

Avaliação da ação dos anticorpos anti-ABO sob o crescimento da bactéria***Enterococcus spp****Evaluation of the action of anti-ABO antibodies on the growth of the bacteria**Enterococcus spp.***Running title:** *Anti-ABO antibodies and Enterococcus spp.*

Ana Beatriz Cesar da Silva¹ | Sophia Marques da Rosa¹ | Alexandre Bella Cruz¹ | Daniela Valcarenghi¹ | Alexandre Geraldo^{1*}

¹ **Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, Santa Catarina, Brasil.**

***Autor para correspondência:** Alexandre Geraldo: Rua Uruguai, nº458, Bairro Centro, Itajaí, Santa Catarina, Brasil. CEP: 88.302-901. Telefone: +55 47 3341-4790. E-mail: alexandregeraldo@univali.br. **Conflitos de interesse:** Declaro não estar submetido a qualquer tipo de conflito de interesse junto aos participantes ou a qualquer outro colaborador, direto ou indireto, para o desenvolvimento do manuscrito.

doi: <https://doi.org/10.29327/7498620>

Submetido: 06/11/2024

Aceito: 08/02/2025

RESUMO

Introdução: Os anticorpos anti-ABO podem atuar como protetores contra infecções, embora tais mecanismos não sejam ainda totalmente compreendidos. **Objetivo:** Esta pesquisa avaliou o efeito *in vitro* dos anticorpos anti-ABO sob a bactéria *Enterococcus spp.*, visando o compreender a relação desses anticorpos e o patógeno, com ênfase na inibição e/ou destruição do mesmo. **Materiais e Métodos:** Foram usadas 4 amostras sanguíneas humanas de indivíduos do grupo A, B, AB e O submetidas à titulação de anticorpos e teste anti-ABO com cepa de *Enterococcus spp.* **Resultados:** Foi observada uma redução no crescimento bacteriano de 63% a 68% (Grupos O, A e B) das unidades formadoras de colônias no soro puro. Entretanto, não foi possível verificar efeito significativo no crescimento nas diluições 1:2, 1:4 e 1:8. O Grupo AB, que não possui anticorpos proporcionou o maior crescimento bacteriano quando comparado com os Grupos A, B e O. **Conclusão:** Os dados do presente estudo indicam uma possível relação do efeito do sistema ABO na proliferação da bactéria *Enterococcus spp.*, *in*

vitro, embora não revelem a natureza mecanística de tal relação. Novos estudos utilizando maior variabilidade amostral populacional, anticorpos monoclonais e métodos de análise molecular podem contribuir para elucidar a relação entre o sistema ABO e a bactéria *Enterococcus spp.*

Palavras-chave: *Enterococcus spp.*. Anticorpos. Sistema ABO.

ABSTRACT

Introduction: Anti-ABO antibodies may act as protectors against infections, although such mechanisms are not yet fully understood. **Aim:** This research evaluated the *in vitro* effect of anti-ABO antibodies on the bacterium *Enterococcus spp.*, aiming to understand the relationship between these antibodies and the pathogen, with an emphasis on inhibition and/or destruction of the pathogen. **Materials and Methods:** Four human blood samples from individuals of groups A, B, AB, and O were used, subjected to antibody titration and anti-ABO testing with *Enterococcus spp.* strain. **Results:** A reduction in bacterial growth of 63% to 68% (Groups O, A, and B) of colony-forming units in pure serum was observed. However, no significant effect on growth was noted in the dilutions 1:2, 1:4, and 1:8. Group AB, which lacks antibodies, showed the highest bacterial growth compared to Groups A, B, and O. **Conclusion:** The data from this study indicate a possible relationship between the effect of the ABO system on the proliferation of the bacterium *Enterococcus spp.*, *in vitro*, although they do not reveal the mechanistic nature of such a relationship. New studies using greater population sample variability, monoclonal antibodies, and molecular analysis methods may help elucidate the relationship between the ABO system and the bacterium *Enterococcus spp.*

Keywords: *Enterococcus spp.*. Antibodies. ABO system.

INTRODUÇÃO

O sistema ABO é considerado um dos grupos sanguíneos mais importantes, embora sua função exata ainda não seja completamente compreendida. Estudos sugerem um envolvimento relevante desse sistema no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, oncológicas, além de seu

papel fundamental nas práticas transfusionais¹⁻³.

Os anticorpos do grupo sanguíneo ABO podem ser desenvolvidos através da via imune ou da via natural. Os anticorpos da via natural ocorrem principalmente pela crescente microbiota intestinal e exposição

às bactérias que expressam antígenos similares aos do sistema ABO. Já os anticorpos designados imunes, que são predominantemente Imunoglobulinas G (IgG), são determinados por uma aloimunização eritrocitária, como ocorre em gravidez ABO incompatível e até em uma transfusão de sangue incompatível⁴.

Pesquisas indicam uma relação de grupos sanguíneos com infecções, esta relação pode ser mediada pela presença de antígenos A ou B que podem atuar como receptores para agentes infecciosos, ou até pelos anticorpos Anti-A e Anti-B⁵. De acordo com uma pesquisa recente, pessoas do tipo sanguíneo O possuem uma ação protetora contra infecção por *Plasmodium falciparum*⁵. Já em outra metanálise, o grupo sanguíneo O destacou-se como um possível indicador de risco na avaliação da gravidade clínica em pacientes com dengue⁶. Além disso, um estudo sobre a infecção pelo SARS-CoV, mostrou que os anticorpos Anti-A e Anti-B presentes no tipo sanguíneo O, ocasionam uma redução na vulnerabilidade desta infecção⁷. Também observou-se que existe uma afinidade do vírus na ligação com os antígenos A, B e H localizadas nas células epiteliais. Logo, como uma pessoa com o tipo sanguíneo O não possui os antígenos A e B, poderia ocorrer uma interferência na entrada do vírus na célula⁷. Apesar disso,

esses mecanismos pelos quais os antígenos ou os anticorpos do sistema ABO podem predispor ou proteger os indivíduos contra essas e outras infecções, ainda não são bem compreendidos.

O gênero de bactérias *Enterococcus* é constituído por bactérias Gram-positivas, não esporuladas, que habitam naturalmente o trato intestinal em humanos e em todos os ambientes naturais⁸. Por serem importantes agentes causadores de infecções associadas à assistência à saúde, são de grande relevância médica⁹. Este microorganismo contém mecanismos de resistência intrínsecos a diversos agentes antimicrobianos, e também possui a capacidade de adquirir novos mecanismos de resistência antimicrobiana¹⁰, fatores que dificultam sua erradicação. Essa resistência intrínseca a diversos agentes antimicrobianos como às cefalosporinas, aminoglicosídeos, lincosamidas e estreptograminas, tem comprometido a escolha de opções terapêuticas para o tratamento de infecções por essas bactérias¹¹. Conforme Kobayashi *et al.* (2011)¹², de 5.440 bactérias isoladas, foram identificadas 156 cepas de *Enterococcus spp.* Destas, 25,6% apresentaram resistência a três ou mais antimicrobianos abrangendo 7,7% resistentes à vancomicina. Além disso, foi verificado resistência individual à outros antibióticos e

aos aminoglicosídeos de alta concentração, que possuem atividade bactericida¹².

Recentes estudos propõem o uso de anticorpos anti-ABO como agente bactericida contra a bactéria *Escherichia coli*¹³. Compreendendo o perfil de resistência desse gênero de bactéria e associando-a aos casos de sepse, estudos como esse podem vir a contribuir no tratamento de infecções e sepses, mediante a comprovação da capacidade de imunomodulação dos anticorpos dos grupos sanguíneos.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação dos anticorpos anti-ABO sob o crescimento da bactéria *Enterococcus spp.*, visando o compreender a relação desses anticorpos e o patógeno, com ênfase na inibição e/ou destruição do mesmo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Seleção dos sujeitos para a pesquisa

Para a seleção de sujeitos, o estudo foi submetido à aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Vale do Itajaí com parecer número 5.625.253. Após aprovação, foram selecionados 4 indivíduos que não fizeram uso de antibióticos e/ou anti-inflamatórios nos últimos 3 meses e também não tivessem passado por cirurgias

ou procedimentos odontológicos no mesmo período de tempo. O título de anticorpos foi obtido e variou de 1:16 até 1:64. A pesquisa foi realizada em duplicata, os dois ensaios foram feitos em um intervalo de 21 dias. No ensaio 1, obteve-se uma amostra coletada com anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e outra sem anticoagulante, totalizando 2 amostras sanguíneas de cada participante do estudo. Com o propósito de se obter amostras dos 4 tipos sanguíneos do grupo ABO (O, A, B e AB) além da titulação dos anticorpos anti-ABO (exceto o grupo AB), foi realizada a determinação do fenótipo ABO. Além disso, o teste foi realizado 1 dia após a coleta das amostras biológicas. Já o ensaio 2, foi realizado após 21 dias do ensaio 1. Nesse ensaio obteve-se novamente as amostras sanguíneas dos participantes e todos os testes foram repetidos. Ademais, os testes foram realizados 3 dias após a coleta das amostras biológicas. O organograma e etapas da pesquisa foram realizados conforme Gomes *et al.*¹³ (2021).

Determinação do fenótipo ABO

As amostras coletadas com EDTA foram centrifugadas a 1.000 g por 5 minutos para a determinação do grupo sanguíneo ABO de cada participante. Posteriormente, foi realizado a Prova Direta e a Prova Reversa,

a primeira com a técnica em tubo utilizando os antissoros monoclonais anti-A, anti-B e anti-AB, com kit da Bio-Rad Laboratories®, já a outra, com o uso de reagentes de Hemácias A1 e B do mesmo fabricante⁴. Seguindo o padrão de leitura da intensidade da reação de acordo com Girello e Kuhn (2016)¹⁴, a centrifugação dos tubos por 15 segundos à uma rotação de 2.326 g foi realizada para que a leitura das reações fossem feitas.

Determinação do título de anticorpos anti-ABO dos indivíduos

A técnica utilizada para a determinação do título de anticorpos anti-A e anti-B foi de acordo com Judd *et al.* (2008)¹⁵ por meio da titulação seriada do plasma em tubo em temperatura ambiente. A amostra utilizada foi a coletada com EDTA centrifugada a 1.000 g por 5 minutos. Após isto, foi efetuado uma série de diluições do plasma dos indivíduos para anticorpos anti-ABO até 1/512 em solução salina (NaCl 0,89%). Os tubos foram homogeneizados e centrifugados a 2.326 g por 15 segundos. A leitura da reação foi realizada de acordo com Girello e Kuhn (2016)¹⁴, verificando a presença ou ausência de hemólise e/ou aglutinação.

Preparo do inóculo utilizado no Teste

anti-ABO

O inóculo foi preparado através de suspensão de colônias de cepa padrão *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433) em solução salina estéril, partindo-se do modelo utilizado por Gomes *et al.* (2021).¹³ A concentração de células foi de $1,5 \times 10^2$ UFC/mL.

Teste anti-ABO

Para a realização do Teste anti-ABO, a amostra coletada sem anticoagulante foi centrifugada por 10 minutos a 1.000 g. Como o Teste visava a diluição dos anticorpos presentes no soro do indivíduo e a constância do inóculo, foram separados 4 tubos de microcentrífuga estéreis para cada grupo sanguíneo. Com a obtenção do soro de cada participante, foram realizadas uma série de diluições de 1 a 8 do mesmo em solução salina estéril. Depois de finalizadas as diluições, foi adicionado em todos os tubos de microcentrífuga 100 µL do inóculo. Para que ocorresse a ação desejada dos anticorpos anti-ABO, esse inóculo permaneceu 10 minutos em contato com a amostra antes da solução ser semeada. Logo após, 100 µL de cada diluição foi transferido para as placas com ágar Sangue e estendido, com o auxílio da alça de Drigalski, sobre toda a superfície do meio. As placas foram incubadas a 35°C e após 24 horas foi realizada a leitura e contagem das

colônias (**Figura 1**).

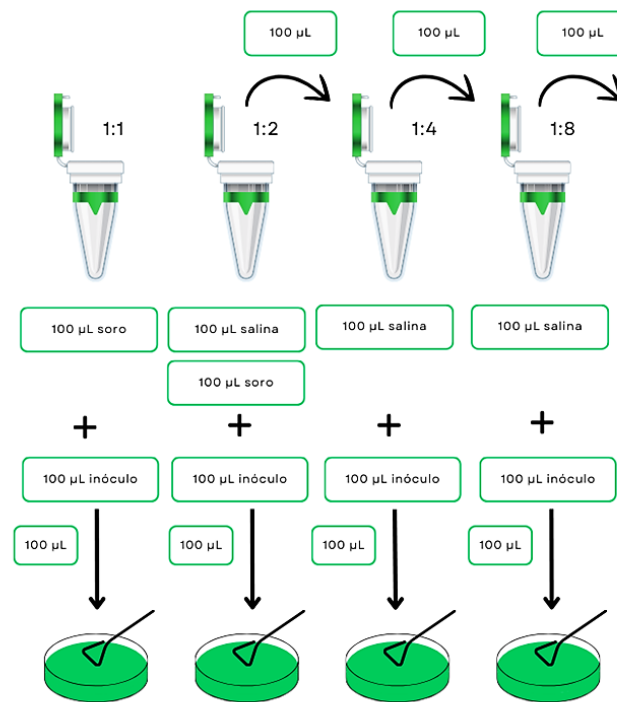


Figura 1. Representação visual da execução do Teste anti-ABO

Controle Positivo do Teste anti-ABO

O controle positivo foi realizado semeando 100 µL do inóculo puro em ágar Sangue e incubado a 35 °C, com o objetivo de avaliar o crescimento bacteriano sem a amostra de soro utilizada no Teste. Após 24 horas foi feita a contagem das colônias, analisando seu crescimento e desenvolvimento no meio de cultura.

Controle Negativo do Teste anti-ABO de amostras sem anticorpos anti-ABO

Uma vez que indivíduos do grupo AB não possuem anticorpos anti-ABO, foi realizada a mesma técnica do Teste anti-

ABO utilizando soro humano do grupo em questão. Sendo este, um controle negativo para avaliar o potencial efeito dos anticorpos anti-ABO.

Controles negativos

Para a realização do controle negativo, efetuou-se culturas dos soros dos participantes do estudo, da solução salina e do meio ágar Sangue, para demonstrar completa esterilidade e ausência de contaminação microbiana. As placas foram incubadas a 35°C durante 24 horas.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada por

Teste de Múltipla comparação Dunnett's com Intervalo de Confiança de 95% através do software GraphPad Prism 8.0.2 de 2019 e considerou-se diferença significativa o valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Dentre as 4 amostras coletadas 3 eram do sexo masculino (Grupos A, B e O) com idades entre 21 e 42 anos e 1 do sexo feminino (Grupo AB) com idade de 44 anos. Atentando-se ao fato de todos terem cumprido os requisitos de inclusão e exclusão no primeiro e segundo ensaio, prosseguiu-se com a fenotipagem ABO e titulação dos anticorpos anti-ABO. No ensaio 1 o indivíduo do grupo A apresentou título de 16 para o anti-B, o indivíduo do Grupo B teve o título de 64 para o anti-A, já o indivíduo do Grupo O obteve título de 64 para o anti-A e 32 para o anti-B. Antes da leitura do Teste foi realizada a validação do mesmo no ensaio 1.

Não houve crescimento bacteriano com o plasma das amostras dos Grupos O, A e B e AB. Bem como, não houve contaminação bacteriana em nenhum dos controles negativos do teste (salina e ágar). No controle positivo (inóculo) observou-se o crescimento de 375 UFC/mL. Os resultados do crescimento bacteriano de todos os Grupos ABO, suas diluições, bem como o controle positivo do inóculo, controle negativo do teste e valor de p estão apresentados na **Tabela 1**.

Ao analisar os resultados do teste foi possível evidenciar que no soro puro, dentre os Grupos ABO, o Grupo AB proporcionou maior crescimento bacteriano. Já na diluição 1:2 detectou-se que o Grupo A obteve o menor crescimento de colônias. Ademais, nas diluições 1:4 e 1:8 não obteve-se percentual de redução em nenhum grupo sanguíneo. Embora tenha sido observado percentuais de aumento ou redução em distintas diluições e Grupos ABO, não houve diferença significativa em nenhum Grupo ABO.

Tabela 1. Resultado de unidades formadoras de colônia no ensaio 1, percentuais de redução ou aumento de crescimento bacteriano em relação ao controle positivo.

| | UFC/mL | Redução(%) | Aumento(%) | CP UFC/mL | Valor de <i>p</i> |
|---------------------|--------|------------|------------|-----------|-------------------|
| Soro puro | | | | | |
| Grupo O | 137 | 63,47 | - | 375 | 0,5126 |
| Grupo AB | 264 | 29,60 | - | 375 | 0,6164 |
| Grupo A | 128 | 65,87 | - | 375 | 0,4852 |
| Grupo B | 119 | 68,27 | - | 375 | 0,3989 |
| Diluição 1:2 | | | | | |
| Grupo O | 164 | 33,06 | - | 245 | 0,5126 |
| Grupo AB | 262 | - | 6,94 | 245 | 0,6164 |
| Grupo A | 141 | 42,45 | - | 245 | 0,4852 |
| Grupo B | 148 | 39,59 | - | 245 | 0,3989 |
| Diluição 1:4 | | | | | |
| Grupo O | 137 | - | 14,17 | 120 | 0,5126 |
| Grupo AB | 251 | - | 109,17 | 120 | 0,6164 |
| Grupo A | 143 | - | 19,17 | 120 | 0,4852 |
| Grupo B | 124 | - | 3,33 | 120 | 0,3989 |
| Diluição 1:8 | | | | | |
| Grupo O | 123 | - | 123,64 | 55 | 0,5126 |
| Grupo AB | 223 | - | 305,45 | 55 | 0,6164 |
| Grupo A | 141 | - | 156,36 | 55 | 0,4852 |
| Grupo B | 135 | - | 145,45 | 55 | 0,3989 |

Legenda: UFC (Unidade formadora de colônia), CP (controle positivo), – (não realizado cálculo).

Examinando a **Figura 2** observa-se que houve alternância no número absoluto de

UFC/mL entre as distintas diluições do grupo O, A e B, mas não do grupo AB.

Além disso, a figura também demonstra um crescimento bacteriano escalonado no

controle positivo.

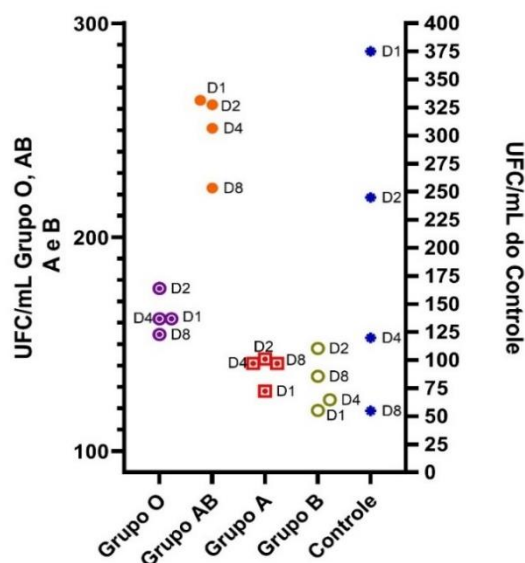


Figura 2: Resultados de unidades formadoras de colônia em soro puro e suas respectivas diluições no ensaio 1. UFC/mL (unidade formadora de colônia), D1(soro puro), D2(soro 1:2), D4(soro 1:4), D8 (soro 1:8), Controle (controle positivo).

No ensaio 2, feito com um intervalo de tempo de 21 dias entre o ensaio 1, os Grupos A, B e O apresentaram títulos de 32, tanto para o anti-A quanto para o anti-B.

Assim como no ensaio 1, não houve crescimento bacteriano em nenhum dos controles negativos, validando o teste no ensaio 2 também. No inóculo (controle positivo do teste) foi constatado o crescimento de 78UFC/mL.

Na **Tabela 2** estão demonstrados os resultados do crescimento bacteriano de todos os grupos ABO, assim como o controle positivo do inóculo, controle negativo do teste e valor de *p*. Ao examinar

os resultados do Teste no ensaio 2 nota-se que no soro puro todos os Grupos ABO obteve-se redução do crescimento bacteriano, porém, o Grupo AB foi o que demonstrou a maior redução. Ademais, nas diluições 1:2, 1:4 e 1:8 não foi obtido percentual de redução, pelo contrário, observa-se apenas percentual de aumento de colônias em relação ao controle positivo do inóculo. Apesar de ter sido constatado percentuais de aumento ou redução em distintas diluições e Grupos ABO, não houve diferença significativa em nenhum grupo ABO.

Tabela 2. Resultado de unidades formadoras de colônia no ensaio 2, percentuais de redução ou aumento de crescimento bacteriano em relação ao controle positivo.

| | UFC/mL | Redução (%) | Aumento (%) | CP UFC/mL | Valor de <i>p</i> |
|---------------------|--------|-------------|-------------|-----------|-------------------|
| Soro puro | | | | | |
| Grupo O | 45 | 42,31 | - | 78 | 0,9584 |
| Grupo AB | 34 | 56,41 | - | 78 | 0,8606 |
| Grupo A | 40 | 48,72 | - | 78 | 0,8849 |
| Grupo B | 49 | 37,18 | - | 78 | 0,4969 |
| Diluição 1:2 | | | | | |
| Grupo O | 43 | - | 38,71 | 31 | 0,9584 |
| Grupo AB | 52 | - | 67,74 | 31 | 0,8606 |
| Grupo A | 41 | - | 32,26 | 31 | 0,8849 |
| Grupo B | 44 | - | 41,94 | 31 | 0,4969 |
| Diluição 1:4 | | | | | |
| Grupo O | 37 | - | 105,56 | 18 | 0,9584 |
| Grupo AB | 40 | - | 122,22 | 18 | 0,8606 |
| Grupo A | 47 | - | 161,11 | 18 | 0,8849 |
| Grupo B | 54 | - | 200,00 | 18 | 0,4969 |
| Diluição 1:8 | | | | | |
| Grupo O | 33 | - | 230,00 | 10 | 0,9584 |
| Grupo AB | 42 | - | 320,00 | 10 | 0,8606 |
| Grupo A | 38 | - | 280,00 | 10 | 0,8849 |
| Grupo B | 45 | - | 350,00 | 10 | 0,4969 |

Legenda: UFC (Unidade formadora de colônia), CP (controle positivo), – (não realizado cálculo).

Analisando a **Figura 3** denota-se que também houve alternância no número absoluto de UFC/mL entre as distintas

diluições dos Grupo AB, A e B, mas não do grupo O. Há também um crescimento escalonado no controle positivo, assim como no ensaio 1.

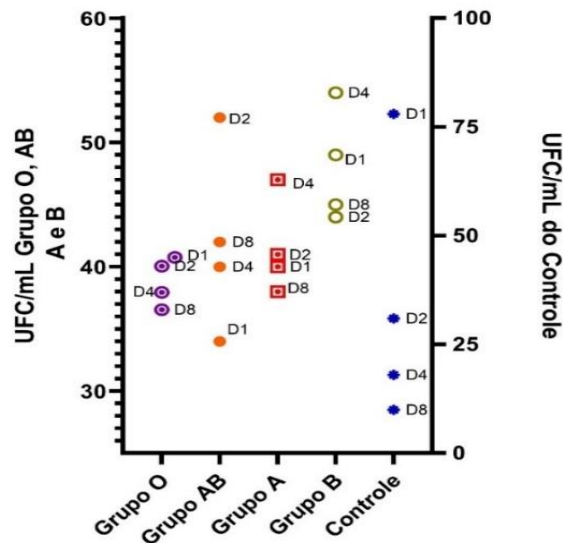


Figura 3. Resultados de unidades formadoras de colônia em soro puro e suas respectivas diluições no ensaio 2. UFC/mL (unidade formadora de colônia), D1(soro puro), D2(soro 1:2), D4(soro 1:4), D8 (soro 1:8), Controle (controle positivo).

DISCUSSÃO

Nesse estudo foi possível observar que com o uso do soro puro houve mais de 60% na redução de unidades formadoras de colônias. É verificado também no ensaio 1 que no soro puro e nas diluições o Grupo AB foi o que menos inibiu o crescimento das colônias, corroborando a hipótese da possível ação inibitória dos anticorpos anti-ABO. O aumento dessa ação dos anticorpos anti-ABO pode ser hipotetizado por inúmeros fatores abordados a seguir.

Com relação à concentração de anti-A e anti-B, denota-se que embora neste estudo tenha sido observada pouca variação dos títulos de anticorpos anti-ABO nos 4 indivíduos pesquisados, a concentração dos

mesmos pode não ter sido suficiente para promover o bloqueio do crescimento bacteriano. Os valores de títulos encontrados foram inferiores ao que algumas literaturas preconizam como indivíduos com títulos elevados. Isto é visualizado em estudos nos quais títulos elevados foram definidos como superiores à 128 e maiores ou iguais à 256^{16,17}. Contudo, não há consenso na literatura acerca do valor preconizado como de referência universal de isoaglutininas anti-A e anti-B. Este fato pode ser observado através de distintos estudos que consideraram títulos superiores à 64 como elevados e outros que por falta de consenso, descreveram tanto o título de IgM ≥ 128 quanto o de ≥ 64 como títulos altos^{18,19}.

A concentração mais baixa dos anticorpos anti-ABO encontrada nos indivíduos pesquisados pode estar relacionada com a idade, etnia e/ou sexo dos sujeitos da pesquisa, que majoritariamente tinham acima de 28 anos, de origem caucasiana e, em sua maioria, eram homens. De maneira geral caucasianos possuem títulos de anticorpos anti-ABO menores do que hispânicos e os grupos raciais não declarados²⁰. Vale destacar que indivíduos de origem africana possuem altos títulos de anti-A e anti-B. Ainda de acordo com o mesmo autor, a causa dessas diferenças nos títulos de isoaglutininas entre raças e populações étnicas pode ser devido a efeitos genéticos ou ambientais ou uma combinação de ambos. Elevados títulos de anticorpos foram observados predominantemente em mulheres jovens, em diferentes localidades^{16,21,22}. Portanto, é possível que o uso de indivíduos prevalentemente homens, pessoas com mais de 28 anos, e caucasianos, tenha proporcionado para esse estudo baixa concentração de anti-A e anti-B. Desta forma, para futuros estudos é fundamental a avaliação do número de indivíduos, da idade, sexo e etnia dos indivíduos, sobretudo recomendado o uso de plasma humano de indivíduos com origem africana, uma vez que essas amostras terão altos títulos de anti-ABO.

Além disso, é possível que esse gênero de bactéria possua poucos antígenos semelhantes ao do Sistema ABO, resultando em menor ligação dos anticorpos anti-A e anti-B, principalmente quando em baixas concentrações.

Os antígenos do sistema ABO são sintetizados a partir de enzimas glicosiltransferases, essas enzimas adicionam uma N-acetil galactosamina ou uma galactose, a vários substratos genericamente chamados de antígeno H, resultando em antígenos específicos do grupo sanguíneo A e B, respectivamente^{1,23}. Também, estudos já demonstraram semelhança química da membrana de bactérias como a *Escherichia coli* e *Helicobacter pylori* com os antígenos A e B do Sistema ABO^{24,25}. Portanto, sugere-se para futuras pesquisas envolvendo anticorpos ABO e espécie de bactéria *Enterococcus spp.* a análise e a determinação da presença de antígenos ABO ou semelhantes na superfície bacteriana da mesma.

Outrossim, os anticorpos naturais policlonais são resultantes de estimulação espontânea de bactérias da microbiota intestinal e que expressam moléculas com elevada homologia aos antígenos de grupo sanguíneo, visto que existem baixos títulos de anticorpos no plasma de uma pessoa

normal. Por outro lado, existem os anticorpos monoclonais que são gerados a partir de um único clone de células B, garantindo sua especificidade. Essas proteínas possuem capacidade de se ligar especificamente a um antígeno presente na superfície de uma bactéria, promovendo opsonização ou ativando o sistema complemento, levando à lise da célula bacteriana²⁶. Além disso, estudos com experimentos *in vitro* e *in vivo* utilizando anticorpos monoclonais humanizados direcionados a diferentes antígenos induziram morte bacteriana de cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*²⁷⁻²⁹.

Em vista disso, para futuras pesquisas sugere-se a implementação de anticorpos monoclonais anti-ABO em alta concentração a fim de que sejam testadas metodologias diferentes da aplicada no atual trabalho.

Ademais, *Enterococcus spp.* são capazes de sobreviver em condições extremas de pH, ampla variação de temperatura e concentrações de sais, permitindo-lhes colonizar uma variedade de nichos e resistir a condições difíceis de crescimento⁸. Levando isso em consideração, não deveria haver maiores dificuldades em seu desenvolvimento. Entretanto, no presente estudo foi possível observar uma dificuldade no segundo

ensaio, visto que a concentração do inóculo no soro puro reduziu aproximadamente 80% de um ensaio para o outro. Muitos fatores podem estar atrelados a esse resultado. Uma pesquisa realizada por Kim *et al.* (2020)³⁰ sugere que a bactéria *E. faecalis* pode ser mais virulenta em ágar contendo maior concentração de sacarose, tendo maior expressão de genes associados a virulência e melhor formação de biofilme. Logo, são necessários mais estudos que aprofundem o tema, porém é possível que a utilização de um meio de cultura com maiores concentrações de sacarose promovesse um melhor crescimento da *Enterococcus spp.* e possivelmente promover melhor desenvolvimento na pesquisa.

CONCLUSÃO

Neste estudo experimental e não-mecanístico foi possível observar que o soro puro reduziu o crescimento da bactéria *Enterococcus spp.* (Grupo O, A e B). O grupo AB (que não possui anticorpos anti-ABO) foi o grupo que mais proporcionou crescimento bacteriano, indicando que o sistema ABO possui papel importante no crescimento desse patógeno. Novos estudos com maior variabilidade amostral populacional, uso de anticorpos monoclonais e métodos de análise

molecular podem ajudar a elucidar os mecanismos bem como futuramente esclarecer a susceptibilidade de indivíduos à patógenos levando em consideração o

sistema-ABO, bem como estratégias de prevenção e tratamento.

REFERÊNCIAS

- 1 - Batisso AC, Novaretti MCZ. Aspectos moleculares do Sistema Sangüíneo ABO. Rev Bras Hematol Hemoter. 2003;25(1). Available from: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842003000100008>.
- 2 - Liumbruno GM, Franchini M. Beyond immunohaematology: the role of the abo blood group in human diseases. Blood Transfusion. 2013;11(4):491-9. Available from: <https://doi.org/10.2450/2013.0152-13>.
- 3 - Franchini M, Favalaro EJ, Targher G, Lippi G. ABO blood group, hypercoagulability and cardiovascular and cancer risk. Critical Reviews In Clinical Laboratory Sciences. 2012;49(4):137-49. Available from: <https://doi.org/10.3109/10408363.2012.708647>.
- 4 - Ministério da Saúde. Imuno-hematologia laboratorial. Brasília: Ministério da Saúde; 2014. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/saes/sangue/publicacoes/hemoterapia>
- 5 - Degarege A, Gebrezgi MT, Ibanez G, Wahlgren M, Madhivanan P. Effect of the ABO blood group on susceptibility to severe malaria: A systematic review and meta-analysis. Blood Reviews. 2019;33:53–62. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.blre.2018.07.002>.
- 6 - Hashan MR, Ghozy S, El-Qushayri AE, Pial RH, Hossain MA, Al Kibria GM. Association of dengue disease severity and blood group: A systematic review and meta-analysis. Reviews in Medical Virology. 2020;10;31(1):1–9. Available from: <https://doi.org/10.1002/rmv.2147>.
- 7 - Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Fengyun G, Han Y, *et al.* Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. The Lancet. 2020;395(10223):507-513. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30211-7).
- 8 - Lima FLO, Almeida PC, Oliveira GAL de. Enterococcus spp. resistentes à vancomicina e a sua disseminação em infecções no ambiente hospitalar. Research, Society and Development. 2020;31;9(8):e738986404. Available from: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6404>.
- 9 - García-Solache M, Rice LB. The Enterococcus: a Model of Adaptability to Its Environment. Clinical Microbiology Reviews. 2019;20;32(2). Available from: <https://doi.org/10.1128/cmr.00058-18>.
- 10 - Torres C, Alonso CA, Ruiz-Ripa L, León-Sampedro R, Del Campo R, Coque TM. Antimicrobial Resistance in Enterococcus spp. of animal origin. Microbiology Spectrum. 2018;2;6(4). Available from: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0032-2018>.
- 11 - Fiore E, Van Tyne D, Gilmore MS. Pathogenicity of Enterococci. Microbiology Spectrum. 2019;5;7(4). Available from: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0053-2018>.
- 12 - Kobayashi CCBA, Sadoyama G, Vieira JDG, Pimenta FC. Resistência antimicrobiana associada em isolados clínicos de Enterococcus spp. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2011;27;44(3):344–8. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822011005000033>.
- 13 - Gomes NM, Bella Cruz A, Valcarenghi D, Butzke de Souza N, Geraldo A. Ação bactericida de isoaglutininas ABO em diferentes diluições de anticorpos anti-ABO. Revista de Biotecnologia & Ciência. 2021;18;10(2):38–53. Available from: <https://doi.org/10.31668/rbc.v10i2.12580>.
- 14 - Girello AL, Ingrid T. Fundamentos da imuno-hematologia eritrocitária. São Paulo: Editora Senac; 2002.
- 15 - Judd WJ, Johnson ST, Storry J. Judd's methods in immunohematology. 3. ed. Bethesda, Md: Aabb Press; 2008.

- 16 - de França NDG, Poli MCC, Ramos PG de A, Borsoi CS da R, Colella R. Titers of ABO antibodies in group O blood donors. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* [Internet]. 2011;33(4):259–62. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3415752/> doi: <https://doi.org/10.5581/1516-8484.20110073>.
- 17 - Chung BH, Lim JU, Kim Y, Kim JI, Moon IS, Choi BS, et al. Impact of the Baseline Anti-A/B Antibody Titer on the Clinical Outcome in ABO-Incompatible Kidney Transplantation. *Nephron Clinical Practice*. 2013;124(1-2):79–88. Available from: <https://doi.org/10.1159/000355855>.
- 18 - Musa H, Abdallah F, Mbugua A. Prevalence of High Titre Anti-A and Anti-B Antibodies among Blood Group O Donors at Kenyatta National Hospital Blood Transfusion Unit, Kenya [Internet]. *Journal Of Medical Science And Clinical Research*. 2019;7(10). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23049315/> doi: <https://dx.doi.org/10.18535/jmscr/v7i10.15>.
- 19 - Aguilar G, Ortiz N, Gonzales D, Loyola S, Paredes JA. High titers of anti-A1 and anti-B antibodies among Peruvian group O platelet donors. *Transfusion and Apheresis Science*. 2022;61(3):103341. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.transci.2021.103341>.
- 20 - Beddard R, Ngamsuntikul S, Wafford T, Aranda L. Immunoglobulin M anti-A and anti-B titers in South Texas group O D+ male donors. *Transfusion*. 2019;21;59(7):2207–10. Available from: <https://doi.org/10.1111/trf.15273>.
- 21 - Mazda T, Yabe R, NaThalang O, Thammavong T, Tadokoro K. Differences in ABO antibody levels among blood donors: a comparison between past and present Japanese, Laotian, and Thai populations. *Immunohematology*. 2007;23(1):38–41. Available from: <https://doi.org/10.21307/immunohematology-2019-316>.
- 22 - Saidin NIS, Noor NHM, Yusoff SM, Sauli MS. Characteristics of ABO Antibodies in Group O Malaysian Blood Donors Contributors. *The Malaysian Journal of Medical Science*. 2023;30(4):61–70. Available from: <https://doi.org/10.21315/mjms2023.30.4.6>.
- 23 - Calafell F, Roubinet F, Ramírez-Soriano A, Saitou N, Bertranpetit J, Blancher A. Evolutionary dynamics of the human ABO gene. *Human Genetics*. 2008;16;124(2):123–35. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00439-008-0530-8>.
- 24 - Ewald DR, Sumner SC. Blood Type Biochemistry and Human Disease. Wiley interdisciplinary reviews Systems biology and medicine. 2016;[cited 2020 Aug 2];8(6):517–35. Available from: <https://doi.org/10.1002/wsbm.1355>.
- 25 - de Mattos LC. Structural diversity and biological importance of ABO, H, Lewis and secretor histo-blood group carbohydrates. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2016 Oct;38(4):331–40. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1516848416300767?via%3Dihub> doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2016.07.005>.
- 26 - DiGiandomenico A, Sellman BR. Antibacterial monoclonal antibodies: the next generation? *Current Opinion in Microbiology*. 2015;[cited 2019 Sep 18];27:78–85. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.07.014>.
- 27 - Szijártó V, Guachalla LM, Visram ZC, Hartl K, Varga C, Mirkina I, et al. Bactericidal Monoclonal Antibodies Specific to the Lipopolysaccharide O Antigen from Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Clone ST131-O25b:H4 Elicit Protection in Mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2015;[cited 2024 Nov 4];59(6):3109–16. Available from: <https://doi.org/10.1128/aac.04494-14>.
- 28 - Rossmann FS, Laverde D, Kropec A, Romero-Saavedra F, Meyer-Buehn M, Huebner J. Isolation of Highly Active Monoclonal Antibodies against Multiresistant Gram-Positive Bacteria. Kluytmans J, editor. *PLOS ONE*. 2015;23;10(2):e0118405. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118405>.
- 29 - Coelho, JTA. Anticorpos Monoclonais [master's thesis]. Porto: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa; 2014.
- 30 - Kim MA, Rosa V, Min KS. Characterization of *Enterococcus faecalis* in different cuKobaylture conditions. *Scientific Reports*. 2020;10(1). Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78998-5>.