



Bifidobacterium longum e os impactos na saúde emocional através dos hábitos de vida

Maria Julia Onofre¹, Glauber Pimentel Florencio², Ralciane de Paula Menezes³, Denise Von Dolinger de Brito Röder⁴

 <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2025v7n2p1948-1979>
Artigo publicado em 20 de Fevereiro de 2025

ARTIGO ORIGINAL

RESUMO

A microbiota intestinal tem um papel crucial na saúde geral, incluindo a saúde mental. As cepas de *Bifidobacterium longum* são consideradas habitantes comensais do trato gastrointestinal e sua presença é associada a efeitos benéficos no humor e na redução da ansiedade. **Objetivo:** Avaliar a correlação entre hábitos de vida, composição da microbiota intestinal, em especial as cepas de *Bifidobacterium longum*, e a saúde mental em adultos. **Metodologia:** Um estudo transversal foi conduzido em Uberlândia, Minas Gerais, com 130 pacientes adultos. Amostras fecais foram coletadas e analisadas para a presença de *Bifidobacterium longum*. Dados sobre hábitos de vida e saúde mental foram obtidos por meio de questionários validados no Brasil. **Resultados:** A análise revelou que estilos de vida saudáveis, incluindo sono equilibrado, dieta balanceada e atividade física regular, estão positivamente correlacionados com a presença de *Bifidobacterium longum* e melhores indicadores de saúde mental. Os resultados sugerem que intervenções no estilo de vida podem modular a composição da microbiota intestinal, impactando positivamente ou negativamente na saúde mental. **Conclusão:** Promover hábitos de vida saudáveis pode ser uma estratégia eficaz para melhorar a saúde mental através da modulação da microbiota intestinal.

Palavras-chave: Hábitos de vida, Bifidobactérias, Saúde emocional

ABSTRACT

The gut microbiota plays a crucial role in overall health, including mental health. *Bifidobacterium longum* strains are considered commensal inhabitants of the gastrointestinal tract and their presence is associated with beneficial effects on mood and anxiety reduction. **Objective:** To evaluate the correlation between lifestyle habits, gut microbiota composition, especially the *Bifidobacterium longum* strains and mental health in adults. **Methodology:** A cross-sectional study was conducted in Uberlândia, Minas Gerais, with 130 adult patients. Fecal samples were collected and analyzed for the presence of *Bifidobacterium longum*. Data on lifestyle habits and mental health were obtained through questionnaires validated in Brazil. **Results:** The analysis revealed that healthy lifestyles, including a balanced sleep, balanced diet and regular physical activity, are positively correlated with the presence of *Bifidobacterium longum* and better mental health indicators. The results suggest that lifestyle interventions can modulate the composition of the gut microbiota, impacting positively or negatively on mental health. **Conclusion:** Promoting healthy lifestyle habits can be an effective strategy to improve mental health through modulation of the intestinal microbiota.

Keywords: Lifestyle habits, Bifidobacteria, Emotional health

Instituição afiliada – 1 – Discente de Enfermagem. Faculdade de Medicina. Universidade Federal de Uberlândia.

2 – Doutorando da Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Faculdade de Medicina. Universidade Federal de Uberlândia.

3 – Técnica da Escola Técnica de Saúde. Universidade Federal de Uberlândia.

4 – Docente Titular do Departamento de Microbiologia. Instituto de Ciências Biomédicas. Universidade Federal de Uberlândia.

Autor correspondente: Maria Julia Onofre mariaonofre.enf@gmail.com

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



INTRODUÇÃO

A microbiota intestinal consiste em um agrupamento de microrganismos, dentre bactérias, fungos e arqueias, presentes no trato gastrointestinal (TGI). As bactérias são predominantes no TGI, apresentando diversas funções na saúde e bem-estar do ser humano, exercendo uma conexão simbiótica capaz de influenciar nos processos fisiológicos ao proporcionar a transformação dos nutrientes, e impactar positivamente no sistema imunológico. A constituição da microbiota intestinal tem início após o nascimento, sendo influenciada por diversos fatores, como tipo de parto, aleitamento materno exclusivo, localização geográfica e hábitos de vida ¹.

A complexa composição da microbiota intestinal possui, predominantemente, os filos *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, e *Verrucomicrobia* ². O microbioma simbiótico representa um valioso meio de manter o organismo humano em homeostase. Tal capacidade está intrinsecamente relacionada à diversidade da microbiota e a ausência de desequilíbrio na flora. A colonização do trato gastrointestinal do ser humano depende de diversos fatores, como idade, condições de saúde e hábitos alimentares ³. Dessa forma, o desequilíbrio da microbiota intestinal humana é apontado como precursor de diversas doenças como Alzheimer, inflamação intestinal, artrite reumatóide, asma e esclerose múltipla ⁴.

A disposição do material microbiano no intestino é coordenada em parte pela dieta. Ao decorrer da evolução do corpo humano, modificações foram identificadas na estrutura do microbioma intestinal, observadas entre a passagem da amamentação para a dieta do adulto. Durante a amamentação há grande porcentagem dos filos *Actinobacteria*, quantidade semelhante entre *Proteobacteria* e *Firmicutes* e em menor porcentagem as *Bacteroidetes*. Por outro lado, a partir da dieta do adulto com carnes, verduras e legumes, observa-se o avançar de bactérias do filo *Bacteroidetes* e *Firmicutes* e diminuição considerável nos filos *Proteobacteria* e principalmente, *Actinobacteria*. Porém, a problemática relacionada à homeostase intestinal ocorre quando há o declínio no crescimento microbiano simbiótico por condições dietéticas, antibioticoterapia e condições adversas presentes no hospedeiro ⁵.

Os microrganismos nomeados de bifidobactérias são bactérias Gram-positivas e anaeróbias, pertencentes ao filo *Actinobacteria*, sendo encontradas no trato gastrointestinal ao longo da vida, com cerca de 78 espécies reconhecidas. O gênero *Bifidobacterium*, presente dentro da família das bifidobactérias, é considerado o mais prevalente na microbiota intestinal das crianças ⁶.

As *Bifidobacterium* são constituídas por cerca de 80 subespécies residentes no trato gastrointestinal do ser humano, aves e outros animais, assim como no ambiente aquático. As bifidobactérias mais proeminentes no trato gastrointestinal humano, em específico no cólon, são os táxons *B. breve*, *B. bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. pseudotenulatum*, *B. pseudolongum* e a *B. animalis subsp. Lactis*, destacando-se as *B. longum*, *B. adolescentis* e a *B. pseudocatenulatum*, consideradas as mais predominantes no intestino de um adulto ^{7,8}. Tais bactérias são capazes de sintetizar vitaminas como tiamina, riboflavina, vitamina K e vitamina B6. Logo, a partir dos benefícios fornecidos pelas bifidobactérias, são formuladas como probióticos, dentre eles, incluindo os táxons *B. animalis*, *B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis* e *B. longum* ³.

As *Bifidobacterium longum*, são habitantes comensais do trato gastrointestinal, com valor significativo no intestino infantil ⁹. Tais bactérias demonstram a capacidade de permanecer por longos períodos no indivíduo, persistindo ao longo da vida¹⁰. Tais bactérias são benéficas devido a produção de materiais biotivos, permitindo que sejam administradas como probióticas, em dosagens adequadas. No intestino humano, as *B.longum* contribuem na metabolização de carboidratos para ácidos graxos de cadeia curta, lactato e acetato ⁹. Os metabólitos ativos produzidos pelas *B.longum* estimulam a interação entre os sistemas digestivo, cardiovascular, imunológico, endócrino e nervoso, para que organismo se mantenha saudável ¹¹.

Pesquisadores alegam que há uma relação próxima entre o estilo de vida do indivíduo e a microbiota intestinal do mesmo, sendo modulada de acordo com os hábitos do dia a dia ¹². O estilo de vida ocidental, com baixa prática de exercícios e alta taxa de estresse, pode estar associado a diversas alterações na saúde, comprometendo a abundância e composição das bactérias intestinais ¹³.

De acordo com estudos realizados, a prática de atividade física proporciona efeitos positivos na saúde cerebral, assim como permite alterações na microbiota intestinal,

modulando a composição de forma benéfica^{14,12}. Essas modificações seriam capazes de intervir contra o desenvolvimento da obesidade e de doenças do trato gastrointestinal, assim como, reduzir o peso corporal. Os mecanismos utilizados para a modificação da microbiota intestinal por meio da atividade física estão divididos em diferentes mecanismos, como o aumento do fluxo intestinal, liberação de neurotransmissores, hormônios e quimiocinas¹². Ademais, a prática de atividades físicas e o exercício provocam efeitos benéficos a saúde e crescimento da microbiota intestinal através de alterações no próprio ambiente intestinal, na regulação do muco, mudanças nos ácidos biliares, aumento na síntese de Ácidos Graxos de Cadeia Curta (AGCC)¹⁵.

Estudos mostram, de modo sucinto, que a prática de atividade física pelo menos três vezes na semana, está ligada ao aumento na quantidade bactérias do filo Actinobacteria, dentre elas, as *Bifidobacterium*, inibindo a atuação de patógenos ao controlar a ação imunológica e intestinal¹⁵. É importante ressaltar que exercícios praticados com alta intensidade podem prejudicar temporariamente a barreira intestinal, devido a redução do fluxo sanguíneo (isquemia) intestinal e estresse térmico estabelecido no organismo através do exercício¹⁶.

Outro fator relevante no estímulo do sistema imunológico e da microbiota intestinal é o sono. O desequilíbrio, com interrupções ou perturbações durante o sono, permite o aumento de substâncias pró-inflamatórias, assim como, possibilita o desenvolvimento de infecções. O microbioma intestinal e seus metabólitos estabelecem uma reação coordenada por um ritmo diurno, respeitando o ciclo circadiano humano¹⁷. Dessa maneira, pesquisas indicam que o eixo microbiota-intestino-cérebro possui grande conexão com a etiologia e patogênese nos transtornos do sono¹⁸.

Sob outro enfoque, com relação a ansiedade e estresse, o desequilíbrio da microbiota intestinal, devido a conexão entre o eixo microbiota-intestino-cérebro, atinge de maneira negativa a saúde mental. Tal situação pode ser explicada a partir da informação em que a microbiota intestinal é capaz de sintetizar e regular neurotransmissores ou precursores que realizam funções importantes no cérebro, como serotonina e dopamina. Assim como, a influência na saúde mental do indivíduo pode ser ocasionada através da comunicação efetuada pelo nervo vago, de modo bidirecional, que permite a transmissão de informações do intestino para o cérebro com respostas de caráter cognitivo e emocional. Somando a essas questões, pode-se citar a interação neuro-

imunológica e a metabolização do triptofano, material esse, precursor de alguns neurotransmissores e responsável pela produção de substâncias neuroativas^{19, 20, 21}. Visando a homeostase emocional e suas conexões, pesquisas indicam que a administração de cepas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* agem diminuindo a progressão de casos como depressão, estresse e no comprometimento de funções cognitivas²².

De forma geral, observa-se que o estilo de vida dos indivíduos impactam de forma direta e indireta na saúde da microbiota intestinal, afetando entre diversas cepas, famílias e espécies, na qual a presença das *Bifidobacterium longum* são modificadas em diversos âmbitos da vida. Assim, o objetivo da pesquisa em questão foi avaliar a eficácia dos efeitos psicobióticos do *Bifidobacterium longum* no controle de alterações na saúde mental de indivíduos adultos, considerando diferentes hábitos de vida, como dieta, sono e atividade física.

METODOLOGIA

Foi realizado um estudo transversal com pacientes atendidos em uma Clínica de atendimento primário à saúde em Uberlândia no Estado de Minas Gerais, Brasil, de outubro de 2022 a outubro de 2023. No total, foram recrutados 130 pacientes adultos para coleta das informações. Os critérios de inclusão foi possuir idade maior que 18 anos e ter aceitado participar do estudo. Os critérios de exclusão foram: uso de probióticos nos últimos 90 dias, uso de medicamentos de uso contínuo nos últimos 30 dias, de antibióticos nos últimos 15 dias, presença de evidências clínicas de doenças intestinais, doenças graves como cardiopatia, nefropatia, doença hepática crônica, imunodeficiências, neuropatia crônica ou hospitalização nos últimos dois meses.

Todos os pacientes incluídos no estudo foram recrutados no momento de sua primeira consulta à clínica de atenção primária à saúde. Também foi realizada a coleta de fezes pelos participantes no seu local de residência sob prévia orientação. Os pacientes foram analisados de acordo com diversos parâmetros, descritos abaixo:

Variáveis antropométricas e de composição corporal

O índice de massa corporal (IMC) foi calculado usando o peso corporal e a altura medidos com os pés descalços e com roupas mínimas de acordo com a definição e classificação da Organização Mundial da Saúde (A healthy lifestyle – WHO recommendations)²³. Parâmetros de composição corporal (massa e percentual de gordura

corporal e massa magra) foram adquiridos pela balança de bioimpedância Inbody 120 (Coréia do Sul).

Forma e consistência das fezes

Foi analisada a forma das fezes segundo a escala de Bristol ²⁴.

Hábitos de vida

Todos os pacientes se beneficiaram de uma entrevista incluindo pesquisa do padrão alimentar utilizando o questionário ELSA Brasil ²⁵ (para verificar o padrão alimentar e em especial no que se refere à ingestão de fibras, água, alimentos industrializados e refrigerante), questionário de ansiedade (Hamilton)²⁶, questionário de sono (“Pittsburgh Sleep Quality Index”- PSQI) ²⁷, questionário internacional de atividade física (IPAQ) ²⁸. Estes questionários foram aplicados no momento da consulta.

Coleta de Fezes

Os participantes receberam um kit para coleta de fezes identificado contendo: 01 pote transportador 50 ml, 01 espátula, 01 revestimento estéril para vaso sanitário, tornando a coleta mais confortável e minimizando riscos de contaminação da amostra. Elas foram orientadas conforme o procedimento de uso do kit coletor e realizaram a coleta em sua residência, mantendo a amostra em refrigeração até o momento da entrega. As amostras foram recolhidas e transportadas sob refrigeração até o laboratório de Biologia molecular, aonde foram aliqüotadas em 15mg e armazenadas em freezer -80°C até o período da realização da extração do DNA.

Extração de DNA

As extrações de DNA fecal foram realizadas nas 130 amostras obtidas. Como método adaptado e padronizado para extração de DNA das fezes foi utilizado o protocolo do International Human Microbiome Standard, sendo escolhido para uso o protocolo H ²⁹. O processo de extração utilizou 15mg de fezes previamente pesadas em um eppendorf estéril de 2 mL e seguiam armazenadas em freezer - 80°C. A essas amostras congeladas foi adicionado 250 µL de solução de isotiocianato de guanidina (4M) seguido por adição 40 µL de solução N-laurilSarcosina 10% e após o descongelamento da amostra adicionado 500 µL de solução N-laurilSarcosina 5% que atua na remoção de lipídeos presentes nas amostras. Amostras incubadas a 70°C por 01 hora em termobloco. Adicionado 750 mg de beads de vidro com diâmetro de 0,1cm e homogeneizado com auxílio do vórtex. Dando seguimento ao protocolo foi adicionado 10 mg de Polivinilpolipirrolidona (PVPP), amostras agitadas vigorosamente e centrifugadas a

9.000 g por 5 minutos a 4°C. Adicionado 500 µL TENP (tampão Tris-HCL, EDTA, NaCl e PVPP) realizada centrifugação a 9.000 g por 10 minutos mantendo a temperatura de 4°C e coletado o sobrenadante em outro eppendorf. Esse procedimento de lavagem utilizando o TENP e centrifugação foi repetido três vezes, sendo que a cada centrifugação o sobrenadante foi transferido para o outro eppendorf. Essas lavagens auxiliam na remoção de metabólitos secundários que possam estar presentes na amostra. O DNA foi precipitado com 1 mL de Isopropanol, homogeneizado por inversão e centrifugado a 9.000 g por 10 minutos. Descartado o sobrenadante e adicionado 450 µL de tampão Phosphate e 50 µL acetato de Potássio, dissolvendo o DNA precipitado suavemente. Amostras foram mantidas em refrigeração por 01 hora e 30 minutos, centrifugadas e recuperado sobrenadante contendo DNA, que foi tratado com 10mg/µL de Rnase (Sigma). Adicionado 50 µL de acetato de Sódio (3M) e 1 mL de etanol 100% e amostras mantidas em uma temperatura de -20°C por um período de 14 a 16 horas. Finalizando a extração as amostras foram submetidas a três lavagens sucessivas com etanol 70% sempre mantendo a centrifugação 12.000 g por 5 minutos a 4°C. Ao término do processo o DNA precipitado foi ressuspensionado em 200µL de tampão Tris-EDTA (TE) pH 8 conforme indicado pelo protocolo e armazenado a 4°C^{29,30}. O DNA extraído foi quantificado pelo método de espectrometria através do equipamento NanoDrop™ Lite Spectrophotometer®. Para avaliar a concentração e pureza da amostra utilizou-se a medida de absorvância através do comprimento de onda 260/280 nm sendo indicadas amostras de boa qualidade aquelas com valores de razão entre 1,8 e 2,0 (ThermoFisher Scientific). Dando continuidade na avaliação de qualidade e integridade do DNA extraído, foi realizada eletroforese do DNA genômico em gel de agarose na concentração 0,6% corado com Brometo de etídeo, onde foi possível confirmar a integridade do DNA e excluir contaminação por RNA³⁰. As condições estabelecidas para realização da eletroforese foram o uso de tampão TBE 0,5X e corrente elétrica de 80 volts e a imagem documentada por meio de um transiluminador UV³¹.

Reação em cadeia da Polimerase (PCR)

A reação de PCR foi padronizada a partir de 30 ng de DNA, utilizando o kit da ThermoFisher/Brasil e seguindo os seguintes parâmetros no termociclador: 1 ciclo de 94°C por 5 minutos, 40 ciclos: 95°C por 15 segundos / 60°C 15 segundos/ 72°C por 33 segundos e 1 ciclo de 72°C por 9 minutos. Realizada nova eletroforese em gel de agarose 1,2% para verificar a amplificação do DNA onde cada gênero apresenta uma banda

específica de tamanho. Sequência de Primers utilizados para amplificação do gênero *Bifidobacterium* : Forward (GGG TGG TAA TGC CGG ATG) Reverse (TAA GCG ATG GAC TTT CAC ACC). Tamanho: 467pb³².

Quantificação dos gêneros bacterianos por PCR em tempo real (qPCR) a partir do DNA extraído foi realizada a construção de uma curva padrão utilizando o primer universal para o gene 16S rRNA e realizada através de qPCR. Para os ensaios foi utilizado o kit GoTaq® Probe qPCR Master Mix, sistema Sybr Green (Applied Biosystems, Life Technologies) e placas de 96 poços seladas com selo óptico (Applied Biosystems). A quantificação se deu inicialmente a partir de uma curva padrão previamente estabelecida, na qual a reação de qPCR teve um volume final de 10 µL: sendo 4,9 µL referente ao master mix, 0,1 µL de CXR (corante de referência), 3 µL primers (solução de uso contendo Forward e Reverse na concentração 10 miliMolar), 1 µL água miliQ estéril, e 1 µL do DNA na concentração inicial de 10 ng. Foram utilizados também outras concentrações de DNA para construção da curva padrão (1ng/ 0,1 ng/ 0,01ng/ 0,001ng/ 0,0001 ng). As reações foram preparadas em triplicata e o aparelho utilizado foi 7300 Real-Time PCR (Applied Biosystems). As condições de amplificação foram 50°C por 2 min, 95°C por 10 min, 40 ciclos referente a desnaturação a 95°C por 15 segundos, seguidos pelo anelamento dos primers a 60 °C por 1 minuto. Ao término da amplificação foi aplicada a seguinte fórmula para obter o número de cópias de DNA bacteriano em cada diluição: Número de cópias= [DNA (g/µL) x 6'022*1023 (pb/mol)] / [length (pb) x 660(g/mol)]. Onde a fórmula representa: - DNA(g/µL):Concentração de DNA utilizado (10ng/ 1ng/ 0,1ng/ 0,01ng/ 0,001ng/ 0,0001ng/) -Constante: 6'022*1023 -Length: 4,600.00pb (DNA E.coli) -Constante: 660 (g/mol). Obtendo o número de cópias de DNA e sua quantidade em nanogramas correspondente ao Ciclo Treshold (Ct) apontado na amplificação.

Após a obtenção da curva padrão foi dada continuidade a quantificação dos gêneros bacterianos em todas as amostras analisadas. O protocolo foi mantido e reproduzido respeitando as mesmas condições dos reagentes, utilizando 10 ng de DNA para todas as reações e apenas o primer era alterado conforme o gênero avaliado. Utilizadas as mesmas condições de temperatura no 7300 Real-Time PCR (Applied Biosystems) o qual utiliza a intensidade do DNA amplificado com a referência ROX. Ao final da reação é utilizado o valor do Ciclo Threshold (CT) que é o número de ciclos necessários para que o aparelho detecte a amplificação do alvo através da fluorescência

emitida ³³.

Sequenciamento de Nova Geração

Nove amostras foram encaminhadas para sequenciamento. Foram contratados os serviços da empresa Proteimax Biotecnologia LTDA, São Paulo – Brasil, onde foi realizado o processo de construção da biblioteca do RNAr 16s V3/V4 e o sequenciamento. Em um primeiro momento foi realizada a construção da biblioteca genômica utilizando os seguintes primers para a região V3 e V4 do RNAr 16S: 341 Forward (5'-CCT ACG GGN GGC WGC AG-3') e 805 Reverse (5'-GAC TAC HVG GGT ATC TAA TCC-3') ^{34,35}. A biblioteca foi preparada utilizando o kit Nextera® XT ³⁶. Após a construção da biblioteca foi iniciado o sequenciamento utilizando o sequenciador Illumina® NovaSeq6000 com o kit SP Reagent kit v1.5 (500 ciclos) (2x250bp).

Análise dos dados sequenciados

Após o sequenciamento foram gerados resultados no formato de texto FASTQ, que contém as sequências de nucleotídeos e os seus índices de qualidade correspondentes. As análises dos resultados do processamento metagenômico destes dados possibilitam a observação da composição predominante da microbiota fecal das participantes do estudo. Além disso, é possível analisar os conjuntos de metabólitos produzidos por estes organismos identificados na microbiota fecal.

Controle de qualidade

Um estudo da qualidade das amostras sequenciadas utilizando os arquivos FASTQ foi conduzido utilizando a ferramenta PRINSEQ-lite 0.20.4 ³⁷. O controle de qualidade das amostras foi realizado através de um filtro de sequências, baseado no índice Phred ³⁸. Foi utilizado um valor de Phred20 como parâmetro no processo de filtragem.

Análise das sequências obtidas e classificação taxonômica

Para estudar a composição da microbiota das amostras, realizamos análises metagenômicas utilizando o software QIIME 2 (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) ³⁹. A partir dos arquivos FASTQ, com as sequências resultantes do processo de controle de qualidade, são gerados arquivos de Unidades Taxonômicas Operacionais (OTUs). Neles, as sequências de 16S rRNA de cada amostra estão agrupadas por um critério de semelhança. Um classificador Naive Bayes treinado na base de dados Silva, que possui qualidade controlada de genes rRNA ⁴⁰, infere a taxonomia de cada OTU, em cada um dos diferentes níveis taxonômicos (domínio, filo, classe, ordem, família, gênero

e espécie) ⁴¹.

Análise estatística

Foi calculado uma amostra pareada de $n=130$ com poder do estudo de 81,35% (0,8135), tamanho de efeito de 0,38 e $\alpha=0,05$. O cálculo foi realizado no Software G-power 3.1.9.7. Foi realizada a análise estatística descritiva e inferencial. A análise descritiva foi realizada por meio de frequências absolutas e relativas para variáveis qualitativas. Já variáveis quantitativas foram analisadas por meio de suas médias e desvio padrão.

Na análise inferencial, foi realizado, para as variáveis quantitativas (discretas e contínuas), inicialmente, o teste de normalidade KS e SW. Sendo posteriormente realizado o teste T de Student para amostras pareadas. Para variáveis qualitativas foram realizados os testes de McNemar para variáveis nominais e o teste de Wilcoxon para variáveis ordinais. A força de associação entre as variáveis qualitativas foi avaliada pelo cálculo da razão de chance ou odds ratio acompanhado do respectivo intervalo de confiança de 95% (IC 95%). Para se determinar diferenças estatisticamente significantes foram utilizado um valor de $p<0,05$. As análises foram realizadas no Software IBM SPSS, versão 25.0.

Aspectos éticos

A proposta de estudo foi encaminhada e aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia - CAAE n 49391221.8.0000.5152, número do Parecer: 5.003.231. Todos os sujeitos deram seu consentimento para participar do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

RESULTADOS

Dos 130 pacientes analisados, somente 12 (9,23%) apresentaram a bactéria *Bifidobacterium longum* em suas fezes. Observou-se que grande parte dos pacientes analisados possuíam baixo consumo de água diário (menos de 1 litro por dia), faziam o consumo frequente de alimentos industrializados (pelo menos 3 vezes na semana) e consumiam refrigerante semanalmente, assim como ingesta de bebida alcoólica, entre cerveja, vinho ou destilados (Tabela 1).

Tabela 1. Características demográficas e clínicas dos pacientes do grupo A (pacientes com ausência de *Bifidobacterium longum*) e do grupo B (pacientes com *Bifidobacterium longum*)

Característica	Grupo A (N=118)		Grupo B (N=12)	
	N	%	N	%
Idade (Média)	46,3		41,5	
Peso (Média)	76,99		62,35	
Altura (Média)	1,61		1,64	
IMC (Média)	27,97		23,02	
Qualidade do sono				
Sensação de fadiga ao acordar				
Sim	104	88,14	11	91,67
Não	14	11,86	1	8,33
Apnéia do sono				
Sim	66	55,9	1	8,33
Não	52	44,1	11	91,67
Horas de sono por noite (Média)	5		4	
Frequência de atividade física (Vezez por semana)				
0 a 1	52	44,06	6	50
2 a 4	45	38,14	3	25
5 a 7	21	17,80	3	25
Características Emocionais				
Ansiedade				



Sim	109	92,38	12	100
Não	9	7,62	0	0
Mudanças de humor				
Sim	104	88,14	10	83,33
Não	14	11,86	2	16,67
Desânimo				
Sim	109	92,38	10	83,33
Não	9	7,62	2	16,67
Labilidade emocional (choro fácil)				
Sim	87	73,73	7	58,33
Não	31	26,27	5	41,67
Tristeza sem motivo				
Sim	80	67,80	6	50
Não	38	32,20	6	50
Irritabilidade				
Sim	112	94,92	12	100
Não	6	5,08	0	0
Agressividade				
Sim	83	70,34	10	83,33
Não	35	29,66	2	16,67
Estresse				
Pouco	23	19,49	3	25
Moderado	47	39,83	6	50

Muito	38	32,20	2	16,7
Extremo	10	8,48	1	8,3
Qualidade alimentar e hidratação				
Ingestão de refrigerante				
Sim	63	53,39	5	41,67
Não	55	46,61	7	58,33
Ingestão de alimentos industrializados				
Sim	45	38,14	11	91,67
Não	73	61,86	1	8,33
Ingestão de água				
0 a 2 copos	67	56,78	6	50
3 a 5 copos	48	40,68	6	50
6 ou mais copos	3	2,54	0	0
Consumo de álcool				
Cerveja				
Sim	51	43,22	5	41,67
Não	67	56,78	7	58,33
Vinho				
Sim	45	38,14	8	66,67
Não	73	61,86	4	33,33
Destilados				
Sim	17	14,40	1	8,33
Não	101	85,60	11	91,67

Avaliando as características demográficas dos 118 pacientes que não apresentavam a *B.longum*, a média apresentada em relação a idade foi de 46,3 anos, peso médio em 76,99, altura média é de 1,61 e o IMC (média) em 27,97. Sob a perspectiva da qualidade do sono, 104 (88,14%) apresentam fadiga ao acordar e 66 (55,9%) pacientes apontaram apresentar apnéia do sono. As horas de sono em média dos 118 pacientes foram 5 horas por noite.

A Frequência de atividade física (vezes por semana) varia entre os 118 pacientes, na qual 52 pacientes (44,06%) efetuam de 0 a 1 vez semana, 45 (38,14%) realizam de 2 a 4 vezes na semana e 21 pacientes (17,80%) praticam de 5 a 7 vezes na semana. Por outro viés, com foco nas características emocionais, 109 dos 118 pacientes possuem ansiedade alcançando a porcentagem de 92,38% e somente 9 pacientes (7,62%) não demonstram essa característica. A mudança de humor é apontada em 104 pacientes (88,14%) e 14 (11,86%) negam essa situação. O desânimo é observado em 109 pacientes (92,38%) e não ressaltado por 9 pacientes (7,62%). A labilidade emocional (choro fácil) teve como avaliações afirmativas em 87 pacientes (73,73%) e 31 (26,27) não apontam essa característica. A tristeza sem motivo foi observada em 80 pacientes (67,80%) e 38 pacientes (32,20%) negaram apresentar tal quadro. A irritabilidade apresentou-se em 112 pacientes (94,92%) e somente 6 pacientes (5,08%) negaram essa situação. Entretanto, no quesito agressividade, 83 pacientes (70,34%) afirmam que apresentam esse comportamento e 35 (29,66%) negam. Por fim, avaliando o estresse, 23 pacientes (19,49%) apontaram ter pouco estresse, 47 pacientes (39,83%) indicam que o estresse é moderado, 38 (32,20%) demonstram muito estresse, 10 pacientes (8,48%) apontam estresse extremo (Tabela 1).

Em relação a qualidade alimentar dos 118 pacientes, 63 dos pacientes (53,39%) afirmam consumir refrigerante e 55 negam tal prática (46,61%). No quesito ingestão de alimentos industrializados, 45 pacientes (38,14%) afirmaram tal hábito e 73 negaram (61,86%). A ingesta hídrica de água dos 118 pacientes se dividiu em 67 dos pacientes (56,78%) consomem de 0 a 2 copos de água por dia, 48 ingerem de 3 a 5 copos (40,68%) e somente 3 pacientes (2,54%) consomem 6 ou mais copos por dia. Por outro lado, no quesito de consumo de álcool, o consumo de álcool é efetuado por 51 dos pacientes (43,22%) e 67 negam essa prática (57,78%). O vinho é consumido por 45 pacientes

(38,14%) e 73 (61,86%) não consomem esse tipo de bebida. E em relação aos destilados, 17 pacientes afirmam consumir (14,40%) e 101 negam essa prática (85,60%).

Por outro lado, em relação as características dos 12 pacientes com *B.longum*, a idade média e de 41,5 anos, peso médio em 62,35, altura média de 1,64 e o IMC médio alcançou 23,02. Em relação a qualidade dos 12 pacientes, observou-se que a média de horas de sono são de 4 horas. E dos 12 pacientes, 11 apresentam fadiga ao acordar e somente 1 paciente possui apnéia do sono. Com relação à atividade física, 50% não prática ou prática somente 1 vez na semana, 3 pacientes (25%) realizam atividade física de 2 a 4 vezes na semana e somente 3 pacientes (25%) realizam de 5 a 7 vezes na semana. Assim como, foi constatado que dentre os 12 pacientes com *B.longum*, todos apresentam as características emocionais de ansiedade, irritabilidade e estresse. As mudanças de humor, desânimo e agressividade aparecem em 10 dos pacientes. Porém, 7 pacientes (58,33%) afirmaram apresentar labilidade emocional e 5 (41,67%) negaram tal situação (Tabela 1).

No quesito qualidade alimentar dos 12 pacientes com *B. longum*, 5 pacientes (41,67%) afirmar consumir refrigerantes e 7 negam (58,33%). Em contrapartida aos pacientes com ausência de *B.longum*, dentre os 12 pacientes, 11 (91,67%) afirmam consumir alimentos industrializados e somente 1 negou (8,33%). A ingesta hídrica de água dos pacientes com *B.longum*, 6 consomem somente 0 a 2 copos de água por dia, 6 fazem a ingesta de 3 a 5 copos e 0 consomem 6 ou mais copos por dia. O consumo de álcool, especificamente, cerveja e efetuado por 5 dos 12 pacientes (41,67) e 7 não realizam o consumo (58,33%). O vinho é consumido por 8 pacientes (66,67%) e somente 4 (33,33%) negam o consumo dessa bebida. Por outro lado, 1 paciente (8,33%) consome bebidas destiladas e 11 (91,67%) negam a ingesta desse tipo de líquido.

Tabela 2. Função intestinal e microbiota dos pacientes

Característica	Pacientes N=118		Pacientes N=12	
	N	%	N	%
Frequência de Evacuação				
Diariamente	65	55,10	8	66,67
Dias alternados	53	44,90	4	33,33
Escala de Bristol				
Tipo 1 - Pequenas bolinhas duras, separadas e difíceis de sair	8	6,78	2	16,67
Tipo 2 - Pequenos grumos agrupados em forma de salsicha	17	14,41	-	0
Tipo 3 - Fezes alongadas com fissuras na superfície	12	10,17	2	16,67
Tipo 4 - Fezes alongadas lisas e macias	30	25,42	4	33,33
Tipo 5 - Pedacos macios, separados, bordas definidas e fáceis de sair	6	5,09	-	0
Tipo 6 - Massa pastosa e fofa com bordas irregulares	11	9,32	-	0
Tipo 7 - Fezes totalmente líquidas, sem nenhum pedaço sólido	34	28,81	4	33,33

Em relação a frequência de evacuação, dos 118 pacientes, 65 pacientes (55,10) realizam diariamente e 53 (44,90%) efetuam em dias alternados. No que se refere a escala

de Bristol, 30 pacientes (25,42%) possuem fezes do tipo 4 e 34 (28,81%) possuem o tipo 7. Por outro lado, 17 pacientes (14,41%) apontam que as fezes são do tipo 2 e 12 (10,17%) apresentam fezes do tipo 3. O tipo 6 é indicado em 11 pacientes (9,32%) e 8 (6,78%) possuem fezes do tipo 1. Por fim, somente 6 pacientes (5,09) apresentam fezes do tipo 5.

Dentre os pacientes com *B. longum*, observou-se que 4 dos 12 pacientes apresentam fezes totalmente líquidas, sem nenhum pedaço sólido (tipo 7) e cerca de 4 pacientes possuem fezes alongadas, lisas e macias (tipo 4). Ademais, 2 pacientes apontam que possuem fezes alongadas com fissuras na superfície (tipo 3) e 2 pacientes possuem fezes em pequenas bolinhas duras, separadas e difíceis de sair (tipo 1).

Dentre os 12 pacientes com *Bifidobacterium longum*, não se observou nenhuma frequência diferente do grupo que não a possui. Logo, os pacientes com *B.longum* que mais chamaram a atenção foram nomeados de “X”, “Y”, “W” e “Z”, o nomeado como “X” demonstrou somente as alterações emocionais de ansiedade, irritabilidade e estresse em contrapartida aos demais pacientes que apresentaram mais características emocionais alteradas. Assim como, o paciente “X” ressaltou a efetuação de fezes do tipo 4 (alongadas lisas e macias) e ausência de apneia do sono, realizando 8 horas de sono por dia e uma frequência de atividade física de 2 a 4 vezes por semana. Por outro lado, os pacientes “Y”, “W” e “Z” ressaltaram apresentar todas as alterações nas características emocionais, destacando-se o paciente “W” que possui fezes líquidas (tipo 7), fadiga ao acordar e apneia do sono e realiza de 0 a 1 vez por semana alguma atividade física.

DISCUSSÃO

Neste estudo, foi analisada a presença de *Bifidobacterium longum* na microbiota intestinal de 130 pacientes adultos e correlacionada a presença dessas bactérias com as características emocionais. Os resultados revelam que, dos 130 pacientes avaliados, apenas 12 apresentaram *B. longum*. Curiosamente, apesar da *B. longum* ser considerada um psicobiótico com potencial para influenciar positivamente a saúde mental ⁴² esses 12 pacientes ainda apresentaram problemas emocionais significativos.

Foi observado que a maioria dos pacientes, pensando nos 118 pacientes sem a presença de *B.longum*, demonstram fragilidades emocionais, com altos índices de ansiedade (92,38%), desânimo (92,38%), irritabilidade (94,92%) e estresse em diferentes

intensidades. Estes problemas são igualmente prevalentes entre os pacientes com *B. longum*, como por exemplo a ansiedade presente em 100% dos 12 pacientes, sugerindo que outros fatores podem estar influenciando a saúde emocional desses indivíduos.

A literatura sugere que psicobióticos, grupo de probióticos que influenciam os comportamentos advindos do sistema nervoso central (SNC) ⁴³, como as cepas de *B. longum*, são capazes de melhorar a saúde mental modulando o eixo microbiota-intestino-cérebro ⁴⁴. Assim como, estudos apontam que a ação dos psicobióticos ocorrem a partir do eixo intestino-cérebro-microbiota, especificamente através do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) por meio da síntese de neurotransmissores e neuro-hormônios ⁴⁵. No entanto, outros estudos indicam que a eficácia desses psicobióticos pode ser influenciada por diversos fatores, incluindo a dieta e o estilo de vida ⁴⁶.

Pacientes com fezes do tipo 4 (fezes alongadas lisas e macias) são frequentemente considerados como tendo uma função intestinal saudável. No entanto, 4 dos pacientes com *B. longum* apresentaram tipos de fezes líquidas (tipo 7), o que pode indicar um desequilíbrio na microbiota intestinal. Vandeputte *et al.* ⁴⁷ (2015) relataram que a consistência das fezes está diretamente ligada à diversidade microbiana do intestino, que por sua vez, influencia a saúde emocional. Além disso, Lemay *et al.* (2021) ⁴⁸ ao avaliar a consistência das fezes pela escala de Bristol, ressalta que as fezes podem ser comprometidas por alguns fatores, permitindo constipações ou diarreias. Os principais fatores ressaltados advêm dos hábitos de vida, sendo eles a ingestão de determinadas dietas alimentares, assim como pelo estresse. Porém a atividade física não apresentaria relação direta nas alterações do aspecto das fezes. Logo, o que foi possível observar dentre os pacientes estudados, foi que a dieta com alimentos industrializados, consumo de álcool, baixa hidratação, alta prevalência de estresse e ansiedade podem ter comprometido de forma negativa a consistência das fezes dos pacientes avaliados, dentre os que apresentavam ou não as cepas de *B. longum*.

O estresse por si só é apontado como um dos fatores envolvidos nas alterações gastrointestinais, devido a diversas alterações nos sistemas neurobiológicos ⁴⁸. Estudos indicam que *B. longum* melhoram consideravelmente as atitudes acerca do estresse, assim como ressaltado por Allen *et al.* (2016) ⁴². Entretanto, através dos dados coletados, nota-se que todos os pacientes com *B. longum* relataram manifestar estresse no dia a dia, mesmo apresentando tal microbiota considerada psicobiótica e conseqüentemente, demonstraram alterações na consistência fecal, como dificuldade em defecar e variação das fezes.

Por outro lado, o sono pode se um forte responsável pela presença do estresse nesses pacientes. Tal fato pode ser afirmado através de estudos que indicam que a alterações no equilíbrio do sono podem ser acompanhados de aumento no funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, devido a sua atividade basal ser influenciada pelo ciclo circadiano. E dessa forma, estimulando a liberação e circulação de hormônios do estresse, em especial o cortisol presente nos humanos. Assim, tais efeitos são observados principalmente em indivíduos com maiores alterações no sono, ou seja, pessoas que realizam somente no máximo 4 horas de sono por noite. Os indivíduos com restrições de sono de 5 horas durante um certo período de noites, como de 4 a 8 noites, podem não apresentar um comprometimento de modo exacerbado na liberação de cortisol, pois podem ser equilibrados pelo próprio organismo ⁴⁹.

Outro ponto importante a se destacar é a relação entre estresse, inflamação intestinal, consistência fecal e consequente perda de microbiomas intestinais de caráter benéfico. Pesquisas elucidaram que o eixo cérebro-intestino pode estar relacionado a distúrbios cerebrais e intestinais, como desordens gastrointestinais funcionais e Síndrome do Intestino Irritável (SII) ⁵⁰. A partir da conexão entre intestino e cérebro, o estresse pode modular a diversidade de microrganismos presentes no TGI do ser humano, apesar de não ser algo claramente elucidado, oscilando a porcentagem de bactérias benéficas ⁵¹, como as bifidobactérias.

O estresse induz alterações na atividade gastrointestinal por meio da estimulação da liberação de Fator de Liberação de Corticotropina (CRF) e Urocortinas (UCNs) (neuropeptídios) pelos estressores periféricos, possivelmente a partir de neurônios entéricos e das células imunológicas (monócitos). A partir disso, ocorrem algumas consequências como a indução da inflamação e o controle da motilidade intestinal⁵². Além disso, o estresse pode gerar alterações na mucosa intestinal, alterando a sua espessura e perturbando a integridade das camadas do muco, gerando uma motilidade intestinal irregular. Logo, indivíduos com a presença de alterações intestinais podem desenvolver constipação ou diarreia ^{53,54}. O quadro dos pacientes com *B.longum* que demonstraram fezes líquidas (33,33%) pode ser explicado por essa afirmação, pois todos os indivíduos avaliados ressaltaram estresse no dia a dia, em níveis variados.

Por outro lado, as *B.longum* foram apontadas como material eficaz na prevenção e tratamento da diarreia⁵⁵, entretanto, como já observado, 33,33% dos pacientes com *B.longum* demonstraram tipo 7 de fezes, caracterizado como líquidas, ou seja, somente a

presença dessas cepas no organismo não garante a prevenção contra o desenvolvimento de diarreia, havendo relação com os hábitos de vida apresentados, como o estresse e sono.

Percebeu-se que 11 dos 12 pacientes com *B. longum* relatam fadiga ao acordar, e a maioria possui uma baixa frequência de atividade física. Esses fatores são bem conhecidos por impactar negativamente a saúde mental, estudos revelam que pessoas que praticam menor quantidade de atividade física ou possuem comportamentos sedentários demonstram maior risco de desenvolver problemas de saúde mental ⁵⁶. Assim como, o sono prejudicado pode ser um fator contribuinte para alterações emocionais, impactando negativamente na saúde mental do indivíduo ⁵⁷, a privação do sono e a inatividade física podem exacerbar sintomas de ansiedade e depressão ^{58,59}.

A partir disso, outros estudos afirmam que a utilização das *B. longum* como probióticos geram resultados positivos na melhoria do sono, contribuindo tanto na qualidade quanto na duração do sono. Logo, as *B. longum* aplicadas como probióticos, apresentam impacto direto na modulação da saúde mental ⁶⁰. Entretanto, apesar dos pacientes apresentarem as cepas de *B. longum*, as alterações na duração e qualidade do sono ainda estão prejudicadas, podendo estar associada a baixa adesão de práticas de exercícios, estresse e demais alterações psicológicas, comprometendo a total eficiência das *B. longum* como psicobióticas.

É importante observar que os pacientes com frequência de sono maior que 7 horas, mesmo demonstrando uma faixa adequada de sono ainda apresentam fadiga ao acordar, em que grande maioria possui baixa frequência de atividade física durante a semana. A literatura aponta que a execução de atividade física de modo regular proporciona melhoras na qualidade do sono e nos sintomas de distúrbios do sono, sendo considerada um mecanismo de tratamento ⁶¹.

Nossos resultados estão alinhados com estudos prévios que destacam a complexidade da relação entre a microbiota intestinal e a saúde mental. No estudo de Allen *et al.* (2016)⁴² foi verificado que, embora certos psicobióticos possam reduzir os sintomas de ansiedade e depressão, os efeitos variam amplamente entre os indivíduos devido a diferenças na composição da microbiota, dieta e estilo de vida. Boehme *et al.* (2023)⁶² ressaltam que a suplementação com *B. longum* resultam em melhoras nos quadros de estresse leve a moderado e a evolução benéfica dessas condições se correlacionam com reduções da ansiedade, depressão e respostas ao cortisol (hormônio do estresse).

Dentre os relevantes apresentados pelos pacientes, ressalta-se a média de horas de sono, resultados em somente 4 horas. Com essa informação, há a possibilidade de que o comprometimento na saúde mental dos pacientes, mesmo com a presença das cepas psicobióticas de *B.longum*, esteja relacionada aos quadros de sono desregulado ou insônia. Marotta et al. (2019)⁶³, aponta que o uso de um conjunto de cepas probióticas, sendo uma delas, a *Bifidobacterium longum* BL04, gera impactos positivos na qualidade do sono, assim como ressalta que o uso dos probióticos realiza efeitos benéficos em relação ao sono nas pessoas que apresentam fadiga crônica. Consequentemente com o uso desse material e melhoria na qualidade do sono, os aspectos relacionados ao humor, como ansiedade e tristeza foram influenciados de forma positiva. Todavia, os distúrbios do sono, como insônia, podem gerar alterações na saúde mental, por meio da sobrecarga alostática que compromete a vias imunológicas relacionadas ao estresse e perturbam a neuroplasticidade mental⁶⁴. Logo, a simples suplementação com *B.longum* poderia ser comprometida por demais fatores do dia a dia, prejudicando a saúde mental do paciente.

A qualidade alimentar e hidratação também é um fator que pode estar predispondo os pacientes a alterações emocionais apesar da presença de *B.longum*. Por exemplo, de acordo com Inkelis, Hasler e Baker (2020)⁶⁵ os quadros de sono e vigília podem ser coordenados por neurotransmissores, substâncias essas que podem ser comprometidas pelo álcool. O álcool pode ser apontado como um material, entretanto, quando metabolizados, seus efeitos são diminuídos, podendo permitir sonos mais incontinentes e quando usados de modo frequente, pode comprometer o funcionamento do sono de forma permanente. Do mesmo modo que é capaz de interromper de forma direta o ciclo do sono, ocasionando então, diminuição na duração do sono⁶⁶. Dessa forma, um sono comprometido pode desestabilizar mentalmente um indivíduo, como apontado anteriormente e observado nos pacientes com *B.longum*.

Outro elemento relevante está no consumo de alimentos industrializados, em que cerca de 91,67% dos pacientes com *B.longum* realizam esse tipo de consumo alimentar. Visto isso, estudos confirmam que a alimentação possui efeitos no humor do indivíduo e no desenvolvimento de alterações na saúde mental⁶⁷. Apesar do consumo de alimentos industrializados serem efetuados por grande parte dos pacientes com *B.longum* (91,67%), a alimentação por si só não seria o principal causador das alterações da saúde mental e emocional, podendo estar associada ao sono desregulado, baixa frequência de prática de exercícios físicos.

Desse modo, segundo Wickham *et al.* (2020)⁶⁸ o principal fator que interfere na saúde mental é a qualidade do sono, no qual adultos necessitam de 7 a 8 horas de sono, associado a uma dieta equilibrada e a atividade física, classificados como secundários no quesito de modulação da saúde mental, apresentando grande relevância. Tais afirmações podem ser observadas no paciente nomeado como “X”, responsável pelos melhores resultados.

Observando os dados adquiridos, os hábitos saudáveis apresentados pelo paciente “X”, como 8 horas de sono por noite e prática de exercícios de 2 a 4 vezes por semana, associados a presença de *B.longum* podem ter contribuído efetivamente na melhoria das características emocionais como ansiedade, labilidade emocional, tristeza e entre outros. Assim como ressaltado por Morales-Torres *et al.* (2023)⁴⁶, em que os comportamentos saudáveis estão correlacionados com dados positivos acerca do bem-estar. Por outro lado, o paciente “W” apesar de apresentar as *B.longum*, indica fadiga e apneia do sono, efetuando somente duas horas de sono por noite. O paciente não realiza atividade física, relatando todas as alterações emocionais pontuadas na pesquisa.

Com base nos dados foi possível destacar que apesar da presença de cepas probióticas, sendo elas, as *Bifidobacterium longum*, os hábitos de vida comprometem de forma efetiva na saúde mental do indivíduo, como a qualidade do sono, hábitos alimentares e de hidratação, assim como a baixa adesão a prática de exercícios. Ou seja, apesar de manifestar as cepas de *B.longum*, os hábitos de vida comprometem a qualidade da saúde mental do ser humano, e assim, as cepas psicobióticas não conseguem lidar com a demanda do organismo. Quando se trata de análise de microbiota intestinal, com correlações com a saúde do indivíduo, nota-se que se faz necessária uma profunda análise do estilo de vida diário da pessoa. A microbiota intestinal é o reflexo dos cuidados do indivíduo com seus pilares da saúde, como a alimentação balanceada, atividade física regular, saúde mental e emocional, sono de qualidade, hidratação adequada, relações sociais saudáveis, cuidados preventivos e monitoramento de saúde.

CONCLUSÃO

Através desta análise, é evidente que a simples presença de *B. longum* na microbiota intestinal não é suficiente para garantir benefícios emocionais significativos. A qualidade do sono e a frequência de atividade física desempenham papéis cruciais na



qualidade da saúde mental do indivíduo. Somado a esses conhecimentos, apesar da ação psicobiótica das *B.logum*, a administração ou presença dessa cepa deve ser associadas a bons hábitos de vida para uma efetiva promoção de benefícios a saúde mental. Estudos futuros devem explorar essas relações em mais detalhes para desenvolver intervenções personalizadas e eficazes que integrem psicobióticos com outros fatores de estilo de vida. Isso pode incluir dietas balanceadas, prática de exercício físico e técnicas de gerenciamento do sono, a fim de maximizar os benefícios para a saúde mental.

REFERÊNCIAS

- [1] Al Bander Z, Nitert MD, Mousa A, Naderpoor N. The Gut Microbiota and Inflammation: An Overview. *IJERPH* 2020;17:7618. <https://doi.org/10.3390/ijerph17207618>.
- [2] Pant A, Maiti TK, Mahajan D, Das B. Human Gut Microbiota and Drug Metabolism. *Microb Ecol* 2023;86:97–111. <https://doi.org/10.1007/s00248-022-02081-x>.
- [3] Sharma M, Wasan A, Sharma RK. Recent developments in probiotics: An emphasis on *Bifidobacterium*. *Food Bioscience* 2021;41:100993. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100993>.
- [4] Song, Q., Wang, Y., Huang, L., Shen, M., Yu, Y., Yu, Q., Xie, J. (2021). Review of the relationships among polysaccharides, gut microbiota, and human health. *Food Research International*, 140, 109858. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109858>
- [5] Lee J-Y, Tsolis RM, Bäumlér AJ. The microbiome and gut homeostasis. *Science* 2022;377:eabp9960. <https://doi.org/10.1126/science.abp9960>.
- [6] Sakanaka M, Gotoh A, Yoshida K, Odamaki T, Koguchi H, Xiao J, et al. Varied Pathways of Infant Gut-Associated *Bifidobacterium* to Assimilate Human Milk Oligosaccharides: Prevalence of the Gene Set and Its Correlation with *Bifidobacteria*-Rich Microbiota Formation. *Nutrients* 2019;12:71. <https://doi.org/10.3390/nu12010071>.
- [7] Turróni F, Milani C, Duranti S, Lugli GA, Bernasconi S, Margolles A, et al. The infant gut microbiome as a microbial organ influencing host well-being. *Ital J Pediatr* 2020;46:16. <https://doi.org/10.1186/s13052-020-0781-0>.
- [8] Derrien M, Turróni F, Ventura M, Van Sinderen D. Insights into endogenous *Bifidobacterium* species in the human gut microbiota during adulthood. *Trends in*



- Microbiology 2022;30:940–7. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2022.04.004>.
- [9] Mills S, Yang B, Smith GJ, Stanton C, Ross RP. Efficacy of *Bifidobacterium longum* alone or in multi-strain probiotic formulations during early life and beyond. Gut Microbes 2023;15:2186098. <https://doi.org/10.1080/19490976.2023.2186098>.
- [10] Kujawska M, La Rosa SL, Roger LC, Pope PB, Hoyles L, McCartney AL, et al. Succession of *Bifidobacterium longum* Strains in Response to a Changing Early Life Nutritional Environment Reveals Dietary Substrate Adaptations. iScience 2020;23:101368. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101368>
- [11] Yao S, Zhao Z, Wang W, Liu X. *Bifidobacterium Longum*: Protection against Inflammatory Bowel Disease. Journal of Immunology Research 2021;2021:1–11. <https://doi.org/10.1155/2021/8030297>.
- [12] Aragón-Vela J, Solís-Urra P, Ruiz-Ojeda FJ, Álvarez-Mercado AI, Olivares-Arancibia J, Plaza-Díaz J. Impact of Exercise on Gut Microbiota in Obesity. Nutrients 2021;13:3999. <https://doi.org/10.3390/nu13113999>.
- [13] Rodríguez-Castaño GP, Caro-Quintero A, Reyes A, Lizcano F. Advances in Gut Microbiome Research, Opening New Strategies to Cope with a Western Lifestyle. Front Genet 2017;7. <https://doi.org/10.3389/fgene.2016.00224>.
- [14] Inoue T, Kobayashi Y, Mori N, Sakagawa M, Xiao J-Z, Moritani T, et al. Effect of combined bifidobacteria supplementation and resistance training on cognitive function, body composition and bowel habits of healthy elderly subjects. BM 2018;9:843–54. <https://doi.org/10.3920/BM2017.0193>.
- [15] Ramos C, Gibson GR, Walton GE, Magistro D, Kinnear W, Hunter K. Systematic Review of the Effects of Exercise and Physical Activity on the Gut Microbiome of Older Adults. Nutrients 2022;14:674. <https://doi.org/10.3390/nu14030674>.
- [16] Mailing LJ, Allen JM, Buford TW, Fields CJ, Woods JA. Exercise and the Gut Microbiome: A Review of the Evidence, Potential Mechanisms, and Implications for Human Health. Exercise and Sport Sciences Reviews 2019;47:75–85. <https://doi.org/10.1249/JES.000000000000183>.
- [17] Matenchuk BA, Mandhane PJ, Kozyrskyj AL. Sleep, circadian rhythm, and gut microbiota. Sleep Medicine Reviews 2020;53:101340. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2020.101340>.
- [18] Wang Z, Wang Z, Lu T, Chen W, Yan W, Yuan K, et al. The microbiota-gut-brain



- axis in sleep disorders. *Sleep Medicine Reviews* 2022;65:101691. <https://doi.org/10.1016/j.smr.2022.101691>.
- [19] Xiong R-G, Li J, Cheng J, Zhou D-D, Wu S-X, Huang S-Y, et al. The Role of Gut Microbiota in Anxiety, Depression, and Other Mental Disorders as Well as the Protective Effects of Dietary Components. *Nutrients* 2023;15:3258. <https://doi.org/10.3390/nu15143258>.
- [20] Naufel MF, Truzzi GDM, Ferreira CM, Coelho FMS. The brain-gut-microbiota axis in the treatment of neurologic and psychiatric disorders. *Arq Neuropsiquiatr* 2023;81:670–84. <https://doi.org/10.1055/s-0043-1767818>.
- [21] DUPONT HL, JIANG Z-D, DUPONT AW, UTAY NS. THE INTESTINAL MICROBIOME IN HUMAN HEALTH AND DISEASE. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 2020;131:178–97. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7358474/>
- [22] Pedroza Matute S, Iyavoo S. Exploring the gut microbiota: lifestyle choices, disease associations, and personal genomics. *Front Nutr* 2023;10:1225120. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1225120>.
- [23] World Health Organization. A healthy lifestyle – WHO recommendations. World Health Organization; 2021. <https://www.who.int/europe/news-room/fact-sheets/item/a-healthy-lifestyle---who-recommendations>
- [24] Martinez AP, Azevedo GRD. The Bristol Stool Form Scale: its translation to Portuguese, cultural adaptation and validation. *Rev Latino-Am Enfermagem* 2012;20:583–9. <https://doi.org/10.1590/S0104-11692012000300021>.
- [25] Mendes FD, Campos GCD, Lourenço RA, Garcia VM, Mill JG, Molina MDCB. Physical activity, protein consumption, and loss of muscle mass in older adult participants of the ELSA-Brazil study. *Geriatr Gerontol Aging* 2024;18:e0000118. https://doi.org/10.53886/gga.e0000118_EN.
- [26] dos Santos ERP, Coelho JCF, Ribeiro I, Sampaio F. Translation, cultural adaptation and evaluation of the psychometric properties of the Hamilton Anxiety Scale among a sample of Portuguese adult patients with mental health disorders. *BMC Psychiatry* 2023;23:520. <https://doi.org/10.1186/s12888-023-05010-5>.
- [27] Mollayeva T, Thurairajah P, Burton K, Mollayeva S, Shapiro CM, Colantonio A. The Pittsburgh sleep quality index as a screening tool for sleep dysfunction in clinical and non-clinical samples: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Medicine Reviews*

2016;25:52–73. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2015.01.009>

[28] Matsudo S, Araújo T, Matsudo V, Andrade D, Andrade E, Oliveira LC, et al. QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA (IPAQ): ESTUDO DE VALIDADE E REPRODUTIBILIDADE NO BRASIL. *Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde* 2001;6:5–18. <https://doi.org/10.12820/rbafs.v.6n2p5-18>.

[29] FOR, S. O. P.; SAMPLES, F.; EXTRACTION, D. N. A. SOP FOR FECAL SAMPLES IHMS SOP 07 V1 : STANDARD OPERATING PROTOCOL FOR FECAL SAMPLES, 2015. <https://human-microbiome.org/index.php?id=Sop&num=007>

[30] Bag S, Saha B, Mehta O, Anbumani D, Kumar N, Dayal M, et al. An Improved Method for High Quality Metagenomics DNA Extraction from Human and Environmental Samples. *Sci Rep* 2016;6:26775. <https://doi.org/10.1038/srep26775>.

[31] Sambrook, Joseph & Maniatis, T. & F. *Molecular cloning : a laboratory manual*, 2nd ed., E. F & Cold Spring Harbor Laboratory, v. 2 ed, 1987.

[32] PCR Setup—Six Critical Components to Consider - US n.d. <https://www.thermofisher.com/br/en/home/life-science/cloning/cloning-learning-center/invitrogen-school-of-molecular-biology/pcr-education/pcr-reagents-enzymes/pcr-component-considerations.html>

[33] BUSTIN, S. A. et al. The MIQE guidelines: Minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical Chemistry*, v. 55, n. 4, p. 611–622, 2009.

[34] FUJIYOSHI, S.; MUTO-FUJITA, A.; MARUYAMA, F. Evaluation of PCR conditions for characterizing bacterial communities with full-length 16S rRNA genes using a portable nanopore sequencer. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 1–10, 2020.

[35] KLINDWORTH, A. et al. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*, v. 41, n. 1, p. e1–e1, 1 jan. 2013.

[36] ILLUMINA. 16S Metagenomic Sequencing Library. *Illumina.com*, n. B, p. 1–28, 2013. ILLUMINA. NovaSeq 6000 Sequencing System. 770-2016-025-H, v. 4, n. February, p. 1–4, 2016.

[37] Schmieder, R.; Edwards, R. Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. *Bioinformatics*, v. 27, n. 6, p. 863–864, 15 mar. 2011. <http://prinseq.sourceforge.net/>



- [38] EWING, B.; GREEN, P. Base-Calling of Automated Sequencer Traces Using Phred. II. Error Probabilities. *Genome Research*, v. 8, n. 3, p. 186–194, 1 mar. 1998.
- [39] BOLYEN, E. et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology*, v. 37, n. 8, p. 852–857, 24 ago. 2019.
- [40] Quast, C. et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, v. 41, n. D1, p. D590–D596, 27 nov. 2012.
- [41] SCHLOSS, P. D.; WESTCOTT, S. L. Assessing and Improving Methods Used in Operational Taxonomic Unit-Based Approaches for 16S rRNA Gene Sequence Analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 77, n. 10, p. 3219–3226, 15 maio 2011.
- [42] Allen AP, Hutch W, Borre YE, Kennedy PJ, Temko A, Boylan G, et al. *Bifidobacterium longum* 1714 as a translational psychobiotic: modulation of stress, electrophysiology and neurocognition in healthy volunteers. *Transl Psychiatry* 2016;6:e939–e939. <https://doi.org/10.1038/tp.2016.191>.
- [43] Cheng L-H, Liu Y-W, Wu C-C, Wang S, Tsai Y-C. Psychobiotics in mental health, neurodegenerative and neurodevelopmental disorders. *Journal of Food and Drug Analysis* 2019;27:632–48. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2019.01.002>.
- [44] Cocean A-M, Vodnar DC. Exploring the gut-brain Axis: Potential therapeutic impact of Psychobiotics on mental health. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2024;134:111073. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2024.111073>.
- [45] Del Toro-Barbosa M, Hurtado-Romero A, Garcia-Amezquita LE, García-Cayuela T. Psychobiotics: Mechanisms of Action, Evaluation Methods and Effectiveness in Applications with Food Products. *Nutrients* 2020;12:3896. <https://doi.org/10.3390/nu12123896>.
- [46] Morales-Torres R, Carrasco-Gubernatis C, Grasso-Cladera A, Cosmelli D, Parada FJ, Palacios-García I. Psychobiotic Effects on Anxiety Are Modulated by Lifestyle Behaviors: A Randomized Placebo-Controlled Trial on Healthy Adults. *Nutrients* 2023;15:1706. <https://doi.org/10.3390/nu15071706>.
- [47] Vandeputte D, Falony G, Vieira-Silva S, Tito RY, Joossens M, Raes J. Stool consistency is strongly associated with gut microbiota richness and composition, enterotypes and bacterial growth rates. *Gut* 2016;65:57–62. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-309618>.



- [48] Lemay DG, Baldiviez LM, Chin EL, Spearman SS, Cervantes E, Woodhouse LR, et al. Technician-Scored Stool Consistency Spans the Full Range of the Bristol Scale in a Healthy US Population and Differs by Diet and Chronic Stress Load. *The Journal of Nutrition* 2021;151:1443–52. <https://doi.org/10.1093/jn/nxab019>.
- [49] Nollet M, Wisden W, Franks NP. Sleep deprivation and stress: a reciprocal relationship. *Interface Focus* 2020;10:20190092. <https://doi.org/10.1098/rsfs.2019.0092>.
- [50] Mayer, E. A., Tillisch, K., & Gupta, A. (2015). Gut/brain axis and the microbiota. *The Journal of Clinical Investigation*, 125(3), 926–938. <https://doi.org/10.1172/JCI76304>
- [51] Ma, L., Yan, Y., Webb, R. J., Li, Y., Mehrabani, S., Xin, B., Sun, X., Wang, Y., & Mazidi, M. (2023). Psychological stress and gut microbiota composition: A systematic review of human studies. *Neuropsychobiology*, 82(5), 247–262. <https://doi.org/10.1159/000533131>
- [52] Bunnett, N. W. (2005). The stressed gut: Contributions of intestinal stress peptides to inflammation and motility. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(21), 7409–7410. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503092102>
- [53] Allen, J. M., Mackos, A. R., Jagers, R. M., Brewster, P. C., Webb, M., Lin, C.-H., Ladaika, C., Davies, R., White, P., Loman, B. R., & Bailey, M. T. (2022). Psychological stress disrupts intestinal epithelial cell function and mucosal integrity through microbe and host-directed processes. *Gut Microbes*, 14(1), 2035661. <https://doi.org/10.1080/19490976.2022.2035661>
- [54] Zheng, Y., Xu, L., Zhang, S., Liu, Y., Ni, J., & Xiao, G. (2023). Effect of a probiotic formula on gastrointestinal health, immune responses and metabolic health in adults with functional constipation or functional diarrhea. *Frontiers in Nutrition*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1196625>
- [55] Altaib, H., Badr, Y., & Suzuki, T. (2021). Bifidobacteria and psychobiotic therapy: Current evidence and future prospects. *Reviews in Agricultural Science*, 9, 74–91. https://doi.org/10.7831/ras.9.0_74
- [56] Smith, P. J., & Merwin, R. M. (2021). The role of exercise in management of mental health disorders: An integrative review. *Annual Review of Medicine*, 72(1), 45–62. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-060619-022943>
- [57] Freeman, D., Sheaves, B., Waite, F., Harvey, A. G., & Harrison, P. J. (2020). Sleep



disturbance and psychiatric disorders. *The Lancet Psychiatry*, 7(7), 628–637.

[https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(20\)30136-X](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(20)30136-X)

[58] Cao, D., Zhao, Y., Wang, Y., Wei, D., Yan, M., Su, S., ... Wang, Q. (2024). Effects of sleep deprivation on anxiety-depressive-like behavior and neuroinflammation. *Brain Research*, 1836, 148916. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2024.148916>

[59] Palmer, C. A., & Alfano, C. A. (2020). Anxiety modifies the emotional effects of sleep loss. *Current Opinion in Psychology*, 34, 100–104. <https://doi.org/10.1016/j.copsyc.2019.12.001>

[60] Moloney GM, Long-Smith CM, Murphy A, Dorland D, Hojabri SF, Ramirez LO, et al. Improvements in sleep indices during exam stress due to consumption of a *Bifidobacterium longum*. *Brain, Behavior, & Immunity - Health* 2021;10:100174. <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2020.100174>.

[61] Alnawwar MA, Alraddadi MI, Algethmi RA, Salem GA, Salem MA, Alharbi AA. The Effect of Physical Activity on Sleep Quality and Sleep Disorder: A Systematic Review. *Cureus* 2023. <https://doi.org/10.7759/cureus.43595>.

[62] Boehme, M., Rémond-Derbez, N., Lerond, C., Lavalle, L., Keddani, S., Steinmann, M., Hudry, J. (2023). *Bifidobacterium longum* subsp. *Longum* reduces perceived psychological stress in healthy adults: An exploratory clinical trial. *Nutrients*, 15(14), 3122. <https://doi.org/10.3390/nu15143122>

[63] Marotta A, Sarno E, Del Casale A, Pane M, Mogna L, Amoruso A, et al. Effects of Probiotics on Cognitive Reactivity, Mood, and Sleep Quality. *Front Psychiatry* 2019;10:164. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00164>.

[64] Palagini L, Hertenstein E, Riemann D, Nissen C. Sleep, insomnia and mental health. *Journal of Sleep Research* 2022;31:e13628. <https://doi.org/10.1111/jsr.13628>.

[65] nkelis SM. Sleep and Alcohol Use in Women. *ARCR* 2020;40:arcr.v40.2.13. <https://doi.org/10.35946/arcr.v40.2.13>.

[66] Zheng, D., Yuan, X., Ma, C., Liu, Y., VanEvery, H., Sun, Y., Wu, S., & Gao, X. (2021). Alcohol consumption and sleep quality: A community-based study. *Public Health Nutrition*, 24(15), 4851–4858. <https://doi.org/10.1017/S1368980020004553>

[67] Bremner, J., Moazzami, K., Wittbrodt, M., Nye, J., Lima, B., Gillespie, C., Rapaport, M., Pearce, B., Shah, A., & Vaccarino, V. (2020). Diet, stress and mental health. *Nutrients*, 12(8), 2428. <https://doi.org/10.3390/nu12082428>



[68] Wickham, S.-R., Amarasekara, N. A., Bartonicek, A., & Conner, T. S. (2020). The big three health behaviors and mental health and well-being among young adults: A cross-sectional investigation of sleep, exercise, and diet. *Frontiers in Psychology, 11*. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.579205>