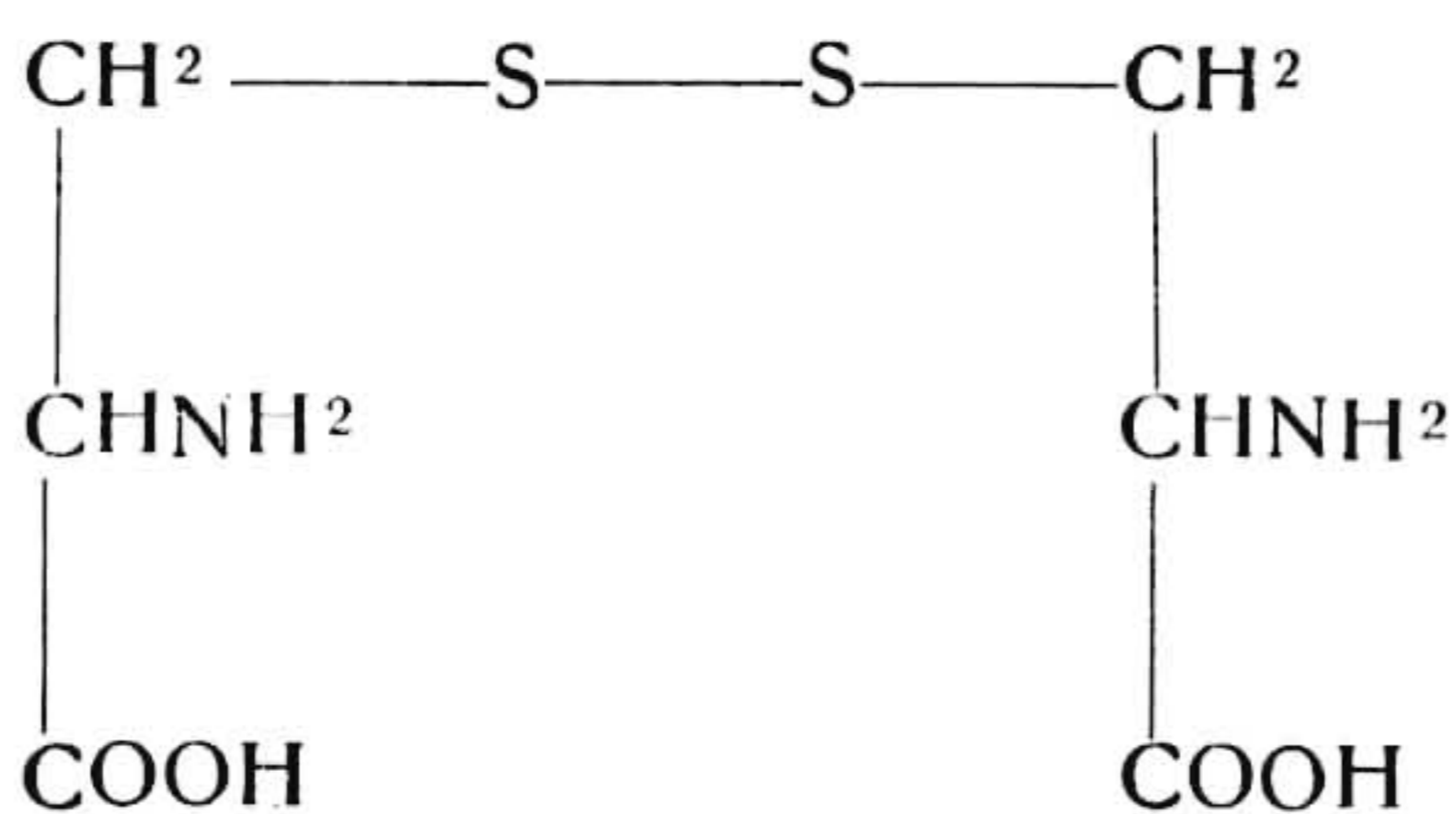
Genesio Pacheco e Gobert Araujo Costa

Constantemente existe o enxofre na materia proteica utilizada pelas bacterias em seu metabolismo. Mais vêses existe o enxofre na molecula resultante da digestão das proteínas, depois de reduzidas a acidos aminados, termo final dos processos digestivos para a assimilação. Dos aminos-acidos, elementos caracterizados pela substituição do H do grupo mais proximo do COOH por uma amina NH², muitos deles possuem S na sua molecula:

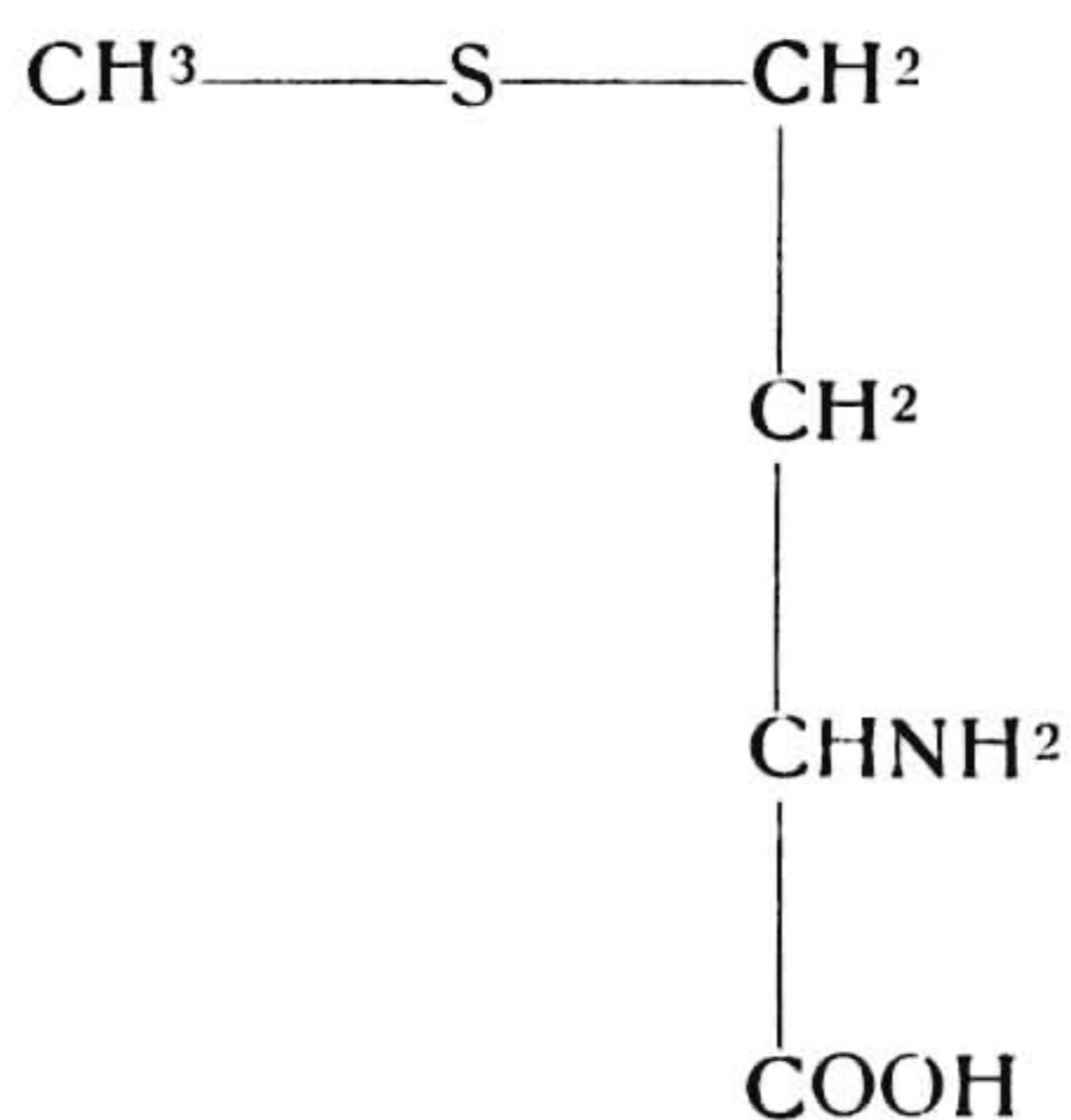
O acido β - tio - α - aminopropionico ou *cisteína*



O acido bi - tio - α - aminopropionico ou *cistina*



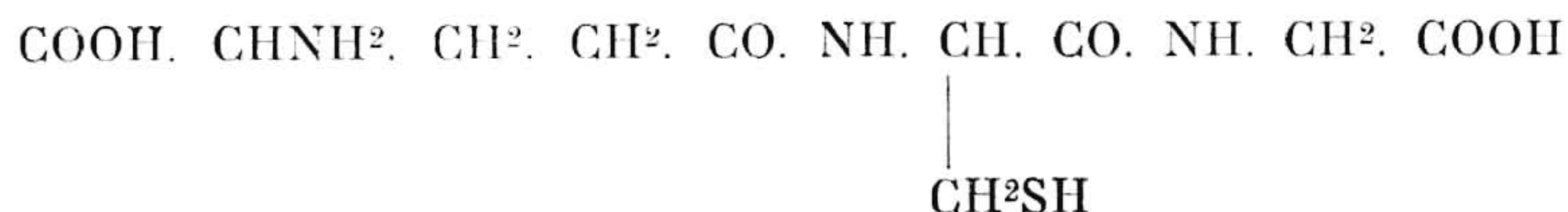
O acido - γ - metiltiol - n - butirico ou *metionina*



¹ Ahamos mais acertada a expressão sulfidrigena que sulfurigena, anteriormente usada, para a produção de H²S pelas bacterias.

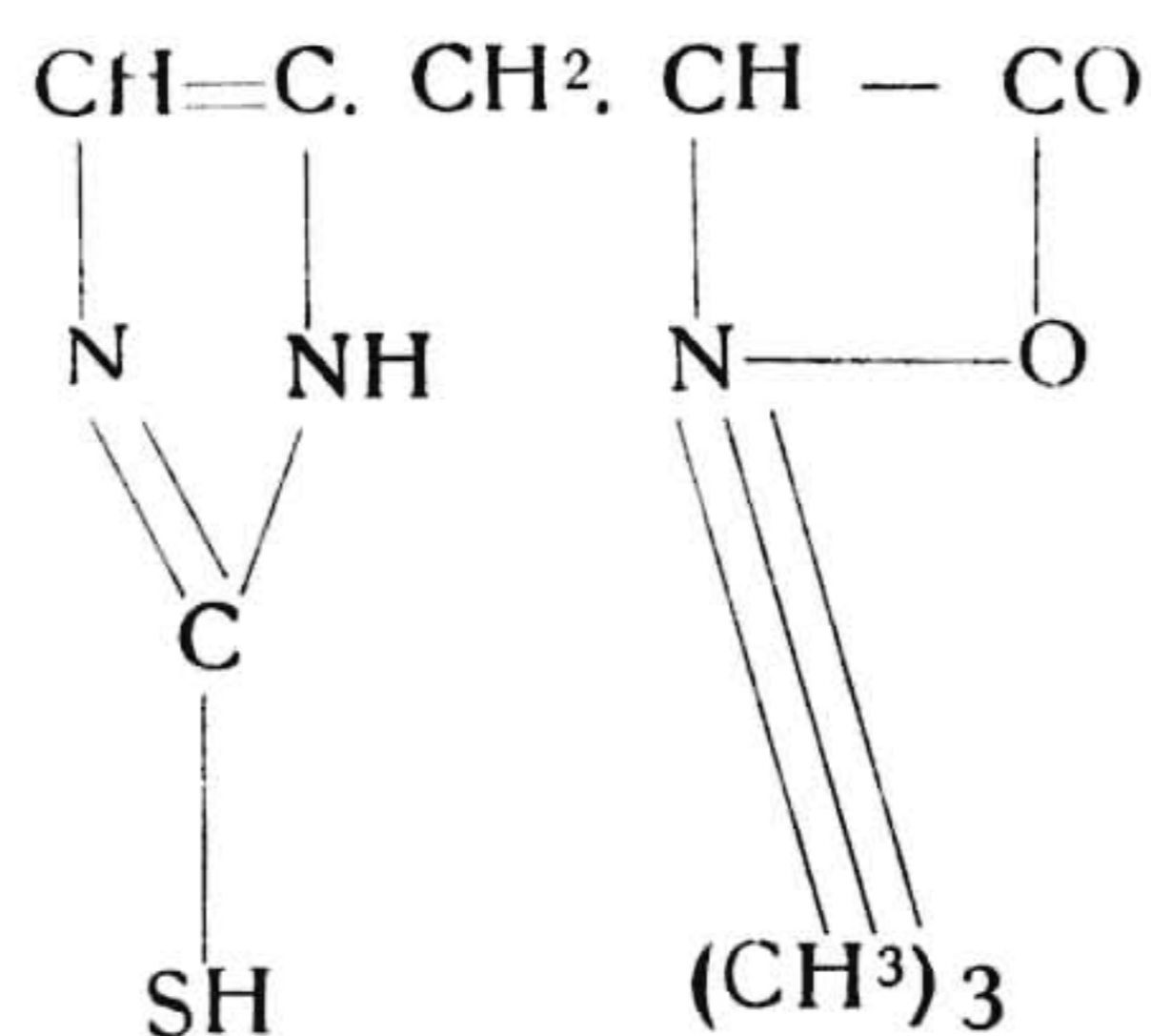
* Recebido para publicação a 1 de Abril de 1940 e dado á publicidade em Setembro de 1940.

O acido gama-glutamil-cisteimilglicinico ou *glutathion*, tripeptide contendo cisteína:



Além dessas, outras substancias frequentes nas proteínas usadas nos meios de cultura possuem enxofre:

A betaína da tiolhistidina



A ergotionina, varios acidos cisteinicos, e muitos outros.

O teor em S das proteínas é variavel. A cistina, por exemplo, entra em porcentagem de 0.04 gr. no gluten, 7.5 gr. na queratina, 0.3 gr. na hemoglobina, 0.07 gr. na caseina, substancias frequentemente utilizadas na preparação de meios de cultura para bacterias. A metionina entra em 0.2-2 gr. % na caseina e se encontra tambem na ovalbumina, na gelatina e na queratina. A ergotionina existe nas hematias.

Além destas, a taurina, taurocolatos, tiuréea, são compostos sulfurados importantes no metabolismo e não raro existentes nos meios de cultura.

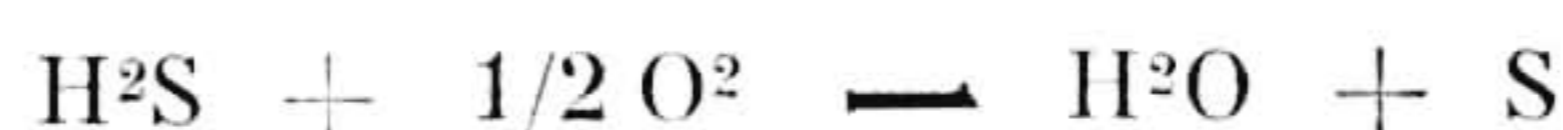
O acido amino-etilsulfonico, $\text{CH}_2\text{NH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$, em conjugação com o acido colico, forma acidos biliare da taurina. Por outro lado, a taurina pode derivar da cisteína, num processo de descarboxilação e oxidação do grupo sulfidrilico, por processo obscuro, resultando num composto mais estavel que parece um sistema de reserva do enxofre para o organismo, uma vés que a administração de taurina não aumenta o acido taurocolico eliminado (Pride).

A função respiratoria ou a oxidação intima das celulas está bem vista intimamente ligada ao grupo sulfidrilico desse composto, demonstrado na conhecida reação de Arnold com o nitroprussiato de sodio.

Não é indiferente ás bacterias a presença do enxofre na molecula proteica, ou mesmo em natureza. Relacionadas ao metabolismo bacteriano do enxofre, distinguem-se no grupo das bacterias autotroficas, isto é, bacterias capazes de sintetisar as substancias necessarias á sua nutrição, a familia *Thiorodaceae* de Van Niel. O ion S dos compostos sulfurados funciona no processo fotosintetico destas bacterias.

A utilização do enxofre pelas bacterias autotroficas se faz por oxidação completa, quando se trata do enxofre, incompleta quando se trata de compostos sulfurados. Stephenson distingue 6 grupos de bacterias autotroficas de acordo com a atividade metabolica do enxofre e seus compostos:

- 1) Organismos que oxidam H^2S fazendo depositar S sob fórma de granações intracelulares.



Exemplos — *Thiotrix* e *Beggiatoa*.

- 2) Organismos sulfoxidantes com deposição de S em granulos extracelulares.



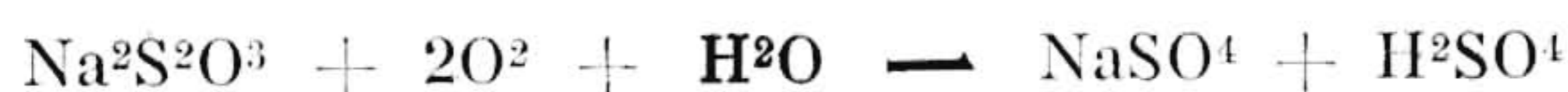
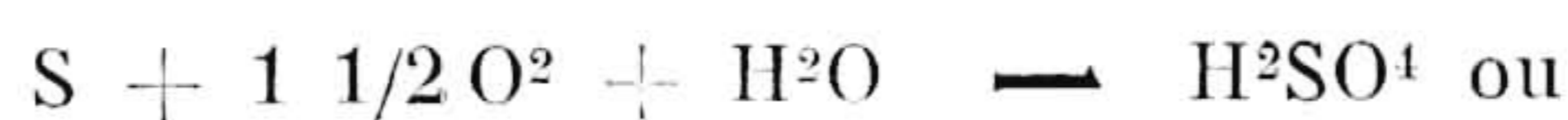
Exemplo — *Thiobacillus*.

- 3) Organismos sulfoxidantes ás custas dos nitratos.



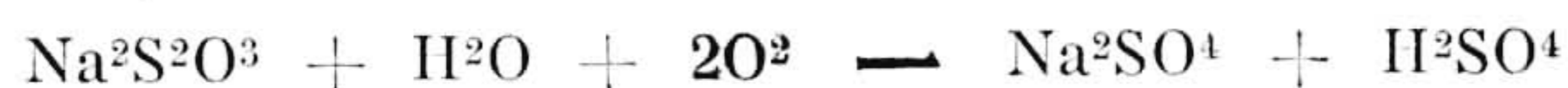
Exemplo — *Thiobacillus denitrificans*.

- 4) Organismos acido-resistentes, oxidando enxofre diretamente a sulfatos.



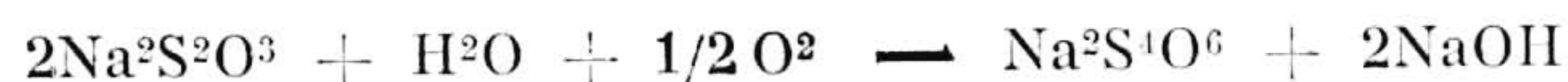
Exemplo — *Thiobacillus thioxydans*.

- 5) Organismos acido-tolerantes oxidando tiosulfatos a sulfatos.



Exemplos — *Thiobacillus thioxydans*, *T. novellus*.

- 6) Intermediarios, vivendo heterotroficamente.



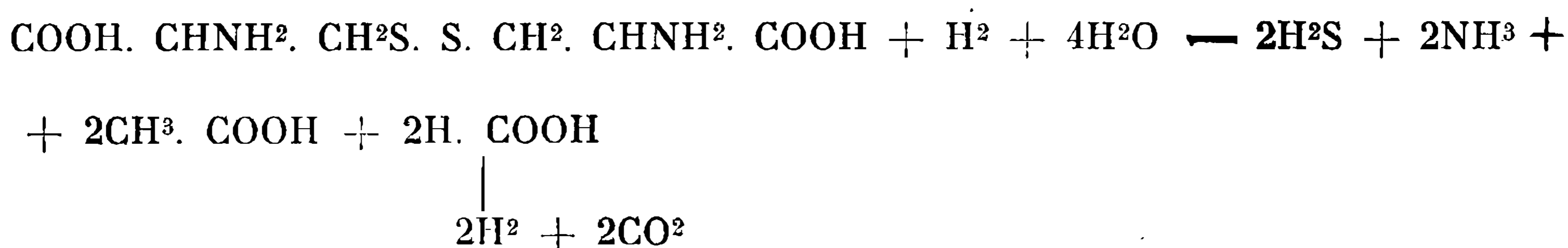
Exemplo — *Pseudomonas*.

O metabolismo do enxofre pode representar papel na atividade vital propriamente das bacterias, ou servir como ativador de fermentos, como na proteinase (Stephenson). Resulta da decomposição dos acidos aminados sulfurados, l-cistina e l-cisteína, H²S e CH³SH (hidrogenio sulfurado e metilmercaptana), estes na dependencia de teôr em hidrocarbonado do meio de cultura, segundo Kondo.

Nestes processos de transformação bioquimica, decorrentes de oxidação em geral, com produção de calorias, resultam manifestações de energia pelos microorganismos.

Em presença da luz, natural ou artificial, faz-se a assimilação do CO² por estas bacterias por meio da redução fotosintetica dos compostos sulfurados oxidaveis.

O ataque á molecula aminada dos compostos sulfurados — cistina, cisteína e metionina, já foi observada tambem com varias bacterias heterotrophicas. Assim, a l-cisteína e a l-cistina são decompostas com a produção de H²S, referimos em trabalho anterior. Sob a ação do *Proteus vulgaris*, em condições de anoxibiose, por uma corrente de H, Tarr observou a produção de H²S na seguinte transformação quimica:



Ficou demonstrada a utilização do enxofre ou de seus compostos com a existencia constante deste corpo nas cinzas resultantes dos organismos bacterianos.

A decomposição dos elementos sulfurados se faz frequentemente pela oxidação do H²S ou do S em natureza, produzindo-se combinações sulfuradas, particularmente acidos, H²SO⁴ ou H²SO³, ou com redução de H²SO⁴ resultando H²S.

E' conhecida a produção de H²S por bacterias desde os trabalhos de Nenki em 1889-90. *Proteus*, vibrião colerico, bacterias paratificas, cocos, bacterias anaerobias e outras, foram examinadas nesta capacidade, e em certos casos até foi aproveitada a propriedade na determinação especifica de bacterias, como nas brucelas. Certas especies bacterianas, ensaiadas na sua capacidade sulfidrigena foram achadas incapazes de produzir H²S.

Sempre que uma analyse minuciosa era efetuada com varias especies nessa propriedade surgiam duvidas sobre a capacidade decomponedora dos compostos sulfurados por uma ou outra especie, explicadas

muitas vêses como falhas dos indicadores de reação ou dependentes da capacidade proteolitica da bacteria sobre as peptonas dos meios de cultura. Petri & Maassen, em 1893, já haviam notado a influencia da presença de peptona para produção de H^2S , até que Wohlgemuth e outros puderam esclarecer o papel da cistina na sua produção pelas bacterias, bem como variações da quantidade deste corpo nas peptonas do comercio utilizadas em bacteriologia.

Num minucioso estudo da atividade de fermentos sulfidrigenos do *Proteus vulgaris* e da *Serratia marcessens* observou Tarr que de 23 compostos sulfurados de natureza organica, e com enxofre puro, apenas 10 deles e o enxofre puro eram decompostos em H^2S :

	<i>Proteus</i>	<i>Serratia</i>
Cisteína	79	80
Cistina	83	80
Glutation	82	78
Glicilcisteína	82	76
N-acetilcisteína, ester metilico	6	2
N-acetilcisteína, ester propilico	2	16
Acido tiolacetico	2	6
Acido alfa-tiolpropionico	2	0
Tiosulfato de sodio	78	0

Exames de varias amostras bacterianas em sua capacidade sulfidrigena em relação á cisteína mostraram, nas mãos de Tarr, variações consideraveis, de 1-78% de H^2S produzido pelas 7 especies bacterianas experimentadas com este corpo.

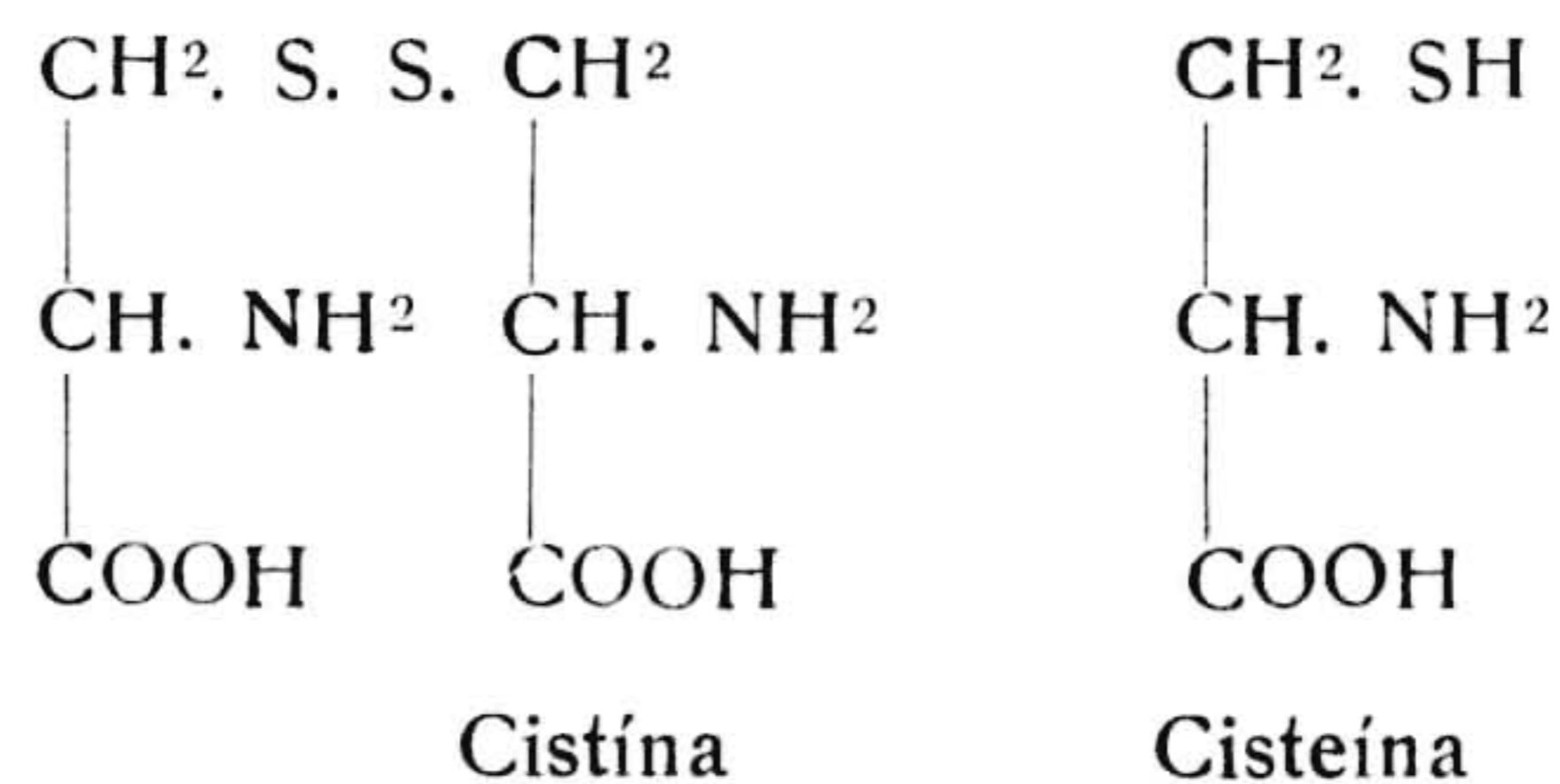
As vantagens dos meios complexos para produção de H^2S , como o caldo peptonado, podem ser explicados por sua riqueza em enxofre. No caldo peptonado a 1% ha 213 mg. de S; juntando-se-lhe gelatina esse teôr sobe a 705 mg. por litro.

Rubner assinalara, antes das verificações de Wohlgemuth, de Sasaki & Otsuka e de Tilley sobre a importancia da cistina como fonte sulfidrigena para as bacterias, que a eliminção dos sulfatos do caldo de cultura não influa na sua produção e que, portanto, não tinham estes compostos qualquer relação na capacidade sulfidrigena bacteriana. Demais, o teôr de sulfatos permanecia inalterado no meio de cultura onde houvera vegetação bacteriana, apesar de entrarem os sulfatos na formação do protoplasma das bacterias. Computando o teôr de S dos sulfatos num caldo de cultura semeado com varias bacterias, verificou Rubner

uma diferença para menos, depois do crescimento bacteriano, com bacterias que não eram sulfidrogenas enquanto que bacterias, sulfidrogenas ou não, nenhuma redução apresentavam nos sulfatos.

Evidentemente a decomposição do enxofre organico é preferencial ao metabolismo bacteriano. Assinala ainda Rubner que as peptonas possuem cistina e taurina na sua composição, deixando antever a participação destes corpos no processo de decomposição do S. Naquele tempo já pensava Rubner dever estar na cistina e na taurina a fonte do enxofre a ser utilizado pelas bacterias, o que foi confirmado por Friedmann em 1902, e mais tarde por outros.

Em presença de alcalis, a cistina e a cisteína se comportam como as proteínas. A análise da formula estrutural destes dois corpos revela como o enxofre está preso na molecula.



Esta particularidade torna mais facilmente compreensivel a decomposição destes acidos aminados como fonte sulfidrogena para bacterias, foi discutido acima.

As exigencias nutritivas da maioria das bacterias são semelhantes ás dos organismos superiores. Para utilização dos elementos nutritivos elas possuem, como os demais seres vivos, fermentos capazes de promover modificações tais nas estruturas das substancias nutritivas que as tornem utilisaveis na produção de energia.

Entrando o enxofre como receptor de oxigenio nos processos oxidativos, não admira que todas as bacterias heterotroficas o utilizem, e essa utilização redunde na produção de H²S.

Ha muito Petri & Maassen afirmaram que todas as bacterias patogenicas, em condições apropriadas de pesquisa, produzem H²S. Para comproval-o, em comparação com outros meios de cultura liquidos, utilizaram agua peptonada a 5-10%, substancia quasi sempre muito rica de cistina, sabe-se hoje.

Naquela época ensaiaram eles a capacidade sulfidrogena de proteus, vibrião colerico, bacilos tifico e paratifico, bacilo da tuberculose, coli, bacilo difterico, pasteurera de galinha, *Cl. perfringens*, *Cl. tetani*, e diversos streptococos e estafilococos patogenicos. Viram Petri & Maassen

que a produção de H^2S dependia da bacteria e da natureza do material nutritivo de cultura, influente na curva do crescimento bacteriano, e no teor de enxofre e conseqüente clivagem dos corpos sulfidrigenos.

Deante dessa assertiva cogitamos de melhorar o meio de prova para utilizar mais proveitosamente o indicador de bismuto por nós proposto.

Dentre as substancias de uso corrente nos meios de cultura lembramos do figado, órgão particularmente rico de cistina e glutathion, cujo teor orça por 37 mg. % de cistina, e 130-300 mg. % de glutathion (forma reduzida).

Os resultados se vêm no quadro 1, onde se anotaram o tempo e o grau de produção de H^2S com as diferentes amostras experimentadas.

Submetidas a provas da produção de H^2S , com indicador de bismuto e com o meio de cultura recentemente proposto por nós para pesquisa deste gaz, todas amostras, compreendendo representantes da maioria dos generos bacterianos, deram indicação evidente da produção daquele corpo.

Decorre das considerações do inicio a existencia do S na molecula proteica e derivados dela, e sua importancia no metabolismo bacteriano, particularmente nas bacterias heterotroficas. Conseguiu Tarr extrair das bacterias fermentos capazes de atuar sobre certo numero de compostos organicos sulfoconjugados, com produção de H^2S , independentes da atividade vital das bacterias.

Revistos os elementos dos meios de cultura bacterianos essenciais á atividade sulfidrigena das bacterias, estava vencida uma das dificuldades para o preparo de um meio de cultura apropriado á sua produção. Em verdade, o ideal seria o arranjo de um meio sintetico ao qual se juntasse cistina ou glutathion, elementos sulfurados essenciais á produção de H^2S . Mas não raro as bacterias dão-se mal nesses meios, exigentes como são, grande numero delas, de material muito rico de substancias nutritivas. Além disso, o glutathion é de custo elevado e nem sempre encontrado no comercio. O meio por nós proposto é rico de glutathion e de cistina, substancias referidas como essenciais ao crescimento e á produção de H^2S . Apesar disso juntamos-lhe cistina, em pequena porcentagem. Seu preparo é facil e o custo baixo.

Os resultados foram mais satisfatorios que os anteriormente encontrados por todos os pesquisadores, incluindo-se os de Petri & Maassen e mesmo por nós, como se vê na leitura dos resultados. Anteriormente, pesquisando a produção de H^2S com bacterias anaerobias, verificamos serem todas elas sulfidrigenas, o que nos levou a experimentar a propriedade em bacterias aerobias.

Quadro 1
Produção de H₂S

Genero de bacteria	N.	4 hs.	6 hs.	24 hs.	48 hs.	72 hs.	4 ds.	6 ds.	7 ds.	10 ds.
Aerogenes	558	—	—	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
	428 I	+	+	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	428 II	—	—	+	+	++	++	+++	+++	++++
Staphylococcus	548	—	—	—	+	+	+	+	+	++
	553	—	—	—	+	+	+	+	+	++
	485	—	—	—	—	—	+	+	+	++
	111	—	—	—	+	+	+	++	++	++
	419	+	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Escherichia	295	—	—	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	490	—	—	+	+	+	+	++	++	+++
	267	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	511	+	+	+++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
	478	—	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	526	+	++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	108	—	—	—	—	+	+	+	++	++
	266	—	—	—	—	+	+	+	+	+
Shigella	99	—	—	—	—	+	+	+	+	++
	559	—	—	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
	98	—	—	—	—	—	+	+	+	+
	342	—	—	—	—	+	+	+	+	+
	288	—	—	—	—	+	+	+	+	++
	94	—	—	—	—	+	+	+	+	+
	232	—	—	—	—	+	+	++	++	++
	87	—	—	—	—	+	+	+	+	++
	329	—	—	—	—	+	+	+	++	++

Salmonella	2947	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	T 0901	-	-	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
	TH 901	-	-	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
	1015	-	-	+	++	++	++	++	++	++
	495	-	-	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
	17	+	+	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	57	-	-	+	+++	++++	++++	++++	++++	++++
	24	-	+	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
	128	-	-	-	+	+	+	++	+++	+++
	46	+	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	50	+	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
	132	-	-	++	+++	++++	++++	++++	++++	++++
	45	-	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
	Pasteurella	124	-	-	-	-	-	+	+	+
147		-	-	-	+	+	+	+	+	+
36		-	-	-	+	+	+	+	+	+
496		-	-	+	+	+	+	+	+	+
263		-	-	+	+	+	+	+	+	+
509		-	-	-	-	-	-	+	+	+
Alcaligenes	480	-	-	+	+	+	++	++	++	++

Continuação do Quadro 1

		4 hs.	6 hs.	24 hs.	48 hs.	4 ds.	72 hs.	5 ds.	6 ds.	7 ds.	12 ds.
Corynebacterium	466		--	--	--	--		--	++	+	++
	214		--	--	--	--		++	++	+	++
	238 A		--	--	--	--		++	++	++	++
	272		--	--	+	+					
Proteus	517			++++	++++			++++	++++	++++	++++
	515			++++	++++			++++	++++	++++	++++
	519			++++	++++			++++	++++	++++	++++
	518			++++	++++			++++	++++	++++	++++
	390		-	+	+	++					
Streptococcus	377			+	+			++	++	+++	+++
	373			-	+			++	++	++	++
	226			-	-			+	+	+	+
	227			-	-			+	+	+	+
	231		-	+	++	++					
Vibrio	201			+	+			++	+++	+++	+++
	167		-	++	++	++					
Pseudomonas	74			+	+			+++	+++	+++	++++
	385			+++	++++			++++	++++	++++	++++
	80			+	+			++	++	+++	+++
	387			+	+++			++++	++++	+++	++++
Serratia	119			-	-			+	++	++	+++
	118			+	+			++	+++	+++	++++
Sarcina	235		--	++	++	+++					
Bacillus subtilis			-	++	++	++					

B. megatherium	248		-	+	+	++						
B. anthracis	298		-	+				++	++	+++	+++	+++
Actinobacillus mallei	327		-	-	+	+						
Brucella	1	-	-	-	+		+	++	++	++	++	++
«	3	-	-	-	+		+	++	++	++	++	++
«	8	-	-	-	-		+	+	++	++	++	++
«	4	-	-	-	-		+	+	++	++	++	++

Notações: - negativo \mp leves traços \pm traços + a ++++ graus de escurecimento

Quadro 2

RELAÇÃO DAS AMOSTRAS UTILISADAS

ESPECIE	No.	ORIGEM
<i>Aerobacter aerogenes</i>	558	Isolado de fezes humanas em 1939.
<i>Aerobacter aerogenes</i>	428 I	Isolado de fezes humanas em 1939.
<i>Aerobacter aerogenes</i>	428 II	Isolado de fezes humanas em 1939.
<i>Staphylococcus</i> sp.	548	Isolado de piodermite em 1939.
<i>Staphylococcus albus</i>	553	(Hemolitico) Isolado de septicemia em 1939.
<i>Staphylococcus</i> sp.	485	Isolado de conjuntivite em 1939.
<i>Staphylococcus aureus</i>	111	Isolado de furunculose em 1932.
<i>Escherichia</i> sp.	419	Isolado de pielite em 1938.
<i>Escherichia coli</i>	295	Amostra 86 da N. C. T. C.
<i>Escherichia</i> sp.	490	Isolado de pielite em 1939
<i>Escherichia</i> sp.	267	Isolado de fezes em 1936.
<i>Escherichia communior</i>	511	Isolado de baciluria em 1939.
<i>Escherichia paracoli</i> (?)	478	(Paracoli) Isolado de fezes em 1938.
<i>Escherichia anindolicum</i>	526	Amostra 4143 da N. C. T. C.
<i>Shigella paradysenteriae</i>	108	(Tipo Strong) Recebida do Dep. de Microbiol. da Fac. de Med. de São Paulo.
<i>Shigella paradysenteriae</i>	266	(Tipo Y) Isolada no Lab. de Saude Publica no Rio de Janeiro em 1928.
<i>Shigella paradysenteriae</i>	99	(Tipo Schimitz) Isolado de fezes disentericas, em 1928.
<i>Shigella paradysenteriae</i>	559	(Tipo alcalescens) Recebida de Arlindo de Assis em 1940.
<i>Shigella paradysenteriae</i>	98	(Tipo Hiss Russel) Isolada no Instituto Bact. de São Paulo.
<i>Shigella dysenteriae</i>	342	(Tipo Shiga) Recebida do Dr. Cezar Guerreiro.
<i>Shigella paradysenteriae</i>	288	(Tipo Hiss & Russel) Isolada de fezes em 1936.
<i>Shigella dysenteriae</i>	94	(Tipo Shiga) Recebida do Dr. Astrogildo Machado.
<i>Shigella paradysenteriae</i>	232	(Tipo Y) Isolado de fezes em 1936.
<i>Shigella paradysenteriae</i>	87	(Tipo Flexner) Recebido do Dr. Astrogildo Machado.
<i>Shigella paradysenteriae</i>	329	(Tipo Sonne) Isolado de fezes em 1937.
<i>Salmonella Schottmuelleri</i>	2947	Recebida do Instituto Roberto Koch.

ESPECIE	No.	ORIGEM
<i>Salmonella typhosa</i>	TO 901	Recebida do Instituto Roberto Koch.
<i>Salmonella typhosa</i>	FH 901	Recebida do Instituto Roberto Koch.
<i>Salmonella paratyphi</i>	1015	Recebida do Instituto Roberto Koch.
<i>Salmonella typhosa</i>	495	Isolada de hemocultura em 1939.
<i>Salmonella enteritidis</i>	17	Isolada de boi em 1930.
<i>Salmonella pullorum</i>	57	Amostra B. 15 de Rettger.
<i>Salmonella nocardii</i>	24	Isolada de papagaio em 1930.
<i>Salmonella abortus-equi</i>	128	Recebida de Rosenbuch, Argentina.
<i>Salmonella psittacosis</i>	46	Isolada de periquito em 1930.
<i>Salmonella psittacosis</i>	50	Isolada de papagaio em 1930.
<i>Salmonella gallinarum</i>	132	Isolada por Th. Smith com nome de « Seine et Meuse ».
<i>Salmonella paulensis</i>	45	Isolada de fezes de criança pelo Dr. Salle Gomes em S. Paulo.
<i>Pasteurella bovisepitica</i>	124	Isolada de bezerro com pneumoenterite em S. Paulo.
<i>Pasteurella desmodilli</i>	147	Enviada por Pirie, Africa do Sul.
<i>Pasteurella myocastori</i>	36	Isolada de nutria em 1933 em S. Paulo.
<i>Pasteurella avicida</i>	496	Isolada de galinha, em 1939.
<i>Pasteurella suilla</i>	263	Recebida do Prof. Manninger, Estados Unidos.
<i>Pasteurella pestis</i>	509	Enviada pelo Dr. G. Bretz do Serviço Sanit. do E. do Rio.
<i>Alcaligenes fecalis</i>	480	Isolado de fezes em 1938.
<i>Corynebacterium sp.</i>	466	Isolado de garganta em 1938.
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis murium</i>	214	(Kutscher) N.º 949 da N. C. T. C.
<i>Corynebacterium Hodgkini</i>	238 A	Isolada em São Paulo em 1932.
<i>Corynebacterium diphteriae</i>	272	Recebida do Departamento de Microbiologia da Faculdade de S. Paulo.
<i>Proteus</i> Amostra HXK	517	Recebida do Instituto Butantan.
<i>Proteus</i> Amostra OXL	515	Recebida do Instituto Butantan.
<i>Proteus</i> Amostra HXL	519	Recebida do Instituto Butantan.
<i>Proteus</i> Amostra HX19	518	Recebida do Instituto Butantan.
<i>Proteus sp.</i>	319	Isolado de fezes em 1938.

ESPECIE	Nº.	ORIGEM
<i>Streptococcus fecalis</i>	377	Isolado de fezes em 1938.
<i>Streptococcus fecalis</i>	373	Isolado de fezes em 1938.
<i>Streptococcus equi</i>	266	Isolado de pús de cavalo com garrotilho em 1935.
<i>Streptococcus equi</i>	227	Isolado de pús de cavalo com garrotilho em 1935.
<i>Streptococcus anginosus</i> (?)	231	Isolado de garganta em 1935.
<i>Vibrio comma</i>	201	Amostra da N. C. T. C. recebida do Inst. Bact. de B. Ayres.
<i>Vibrio comma</i>	167	Recebida do Instituto Bacteriologico de Buenos Aires.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	74	Isolado de pús em 1938.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	385	Isolada de fezes em 1938.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	80	Isolada de necrose da orelha de porco em 1931 em São Paulo.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	387	Isolada de fezes em 1932.
<i>Serratia marcescens</i>	119	Isolada de sólo em 1932.
<i>Serratia marcescens</i>	118	Isolada de sólo em 1932.
<i>Bacillus subtilis</i>	—	Isolado do ar atmosferico.
<i>Sarcina lutea</i>	235	Isolada do ar atmosferico em 1936.
<i>Bacillus megaterium</i>	248	Isolado do ar atmosferico em 1935.
<i>Bacillus anthracis</i>	298	Amostra n.º 60 da N. C. T. C.
	327	Isolada de cavalo pelo Dr. Adhemar Carvalho.
<i>Actinobacillus mallei</i>		
<i>Brucella paramelitensis</i>	1	Enviada pelo Prof. Mazza, da Argentina.
<i>Brucella abortus</i>	3	Isolada de boi em 1935.
<i>Brucella suis</i>	8	N.º 2 de Huddleson, Estados Unidos.
<i>Brucella melitensis</i>	4	N.º 1674 da N. C. T. C.

Outra dificuldade na pesquisa do H^2S tem sido o indicador de sua presença, assunto discutido em outro trabalho, de que resultou preferencia para o carbonato de bismuto. O meio assim preparado permitiu-nos confirmar a asserção de Petri & Maassen ha 47 anos passados de que todas as bacterias produziam H^2S . O que admira é que seus resultados tenham sido esquecidos e se veja em todos os trabalhos, com relação á propriedade bioquimica de bacterias, quando falam da produção de H^2S , referencia á produção positiva ou negativa desse corpo com esta ou aquela especie bacteriana.

Nossa contribuição sobre o assunto se refere á melhora da tecnica para a pesquisa, quanto ao meio de cultura e ao indicador, permitindo confirmar os resultados de Petri & Maassen ao mesmo tempo que propondo um meio em que a verificação da propriedade sulfidrigena é facil e economica.

A distinção entre bacterias produtoras e não produtoras de H^2S fica assim destituída de importancia, uma vês que é uma propriedade geral das bacterias. Resta somente a questão da quantidade que poderá ter certo valor sistematico no computo das propriedades bioquimicas bacterianas.

SUMARIO

- 1) Foi pesquisada a produção de H^2S em varias especies da maioria dos generos de bacterias heterotroficas com o meio figado-baço, com indicador de bismuto, ultimamente proposto pelos autores.
- 2) Todas as especies submetidas á prova com esse meio se revelaram dotadas da capacidade de decompôr os compostos sulfurados do meio de cultura com produção de H^2S .
- 3) Resulta que todas as bacterias heterotroficas produzem H^2S .
- 4) Houve variações no teôr de produção entre amostras da mesma especie, entre especies do mesmo genero e de um genero para outro, computado pelo escurecimento maior ou menor do bismuto.
- 5) Tambem houve diferenças entre os especimens experimentados quanto ao tempo que levaram para produzir H^2S .
- 6) E' proposta a expressão «capacidade sulfidrigena » para a produção de H^2S pelas bacterias.

SUMMARY

- 1) Research on the production of H²S by various species of the majority of the genres of heterotrophic bacteria was carried out using a liverspleen medium with the bismuth indicator lately proposed by authors.
- 2) All bacterian species submitted to test on this medium were found capable of decomposing the sulphur compounds in the culture medium with the production of H²S.
- 3) It was found that all the heterotrophic bacteria produce H²S.
- 4) There were variations in the amounts produced by different strains of the same species, by different species of the same genus and by different genres, calculated by the greater or lesser darkening of the bismuth indicator.
- 5) There were also differences between the specimens tested as to the time taken for the production of H²S.
- 6) The expression « sulphhydrigenous power » is proposed to designate the propertie of H²S production by bacteria.

LITERATURA

KNIGHT, B. C. H. G.

1938. Bacterial nutrition. London.

KONDO, M.

1923. Bioch. Zeit., **136** : 198.

LOWY & HARROW

1936. An introduction to organic chemistry. New York.

NENCKI

1889. Monat. für Chem., **9** (Apud Kruse-Allg. Mikr. Leipzig, 1910).

PETRI, R. J. & MAASSEN, A.

1893. Beiträge zur biologie der Krankheitserregenden Bakterien insbesondere über die Bildung von Schwefelwasserstoff durch dieselben unter vornehmlicher Berücksichtigung des Schweinerotlauf. Arb. a. d. Keysergesundh., **8** : 318.

PRIDE, J.

1931. Recent advances in biochemistry. London.

PACHECO, G. & COSTA, G. A.

1940. Mem. Inst. Osw. Cruz, **35** (2).

PACHECO, G. & PERES, J. N. & MATTOSO, I. V.

1939. Mem. Inst. Osw. Cruz, **34** (4).

RUBNER, M.

1893. Zeit. f. Hyg., **16**, 35.

SASAKI, T. & OTSUKA, I.

1912. Bioch. Zeit., **39** : 208.

STEPHESON, M.

1939. Bacterial Metabolism. New York-Toronto.

TARR, H. C. A.

1933. The enzyme formation of hydrogen sulphide by certain heterotrophic bacteria. Bioch. J., **27** (2) : 1869.

TILLEY, F. W.

1923. J. Bact., **8** : 287.

WOHLGEMUTH, J.

Zeit. f. phys. chem., **43** : 641.
