



Relação entre o estado de saúde física e mental com o microbioma oral e da pele em jovens no Ensino Superior

Gabriel Galete Costa



ESCOLA
SUPERIOR
DE SAÚDE

Relação entre o estado de saúde física e mental com o microbioma oral e da pele em jovens no Ensino Superior

Autor

Gabriel Galete Costa

Orientador(es)

Doutora/Mónica Vieira/ Professora Coordenadora da Escola Superior de Saúde do Porto

Doutora/Cassilda Pereira/ Professora Ajdunta da Escola Superior de Saúde do Porto

Doutor/João Miguel Rodrigues/ Professor Coordenador da Escola Superior de Saúde do Porto

*Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à
obtenção do grau de Mestre em Bioquímica em Saúde – Ramo/Área de
Especialização em Bioquímica Aplicada pela Escola Superior de Saúde do
Instituto Politécnico do Porto.*



Agradecimentos

A realização deste projeto só foi possível graças ao apoio incondicional das mulheres mais importantes da minha vida. À minha avó, exemplo de força e dedicação, que trabalhou incansavelmente para cuidar de mim e nunca mediu esforços para me proporcionar as melhores oportunidades e valores. À minha namorada, que esteve ao meu lado em todos os momentos, acreditando em mim quando mais ninguém acreditava, e a quem devo minha eterna gratidão pelo amor, pela paciência e pelo incentivo diário. À minha mãe, que, assim como a minha avó, enfrentou sozinha inúmeros desafios para me criar, sendo sempre o meu alicerce, a minha inspiração e o meu porto seguro. Sem o carinho, o sacrifício e a presença dessas mulheres extraordinárias, nenhum passo desta caminhada teria sido possível. A elas, dedico este trabalho e todo o meu profundo reconhecimento.

Estendo os meus sinceros agradecimentos à Escola Superior de Saúde do Politécnico do Porto e ao Centro de Investigação em Saúde Translacional e Biotecnologia Médica (TBIO), pela infraestrutura de excelência e por disponibilizar todos os meios à concretização deste trabalho, tendo sido para mim uma verdadeira honra integrar a equipa do TBIO para desenvolver este projeto. Agradeço igualmente a toda a equipa de coordenação pelo suporte constante, mas dirijo um agradecimento muito especial à minha orientadora, Professora Doutora Mónica Vieira, por quem nutro profunda admiração e tive a imensa honra de ser orientado. Recordo com gratidão o nosso primeiro contacto na sessão de apresentação do curso, momento em que eu, a dois anos atrás, tinha recém-chegado ao país e encontrei nas suas palavras e postura calma, um porto seguro. Obrigado pelas oportunidades que me concedeu e, acima de tudo, pela sua admirável capacidade de enfrentar qualquer obstáculo, sempre de forma calma e com um sorriso no rosto, transformando problemas complexos em desafios superáveis.



Resumo

O microbioma humano é cada vez mais reconhecido como um regulador central da saúde sistêmica e mental, interagindo com dieta, atividade física e stress por vias metabólicas, imunitárias e neurocomportamentais. Estudantes universitários constituem um grupo particularmente vulnerável, frequentemente exposto a stress crónico, rotinas irregulares e hábitos de vida subótimos, o que pode impactar simultaneamente a composição corporal, a saúde mental e os microbiomas oral e cutâneo. Este projeto teve como objetivo caracterizar o perfil de saúde física e mental de estudantes universitários e explorar a sua relação com padrões microbiológicos orais e cutâneos, em vez de se centrar exclusivamente na descrição do microbioma. No total, 55 estudantes preencheram questionários validados para depressão (PHQ-9), ansiedade (GAD-7), atividade física (IPAQ) e adesão à dieta mediterrânea (MEDAS-7), realizaram avaliação de composição corporal por bioimpedância e forneceram amostras orais e cutâneas por zaragatoa para análise microbiológica dependente de cultura. A amostra apresentou, em média, índice de massa corporal na faixa superior da normalidade e uma carga substancial de sintomas depressivos e ansiosos, enquanto a maioria relatou níveis moderados a elevados de atividade física e adesão baixa a moderada à dieta mediterrânea. Estatisticamente, as associações mais consistentes foram observadas entre massa muscular esquelética, ansiedade e atividade física: maior massa muscular correlacionou-se com menores pontuações de ansiedade ($r = -0,368$; $p = 0,027$) e com níveis mais elevados de atividade física ($r = 0,398$; $p = 0,016$), sustentando o papel da aptidão muscular como correlato relevante de saúde mental em adultos jovens. Em contraste, a adesão à dieta mediterrânea não apresentou correlações significativas com saúde mental ou indicadores antropométricos nesta amostra. Do ponto de vista microbiológico, as amostras orais exibiram cargas bacterianas marcadamente superiores às cutâneas, enquanto os locais de pele apresentaram maior heterogeneidade de morfotipos de colónias; leveduras e fungos filamentosos foram detetados em ambos os nichos. Apenas possíveis géneros bacterianos e fúngicos foram sugeridos com base em morfologia e coloração, a serem confirmados em futuros estudos com sequenciação utilizando o mesmo material biobancado. De forma global, os achados evidenciam pontos de melhoria relacionados a saúde dos estudantes universitários e fornecem evidência preliminar para investigações futuras mais aprofundadas sobre a relação complexa entre o microbioma e o corpo humano.

Palavras-chave: Microbioma da pele; Microbioma oral; Dieta mediterrânea; Inflamação sistêmica; Saúde física; Saúde mental



Abstract

The human microbiome is increasingly recognized as a key regulator of systemic and mental health, interacting with diet, physical activity and stress through metabolic, immune and neurobehavioral pathways. University students represent a particularly vulnerable group, frequently exposed to chronic stress, irregular routines and suboptimal lifestyle habits, which may simultaneously impact body composition, mental health and the oral and skin microbiomes. This exploratory cross-sectional study aimed to characterize the physical and mental health profile of university students and to explore its relationship with oral and cutaneous microbiological patterns, rather than focusing exclusively on microbiome description. A total of 55 students completed validated questionnaires for depression (PHQ-9), anxiety (GAD-7), physical activity (IPAQ) and adherence to the Mediterranean diet (MEDAS-7), underwent body composition assessment by bioimpedance and provided oral and skin swab samples for culture-based microbiological analysis. The sample showed, on average, a body mass index within the upper normal range and a substantial burden of depressive and anxiety symptoms, while most participants reported moderate to high physical activity and low to moderate adherence to the Mediterranean diet. Statistically, the most consistent associations were observed between skeletal muscle mass, anxiety and physical activity: higher muscle mass correlated with lower anxiety scores ($r = -0.368$; $p = 0.027$) and with higher physical activity levels ($r = 0.398$; $p = 0.016$), supporting the role of muscular fitness as a relevant correlate of mental health in young adults. In contrast, Mediterranean diet adherence did not show significant correlations with mental health or anthropometric indicators in this sample. Microbiologically, oral samples presented markedly higher bacterial loads than skin samples, while cutaneous sites exhibited greater heterogeneity of colony morphotypes; yeasts and filamentous fungi were detected in both niches. Only possible bacterial and fungal genera were suggested based on morphology and staining, to be confirmed in future sequencing-based studies using the same biobanked material. Overall, the findings highlight modifiable aspects of the health profile of university students, particularly the combination of relevant mental health symptoms with suboptimal dietary patterns, and provide preliminary evidence and stored samples to support future, more in-depth investigations into the complex relationships between microbiome composition, lifestyle and mental health.

Keywords: Skin microbiome; Oral microbiome; Mediterranean diet; Systemic inflammation; Physical health; Mental health



Índice

| | | |
|---------------|---|----|
| 1. | Introdução..... | 1 |
| 2. | Métodos..... | 6 |
| 2.1. | Aprovação Ética e Recrutamento..... | 8 |
| 2.2. | Amostragem..... | 9 |
| 2.3. | Questionários..... | 10 |
| 2.4. | Meios de Cultura..... | 11 |
| 2.5. | Microbioma Oral..... | 13 |
| 2.6. | Microbioma Cutâneo..... | 13 |
| 2.7. | Análise Microbiológica | 14 |
| 2.8. | Análise Estatística..... | 15 |
| 3. | Resultados..... | 16 |
| 3.1. | Perfil Sociodemográfico..... | 16 |
| 3.2. | Perfil Antropométrico da Amostra..... | 19 |
| 3.3. | Resultado dos Questionários | 20 |
| 3.4. | Resultado Estatísticos | 23 |
| 3.5. | Resultado da Microbiologia..... | 25 |
| 3.5.1. | Contagem de UFC de Bactérias..... | 35 |
| 3.5.2. | Presença de Leveduras..... | 36 |
| 4. | Discussão..... | 36 |
| 4.1. | Perfil Sociodemográfico e Antropométrico..... | 37 |
| 4.2. | Questionários, correlações e associações..... | 38 |
| 4.3. | Microbioma Oral e da Pele..... | 42 |
| 4.4. | Limitações..... | 43 |
| 5. | Conclusão..... | 45 |
| | Referências Bibliográficas..... | 46 |



1. Introdução

O microbioma humano emerge na atualidade como um campo de investigação científica de extraordinária relevância, sendo reconhecido como o "último órgão humano sob investigação activa" (Baquero & Nombela, 2012). Esta designação, fundamenta-se na compreensão de que o microbioma constitui uma entidade funcional complexa que, à semelhança de outros órgãos, apresenta fisiologia e patologia específicas, sendo prontamente herdado num processo que envolve dinâmicas complexas de construção nos recém-nascidos (Baquero & Nombela, 2012).

Esta perspetiva revolucionária veio de um dos milhares de estudos que surgiram nas últimas duas décadas e que contribuem cada vez mais para a inserção do tema no epicentro da investigação contemporânea. Considerando dados do *PubMed*, é possível confirmar de forma clara esta tendência, com cerca de trezentos mil estudos relacionados existentes atualmente, com foco nos últimos 5 anos, que representam dois terços de todas as publicações científicas sobre o tema, demonstrando o carácter emergente desta área de investigação. Com todo este foco académico veio também o crescimento financeiro, principalmente no que tange ao financiamento. O *Human Microbiome Project* (HMP), iniciado em 2007 como parte do *NIH Roadmap for Medical Research*, representou um marco histórico na investigação desta área, recebendo um investimento total de 215 milhões de dólares durante dez anos, de 2007 a 2016 (Proctor et al., 2019), somado a isto, o financiamento não-HMP para investigação em microbioma, cresceu juntamente ao programa, totalizando US\$ 728 milhões de dólares entre 2012-2016 (Proctor et al., 2019).

Isto em termos de financiamento, já considerando o sector como um todo, o microbioma humano representa actualmente um dos mercados biotecnológicos com maior potencial de crescimento. Análises de mercado recentes projectam uma evolução do mercado global de microbioma humano de 959,4 milhões de dólares em 2025 para 4.473,3 milhões de dólares em 2032 (Human Microbiome Market Size & Growth Forecast to 2031, 2023). Outras estimativas apontam para valores ainda mais expressivos, conforme ilustrado pela Figura 1, com projeções de crescimento de 0,91 mil milhões de dólares em 2024 para 7,09 mil milhões de dólares em 2031 (Human Microbiome Market Size & Growth Forecast to 2031, 2023).



Figura 1- Estimativa de Mercado Global Relacionado ao Microbioma. Alterado de MarketsandMarkets (2025)

É importante entender que o microbioma humano é representado pelo conjunto de todos os microrganismos que residem nos tecidos e fluidos humanos, juntamente com o material genético que possuem. Esta comunidade compreende bactérias, arqueias, fungos, protozoários e vírus que habitam diferentes locais anatômicos, como o trato gastrointestinal, a cavidade oral, a pele, o trato respiratório e outros diversos locais do corpo (Berg et al., 2020). O microbioma é uma espécie de microecossistema dinâmico integrado ao macroecossistema do hospedeiro, englobando microrganismos, seus genes e o contexto físico-químico do habitat que interagem. Diferentemente da distinção de microbiota que se reduz somente aos microrganismos como um todo, o microbioma inclui a microbiota somada ao “teatro de atividade” (estruturas, metabólitos, elementos genéticos móveis, vírus/fagos e DNA relicto) sob condições ambientais específicas, como elucidado pela Figura 2 (Berg et al., 2020).

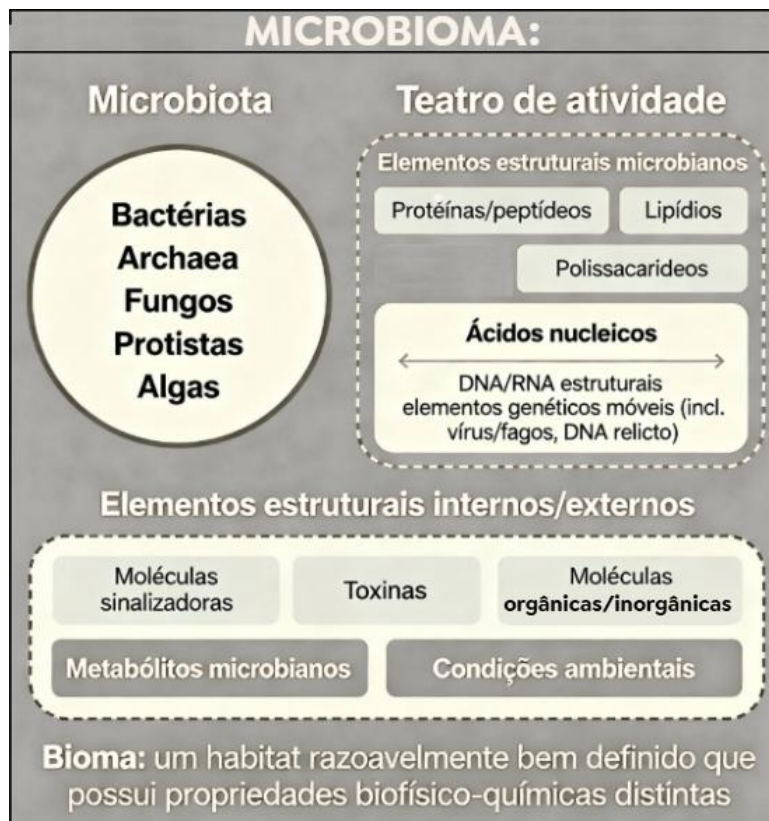


Figura 2- Definição do Microbioma. Fonte: Alterado de Berg et al., 2020

O microbioma desempenha um papel fundamental na manutenção da saúde sistêmica, atuando como mediador entre fatores ambientais, nutricionais e processos fisiológicos (Chandra Nayak et al., 2025; Prescott et al., 2017). Estudos recentes destacam que a disbiose, caracterizada pelo desequilíbrio entre as populações de microrganismos benéficos e patológicas, está comprovadamente associada a doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade e transtornos neuropsiquiátricos, mediada por mecanismos inflamatórios diretos e indiretos por induzir alterações no eixo intestino-cérebro (Gualtero et al., 2023; Shoer et al., 2023). Especificamente, patógenos relacionados ao microbiano oral (MO), possuem comprovada ação de induzirem a endotoxemia e ativar vias pró-inflamatórias em células endoteliais, promovendo aterosclerose, disfunção vascular, inflamação sistêmica e resistência a insulina (Gualtero et al., 2023; Shoer et al., 2023).

Além disso, a disseminação de bactérias orais para tecidos distantes por via sanguínea, como o cérebro, está ligada a processos neurodegenerativos e transtornos de humor via liberação de citocinas e estresse oxidativo (Augimeri et al., 2024; Manos, 2022). De forma igualmente relevante, o microbioma da pele (MP) atua na maturação e regulação homeostática de queratinócitos e das profundas redes imunológicas e hormonais do organismo, com implicações sistêmicas diretas e indiretas. Por ser o principal órgão de contato do meio externo com o interno, a biodiversidade da pele é profundamente influenciada pela



biodiversidade dos ecossistemas que temos contato. Estudos relatam que alterações do MP em camada mais externa da epiderme foram observados em doenças alérgicas, psoríase, rosácea, acne vulgar e no processo de envelhecimento da pele (Prescott et al., 2017).

Tanto MO e MP, quanto os outros microbiomas presentes no corpo humano, possuem suas funcionalidades e composições profundamente influenciadas por fatores ambientais, genéticos e comportamentais, sendo a dieta, um dos principais moduladores dessas comunidades microbianas (Jimenez-Sanchez et al., 2025). Estudos demonstram que nutrientes específicos alteram parâmetros físico-químicos criando microambientes que selecionam determinados grupos microbianos em detrimento de outros. Pesquisas identificaram variações de até 60% na composição da microbiota intestinal associadas a padrões alimentares distintos, evidenciando o papel central da nutrição na manutenção do equilíbrio microbiano e na prevenção de doenças associadas à disbiose (Basilicata et al., 2023; Schamarek et al., 2023). O perfil alimentar, como visto em dietas como a mediterrânea, estão sendo associadas a menor incidência de diversas doenças inflamatórias crônicas, considerando dentro dessas patologias orais e da pele (Augimeri et al., 2024; Jimenez-Sanchez et al., 2025).

Portanto, a dieta mediterrânea (DM) emerge como um modulador-chave, principalmente do MO, com relação direta ao microbioma documentada, pela supressão de patógenos periodontais como na promoção de bactérias comensais e promoção da diversidade bacteriana. De forma indireta, a adesão a DM comprovadamente se relaciona a melhoria de desfechos clínicos em grande parte da população, como melhor controle glicêmico, redução da massa gorda, melhor evacuação, diminuição do inchaço, inflamação e risco de hospitalização (Khavandegar et al., 2024). Além disso, diversos micronutrientes encontradas nos alimentos da dieta mediterrânea atuam com função antioxidantes, anti-inflamatórias, antibacterianas, pró ou antiapoptóticas e vasodilatadoras, mediando ações antitumorais, cardioprotetoras e neuroprotetoras (Augimeri et al., 2024). No entanto, lacunas persistem na compreensão de como a DM influencia simultaneamente os microbiomas oral e cutâneo em populações jovens, particularmente em ambientes acadêmicos, onde fatores como estresse crônico e hábitos alimentares irregulares exacerbam desequilíbrios microbianos.

Paralelamente à modulação dietética, a atividade física constitui outro determinante ambiental crucial na regulação do microbioma e na saúde mental, estabelecendo relações bidirecionais complexas através do eixo microbioma-intestino-cérebro. Evidências robustas demonstram que o exercício físico regular promove alterações significativas na composição e diversidade microbiana, com efeitos particularmente pronunciados no microbioma intestinal, mas também documentados no MO (Wegierska et al., 2022).



O efeito na microbiota pode ser avaliado pela mensuração da diversidade ou das funções, assim sendo, a diversidade alfa representa a diversidade geral das amostras, enquanto a diversidade beta compara a distribuição de diferentes espécies bacterianas entre as diferentes amostras (Jost, 2007). Estudos recentes identificaram que indivíduos fisicamente ativos apresentam maior diversidade microbiana alfa e beta em comparação com sedentários, com enriquecimento seletivo de espécies produtoras de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) como o butirato, por *Faecalibacterium prausnitzii*, *Blautia spp.* e *Bifidobacterium spp.*, metabólitos essenciais na regulação da integridade da barreira intestinal, resposta imune e comunicação neuroendócrina (Wegierska et al., 2022). Aliado a isto, patobiontes como *E. coli* ou *E. faecalis* que são espécies patobiontes e potencialmente causadoras de doenças, apesar de que em circunstâncias normais, são encontradas como simbiosites não prejudiciais, diminuem em de forma inversa com a presença do exercício físico, como descrito pela Figura 3 (Clauss et al., 2021).



Figura 3–Relação entre atividade física e microbiota intestinal. Fonte: Alterado de Clauss et al., 2021

A correlação entre o exercício físico e a saúde mental é particularmente relevante em populações como a de jovens universitários, onde ansiedade e depressão subclínica coexistem frequentemente com hábitos sedentários e padrões alimentares desequilibrados (Jiazhi et al., 2025). Alguns dos mecanismos já bem estabelecidos entre o exercício físico e a saúde mental envolvem: a liberação e aumento de serotonina (com o exercício aumentando a atividade dos receptores 5-HT1A e 5-HT7 que são amplamente relacionado à redução dos sintomas depressivos) (Haunhorst et al., 2022); redução da



inflamação; regulação do sistema endócrino; aumento do fator neurotrófico derivado do cérebro e da plasticidade neural; melhora do humor e cognição (Haunhorst et al., 2022; Maekawa et al., 2022).

Um estudo com randomização mendeliana que estudou a variação genética e a saúde mental encontrou associações significativas e efeitos causais entre as interações do MO, representado por amostras da saliva e dorso da língua, e ansiedade/depressão, com *Eggerthia* altamente associada a ambas as condições clínicas citadas (Li et al., 2022). Em outro estudo observacional, os resultados encontrados indicaram associações entre géneros bacterianos específicos e determinados aspetos do bem-estar psicológico. O género *Cutibacterium spp.*, em particular, demonstrou uma correlação consistente com o bem-estar, com maior abundância na região do rosto e nas axilas, e também associadas a uma diminuição dos níveis de stress e a melhora de bem-estar (Tyson-Carr et al., 2025). Apesar disto, a maioria dos estudos concentra-se em nichos isolados, negligenciando a interação oral-cutânea com foco e seu impacto em comorbidades físicas e psiquiátricas (Schamarek et al., 2023).

O presente estudo visa abordar o potencial dos achados relacionados ao MO e MP, em uma amostragem completamente universitária, ainda não abordada a fundo pela literatura atual. Portanto, pretende-se caracterizar o estado de saúde de jovens universitários, por meio de questionários que avaliam a saúde física e mental, dados antropométricos e por coleta de amostras de MO e MP. Pretende-se correlacionar os dados recolhidos, relativos a: i) saúde física (através de IMC, percentagem de massa gorda e percentagem de massa muscular); ii) saúde mental (através de questionários validados internacionalmente: PHQ-9, GAD-7 e IPAQ); iii) análise de composição corporal (realizada por exame de bioimpedância); iv) vínculo de cada participante à DM (por aplicação de outro questionário comprovado para tal - MEDAS), v) microbioma oral e da pele (através da colheita de amostras). A hipótese central é que a disbiose dual (oral/cutânea) está associada a piores indicadores de saúde mental e composição corporal, bem como a uma menor adesão à DM.

2. Métodos

O presente estudo é exploratório e foi delineado para a caracterização o estado de saúde de uma população jovem universitária pelos dados dos questionários de saúde física e mental aliados ao perfil antropométrico e microbiológico condizente as comunidades microbianas orais e cutâneas, fornecendo dados sobre a relação multifatorial destes itens anteriormente citados, com indicadores de saúde física e mental em jovens universitários. Esta abordagem investigativa fundamenta-se no crescente reconhecimento da importância dos microbiomas como biomarcadores de saúde e potenciais mediadores de processos fisiopatológicos, conforme evidenciado por estudos recentes que



demonstram correlações significativas entre diversidade microbiana oral e cutânea para biomarcadores clínicos (Basilicata et al., 2023; Grice et al., 2008; Malan-Müller et al., 2024; Tyson-Carr et al., 2025).

A investigação utilizou metodologia padronizada para aplicação de questionários estruturados, incluindo instrumentos psicométricos validados, como PHQ-9 e GAD-7 para avaliação de sintomas depressivos e ansiosos, bem como escalas de adesão alimentar (MEDAS) e atividade física (IPAQ), em paralelo com avaliação da composição corporal por bioimpedância e colheita sistemática de amostras biológicas orais e cutâneas para análise microbiológica.

Detalhadamente, o projeto se iniciou com procedimentos de recrutamento por divulgação institucional nos canais digitais da E2S e presencialmente com a colaboração dos professores nas salas de aulas, assim foi sintetizado o projeto, seu objetivo e desfecho esperado, seguido de pedido de inscrição voluntária via formulário acessível unicamente por acesso institucional. Em seguida, os participantes que demonstrarem devido interesse, preencheram o formulário online, disponibilizado exclusivamente por meio do *Microsoft Forms* para garantir a segurança dos dados, que tem um tempo de duração estimado de vinte minutos, e conta com todos questionários descritos anteriormente, no fim do documento os voluntários escolheram a melhor dada dentre as disponíveis para comparecimento em um laboratório do TBIO (Centro de Saúde Translacional e Biotecnologia Médica) na Escola Superior de Saúde, onde foi realizada as colheitas de amostras biológicas e medição de dados antropométricos, pela balança de bioimpedância.

Os procedimentos pré-colheita constituem etapas críticas de padronização que incluem instruções rigorosas aos participantes que foram recomendados de realizarem um período de jejum de alimentos e líquidos (exceto água) por um período mínimo de uma hora, bem como evitar qualquer atividade de higiene oral nas horas precedentes à colheita, fundamentando-se em evidências científicas que demonstram alterações significativas na composição do microbioma oral associadas ao consumo alimentar e práticas de higiene (Grice et al., 2008; Shoer et al., 2023). Adicionalmente, o protocolo estabelece medidas rigorosas de controlo ambiental através da desinfecção das superfícies de trabalho com álcool a 70% e o uso obrigatório de equipamentos de proteção individual (luvas estéreis e máscaras), visando prevenir contaminação cruzada e assegurar condições assépticas durante a colheita das amostras biológicas.

A recolha ocorreu em ambiente controlado da instituição e seguiu uma sequência padronizada. Durante a realização do procedimento, as amostras foram armazenadas em microtubos de 2ml com 1.5ml de meio previamente manipulado (TSB+Glicerol) com tampa, identificados por números aleatórios gerados a cada participantes condizentes ao mesmo número de formulário, para possibilitar a junção dos



respetivos dados. As amostras foram colhidas por zangaratoas estéreis e após a coleta, sendo mantidas em caixa com gelo e congeladas a -80°C o mais rápido possível, sem extrapolar 15 minutos para tal. Os dados aferidos pela balança foram disponibilizados no sistema que gerou documentos em PDF para cada participante, e este direcionado por e-mail, assim cruzando os dados novamente, de forma anónima.

Os critérios de inclusão incluíram a disponibilidade para coleta de dados e amostras biológicas, e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e *login* por meio de *e-mail* institucional. E o único critério de exclusão foi o uso de antibióticos nos últimos 3 meses. A elegibilidade será verificada no momento da receção, aplicando-se os critérios de inclusão e exclusão, atribuindo-se um código numérico a cada participante para garantir anonimização segundo o RGPD (Regulamento Geral de Proteção de Dados); os dados digitais serão mantidos até à conclusão do tratamento estatístico e eliminados por apagamento permanente, ao passo que documentos em papel serão destruídos, estimando-se conclusão deste ciclo até um ano após o término do projeto.

As amostras foram processadas em laboratório da E2S | P.PORTO e/ou TBIO, seguindo fluxos de receção, registo e armazenamento temporário conforme boas práticas laboratoriais, com posterior análise microbiológica para caracterização da microbiota oral e cutânea; em paralelo, os dados dos questionários e medidas corporais foram digitados em base de dados anonimizada, sujeita a dupla verificação e limpeza, para subsequente análise descritiva e correlacional entre perfis microbianos, marcadores de saúde mental, padrão alimentar e composição corporal, visando a caracterização exploratória transversal da população académica estudada e a geração de hipóteses para estudos confirmatórios subsequentes.

A análise estatística foi conduzida utilizando o SPSS versão 29 para *Windows*. Foi caracterizada a amostra através de medidas estatísticas sumárias e gráficos. A normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Para variáveis com distribuição normal (dados antropométricos), utilizou-se a correlação de *Pearson*. Para variáveis ordinais ou não normais (pontuações dos questionários), empregou-se a correlação de *Spearman*. O nível de significância adotado foi de 5% ($\alpha = 0,05$). Análise de regressão linear simples foi aplicada quando apropriado.

2.1. Aprovação Ética e Recrutamento

Em janeiro de 2025, foi iniciada a tratativa com o devido preenchimento de documentos relacionados ao estudo de investigação e do projeto, pedido de autorização institucional e termos de autorização local. Posteriormente, em fevereiro, foram anexadas as declarações de compromisso de honra e todos os questionários a serem utilizados, sendo estes validados. Em março, após pedido de especificação da



amostra e da metodologia do estudo por parte do Comitê de Ética, foi enviado o documento final esclarecendo rigorosamente os meios de coleta, divulgação e subsequente exclusão de dados.

Por fim, o estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Instituto Politécnico do Porto (registo CE0016F, 24/03/2025), garantindo conformidade com o Regulamento Geral de Proteção de Dados. Os dados digitais e físicos serão destruídos após 1 ano da conclusão do projeto, conforme o Regulamento Geral de Proteção de Dados.

2.2. Amostragem

Este projeto caracteriza-se como um estudo exploratório, sendo uma pesquisa observacional cujo objetivo primário é a caracterização inicial do estado de saúde de uma população jovem universitária pelos dados dos questionários de saúde física e mental aliados ao perfil antropométrico e microbiológico, como já descrito anteriormente. O tamanho da amostra ideal origina-se do número mínimo de amostras necessárias para um estudo, que é determinado pela disponibilidade de recursos e é imprescindível para se ter significância estatística e garantir amostras suficientes para validação cruzada e somente assim, extrapolação dos resultados. Entretanto, testes estatísticos para avaliar hipóteses em estudos de microbioma precisam considerar características diferentes que não se aplicam ao cálculo clássico de tamanho de amostra. Especificamente, pelos dados de microbioma serem caracterizados por: (i) ampla dimensão, com centenas a milhares de taxa microbianos coexistindo em uma única amostra; (ii) composição, onde as contagens de sequências representam abundâncias relativas e não absolutas, tornando cada táxon dependente dos demais; e (iii) elevada variabilidade inter-individual, onde a composição microbiana varia substancialmente entre os indivíduos (Ferdous et al., 2022).

Em estudos de microbioma, a amostragem difere de investigações microbiológicas tradicionais em três aspectos fundamentais. Primeiro, existe uma elevada variabilidade individual que impõe a necessidade de tamanhos amostrais maiores para capturar adequadamente a heterogeneidade da comunidade microbiana, enquanto estudos clássicos que visam apenas o isolamento e cultivo de cepas usam frequentemente amostras menores e condições padronizadas de cultivo. Segundo, em vez de analisar um único organismo em meio definido, as amostras de microbioma exigem ainda uma extração de DNA ambiental seguido de sequenciação de alta profundidade, gerando centenas a milhares de táxons simultâneos cuja abundância relativa deve ser normalizada, sendo esta uma etapa ausente em métodos tradicionais de quantificação por colônia em estudos tradicionais de microbiologia. Terceiro, o delineamento transversal ou de coorte para microbioma demanda protocolos rígidos de coleta e preservação, por exemplo, uso de crioprotetores, meios específicos, congelamento imediato a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$,



para manter a integridade da comunidade complexa, enquanto em estudos convencionais as colheitas e cultivos podem ocorrer em ambiente de laboratório sem necessidade de congelamento imediato etc.

Para um estudo de correlação simples, cujo objetivo seja identificar preliminarmente qual estirpe cresce em maior abundância numa população saudável, recomenda-se um tamanho amostral de referência de 30 a 50 participantes. Esse intervalo equilibra a necessidade de detectar diferenças moderadas em abundância relativa de um táxon específico e as limitações logísticas e análise de dados. A partir dessa amostra, pode-se calcular a correlação de *Spearman* ou *Pearson* entre a abundância do táxon de interesse e variáveis fenotípicas, permitindo identificar qual estirpe apresenta maior crescimento relativo antes de projetar estudos confirmatórios com poder estatístico aprimorado (Ferdous et al., 2022b).

Considerando, que o objetivo não é testar hipóteses específicas com poder estatístico elevado, mas sim gerar dados preliminares que orientem futuras investigações mais robustas, podendo seu uso servir para criação de novas hipóteses e/ou reformulação de desfechos já existentes na literatura atual, a amostragem alvo deste presente estudo foi delimitada em 50 participantes, assumindo assim uma distribuição normal dos índices de diversidade microbiana, visando garantir a reprodutibilidade dos achados. Em termos de comparação, um dos principais estudos de referência do tema “Projeto Microbioma Humano” utilizou uma amostragem de 300 participantes, sendo de 50 por cada local de estudo para viabilizar toda logística por trás (Aagaard et al., 2013). Apesar, deste estudo apresentar resultados preliminares, com esta amostragem ainda será possível o reaproveitamento dos dados, inclusive das amostras, indo além da composição taxonômica no futuro, utilizando por exemplo, abordagens multi-ômicas para estudar funcionalidade e composição do microbioma afundo, sendo assim, possível contribuir de fato para elucidar a funcionalidade do microbioma e sua relevância clínica. A elegibilidade do estudo incluirá a população-alvo de 50 jovens universitários ≥ 18 anos, recrutados no campus da Escola Superior de Saúde, na cidade do Porto, Portugal.

2.3. Questionários

O *Patient Health Questionnaire-9* (PHQ-9) é um instrumento de autorrelato de nove itens que avalia a frequência de sintomas depressivos nas últimas duas semanas, atribuindo pontuações de 0 (“nenhum dia”) a 3 (“quase todos os dias”). A soma total varia de 0 a 27, sendo os escores ≥ 10 indicativos de depressão moderada a grave, o que permite identificar jovens universitários em risco de comprometimento psicológico (Kroenke et al., 2001).

O *Generalized Anxiety Disorder-7* (GAD-7) consiste em sete questões que mensuram sintomas de ansiedade generalizada, também classificando a frequência em quatro níveis de 0 a 3. Escores ≥ 10



sugerem relevância clínica de transtorno de ansiedade, facilitando a detecção de quadros ansiosos de intensidade moderada a severa em populações saudáveis, com aplicação rápida em estudos de correlação com biomarcadores (Spitzer et al., 2006).

O *Mediterranean Diet Adherence Screener* (MEDAS) é um questionário de 14 itens que quantifica hábitos alimentares característicos da dieta mediterrânea especificamente, atribuindo 1 ponto a práticas favoráveis (consumo diário de frutas, legumes, azeite, etc.) e 0 caso contrário. Pontuações ≥ 8 refletem alta adesão, associada a perfis metabólicos e inflamatórios protetores, o que permite correlacionar padrões dietéticos com variações no microbioma oral e cutâneo (Schröder et al., 2011)

O *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ), versão curta, avalia a duração e frequência de atividades físicas em domínios de intensidade leve, moderada e vigorosa, convertendo resultados em MET-minutos/semana. Com base nos valores obtidos, classifica-se atividade física em baixa, moderada ou alta, o que viabiliza relacionar níveis de gasto energético habitual com perfis de diversidade microbiana (Craig et al., 2003)

A avaliação antropométrica por bioimpedância elétrica medirá índice de massa corporal (IMC), porcentagem de massa gorda e massa muscular em quilogramas, seguindo protocolos padronizados de posicionamento e calibração do equipamento. A estatura será autorrelatada e confirmada quando possível, garantindo a fidedignidade dos cálculos de composição corporal, essenciais para investigar associações entre estado nutricional e microbioma (Kyle et al., 2004).

A combinação destes instrumentos permitirá abordar de forma integrada os aspetos de saúde mental (PHQ-9, GAD-7), hábitos alimentares (MEDAS) e nível de atividade física (IPAQ), além de caracterizar o estado antropométrico atual do participante por bioimpedância. Todos os questionários são amplamente validados internacionalmente, assegurando comparabilidade e robustez metodológica na correlação preliminar entre variáveis psicossociais, dietéticas e de composição corporal com o microbioma oral e cutâneo.

2.4. Meios de Cultura

Trypticase Soy Broth (TSB) é um meio de cultura líquido de uso geral, formulado com digeridos enzimáticos de caseína e soja que fornecem aminoácidos e compostos nitrogenados, dextrose como fonte de energia, cloreto de sódio para equilíbrio osmótico e fosfato de potássio como agente tamponante para estabilização do pH durante o crescimento microbiano (TSB -TRYPTICASE SOY BROTH, n.d.). O glicerol atua como crioprotetor e fonte de carbono, reduzindo a formação de cristais de gelo durante o congelamento e preservando a viabilidade celular em concentrações de 15% para



bactérias (“Blue-White Screening & Protocols for Colony Selection,” 2025). Já o *Tryptic Soy Agar* (TSA) incorpora agar como agente solidificante e mantém a base nutritiva do TSB, sendo indicado para isolamento primário, contagem total e manutenção de culturas não seletivas (Dalynn biologicals, 2003). Por fim, também foi utilizado o meio YEPD, *Yeast Extract Peptone Dextrose*, para promover especificamente o cultivo e crescimento de leveduras. O YEPD é um meio nutritivo clássico favorável para o desenvolvimento fúngico, especialmente leveduras, permitindo a avaliação quantitativa da presença desses microrganismos nas amostras.

Para preparar o meio de preservação das amostras, pesa-se 9 g de TSB desidratado em 300 mL de água destilada em frasco *Schott* de 500 mL, agita-se até dissolução completa e esteriliza-se a 121 °C por 15 min em autoclave calibrada. Após o resfriamento a 45–50 °C, mistura-se estérilmente glicerol para obtenção de 15% em volume final. Em câmara de fluxo laminar, pipeta-se 1,5 mL desse meio em microtubos de 2 mL, assegurando ausência de bolhas e deixando 0,5 mL de espaço livre para a inserção do zaragatoa sem transbordamento, o que também facilita a homogeneização da amostra durante o processamento.

Para o TSA, dissolvem-se 40 g de meio em 1 L de água destilada, esteriliza-se a 121 °C por 15 min, verte-se em placas estéreis após leve resfriamento e aguarda-se a solidificação completa antes do uso em isolamento ou controle de pureza de culturas. De forma similar, para preparar o meio YEPD, pesa-se 3 g de extrato de levedura, 6 g de peptona e 6 g de glucose em 300 mL de água destilada em frasco *Schott* de 500 mL, agita-se até dissolução completa e esteriliza-se a 121 °C por 15 min em autoclave calibrada. Após o resfriamento a 45–50 °C, em câmara de fluxo laminar, verte-se em placas estéreis após leve resfriamento e aguarda-se a solidificação completa antes do uso.

Por fim, o meio *Ágar Sabouraud Dextrose* (SDA) que é um meio de cultura seletivo, especificamente para o isolamento e cultivo de fungos, como leveduras e bolores será usado. A sua eficácia reside na sua composição: a alta concentração de dextrose (glicose) e a peptona fornecem os nutrientes necessários para o crescimento fúngico, enquanto o seu pH ácido, em torno de 5,6, inibe o crescimento da maioria das bactérias, permitindo que os fungos se desenvolvam sem competição. Para a sua preparação, os componentes desidratados (tipicamente 40 g/L de dextrose, 10 g/L de peptona e 15 g/L de ágar) são dissolvidos em água destilada, aquecidos até à dissolução completa e, de seguida, esterilizados em autoclave a 121 °C por 15 minutos (Sabouraud Dextrose Agar Acc. EP + USP, n.d.). Após arrefecer, o meio é vertido em placas, de forma similar aos anteriores.

O controle de qualidade do meio de preservação inclui a inoculação de zaragatoas estéreis impregnadas em cepa-controle (por exemplo, *E. coli*) em paralelo, incubação a 37 °C por 48 h e observação óptica do



crescimento apenas no tubo de controle positivo, confirmando a esterilidade dos demais tubos e a capacidade do meio em suportar viabilidade microbiana.

Esta metodologia rigorosa assegura que os meios de cultura estejam adequadamente preparados, esterilizados e validados, garantindo a confiabilidade das análises microbiológicas e a preservação das propriedades fisiológicas das amostras até o momento da inoculação ou análise posterior.

2.5. Microbioma Oral

Inicialmente após preparação do participante já previamente informado, o mesmo deverá realizar bochechamento e excreção de água filtrada por 30 segundos para eliminar detritos superficiais. Em seguida, realizam-se o procedimento de coleta por zaragatoa do dorso lingual, tal região é reconhecida como o nicho anatômico de maior diversidade microbiana intraoral, abrigando comunidades complexas dominadas por espécies-chave, cuja composição e abundância relativa têm demonstrado associações significativas com condições como halitose, doença periodontal e inflamação sistêmica (Lowry et al., 2016; Shoer et al., 2023).

Após, serão utilizadas zaragatoas estéreis de poliéster com haste flexível, pressionadas em movimento zigue-zague por 30 segundos da região posterior à anterior, a fim de recuperar o biofilme microbiano de maior diversidade. Imediatamente após cada coleta, as zaragatoas e os tubos de saliva são transferidos para microtubos de 1,5 ml contendo meio TSB suplementado com 15% de glicerol e mantidos em gelo até o congelamento a -80°C , realizado em até 15 min, garantindo preservação da viabilidade e integridade genômica das comunidades microbianas oral para análises subsequentes.

2.6. Microbioma Cutâneo

O protocolo de colheita do microbioma cutâneo focaliza-se na região volar do antebraço, reconhecida como uma área de diversidade microbiana moderada e estabilidade temporal superior comparativamente a outras regiões corporais, sendo menos influenciada por fatores externos como sudorese excessiva, contacto direto com superfícies ambientais ou aplicação frequente de produtos cosméticos. Esta localização anatômica específica oferece vantagens metodológicas significativas, incluindo uma área de amostragem ampla e padronizada, baixo risco de contaminação cruzada e representatividade dos hábitos de higiene e estilo de vida do participante, constituindo um biomarcador fiável da microbiota cutânea residente. A preparação do participante requer abstenção rigorosa de lavagem da região com sabonetes ou aplicação de produtos hidratantes por um período mínimo de 12 horas precedentes à colheita, fundamentando-se em evidências científicas que demonstram alterações



substanciais na composição microbiana associadas ao uso de produtos de higiene e cuidado da pele (Glenna et al., sem data; Grice et al., 2008).

O procedimento de colheita segue um protocolo altamente padronizado que inclui a delimitação de uma área de 4 cm² na região central do antebraço volar (entre o cotovelo e o pulso), garantindo uniformidade na área amostrada entre todos os participantes e permitindo a quantificação precisa da densidade microbiana por unidade de área. A colheita propriamente dita utiliza zaragatoas estéreis humedecidas com duas gotas de solução estéril de NaCl 0,9%. A técnica de swabbing consiste na aplicação de movimentos circulares concêntricos durante 30 segundos, mantendo uma pressão padronizada de 300 g/cm² dentro da área delimitada previamente, assegurando colheita uniforme e reprodutível do biofilme microbiano.

O acondicionamento das amostras requer transferência imediata da zaragatoa para microtubos estéreis de 1,5 ml previamente preparados e secos, seguida de congelamento a -80°C no prazo máximo de 15 minutos após a colheita, preservando a integridade do DNA microbiano e prevenindo alterações na composição das comunidades bacterianas. O protocolo inclui controlos ambientais rigorosos mediante exposição de zaragatoas estéreis ao ambiente de colheita durante o procedimento, mas sem contacto com a pele, permitindo a identificação e quantificação de potenciais contaminações atmosféricas que possam influenciar os resultados das análises microbiológicas subsequentes. Esta metodologia visa padronizar a colheita do microbioma cutâneo do antebraço volar, proporcionando dados robustos e essenciais para análises correlacionais com indicadores de saúde física, mental e fatores comportamentais em jovens universitários.

2.7. Análise Microbiológica

Todas as etapas foram conduzidas em duplicata por dois pesquisadores, garantindo reprodutibilidade e robustez metodológica. Inicialmente, as amostras de pele e boca foram inoculadas em meio TSA, cuja escolha permite o crescimento de uma gama abrangente de bactérias não restrita a grupos específicos, refletindo a totalidade da microbiota cultivável. Antes da inoculação, todos os meios foram devidamente autoclavados a 121 °C por 15 minutos para garantir esterilidade. Após inoculação, as placas foram incubadas a 35 °C por 48 horas, proporcionando condições ideais para o desenvolvimento bacteriano, especialmente de espécies mesofílicas humanas. Após o crescimento inicial, as amostras foram transferidas para novas placas de TSA, visando obter colónias isoladas para análise morfológica e testes subsequentes. As amostras com suspeita de presença de fungos ou leveduras foram isoladas e inoculadas em meio SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) e YEPD (*Yeast Extract Peptone Dextrose*) para



confirmação e quantificação. O SDA, incubado a 25°C por até 7 dias, favorece o crescimento fúngico, permitindo identificar tanto leveduras quanto fungos filamentosos em ambas as amostras. A quantificação foi expressa em número total de amostras com crescimento positivo, evidenciando o grau de colonização fúngica nos diferentes sítios.

Em todas as amostras de ambos microbiomas foram realizadas a quantificação das Unidades Formadoras de Colônia (UFC), permitindo comparações quantitativas entre os sítios e entre diferentes sujeitos da pesquisa. Após contagem das colônias, foi realizada a avaliação morfológica, incluindo descrição detalhada dos seguintes parâmetros: formato, borda, elevação, superfície, brilho, densidade, consistência e cor das colônias. Esse procedimento permite criar uma matriz de identificação preliminar e contribui para classificar os diferentes morfotipos bacterianos presentes nas amostras.

Por fim, para cada colônia isolada, foi realizada coloração de Gram segundo protocolo padrão: fixação parcial, aplicação de cristal violeta, tratamento com lugol, descoloração com álcool e contra-coloração com safranina. Em seguida, a lâmina é lavada, seca ao ar e observada em microscópio com óleo de imersão e objetiva de 100x para análise (Ministério da Saúde, 2001). Os corantes foram utilizados em tempos exatos conforme recomendações do Manual do Ministério da Saúde Brasileiro sobre a técnica, permitindo distinguir entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, informação crucial para identificação taxonômica e implicações clínicas potenciais.

2.8. Análise Estatística

Previamente à avaliação da existência de correlação, procedeu-se à avaliação da normalidade das distribuições das variáveis contínuas mediante aplicação do teste de *Kolmogorov-Smirnov*.

As variáveis antropométricas (índice de massa corporal, massa gorda, percentagem de gordura corporal e massa muscular esquelética) apresentaram distribuição normal, sendo submetidas à análise de correlação paramétrica de *Pearson*. Por sua vez, as pontuações totais derivados dos instrumentos psicométricos e comportamentais – PHQ-9 (*Patient Health Questionnaire-9*) para sintomatologia depressiva, GAD-7 (*Generalized Anxiety Disorder-7*) para sintomas ansiosos, MEDAS (*Mediterranean Diet Adherence Screener*) para adesão à dieta mediterrânea e IPAQ (*International Physical Activity Questionnaire*) para nível de atividade física – foram analisados mediante correlação não paramétrica de *Spearman* (ρ), dada a natureza ordinal destes dados e/ou ausência de normalidade em suas distribuições.

A magnitude das correlações foi interpretada conforme os critérios convencionais, valores absolutos de r entre 0 e 0,3 foram considerados fracos; entre 0,4 e 0,6, moderados; e acima de 0,7, fortes (Marôco,



2018). Foram identificadas correlações estatisticamente significativas entre variáveis contínuas, isto é, foram realizados os testes $H_0: \rho = 0$ (ausência de correlação) versus $H_1: \rho \neq 0$ (presença de correlação). Quando as correlações foram significativas procedeu-se ao cálculo do coeficiente de determinação (R^2) para quantificação da proporção de variância explicada.

3. Resultados

3.1. Perfil Sociodemográfico

A amostra foi composta por 55 estudantes universitários, sendo maioritariamente do sexo feminino, 74,5% versus 25.5%, destes, todos se identificam com o mesmo gênero atribuído ao nascimento, como indicado na imagem de distribuição de gênero (Figura 4).

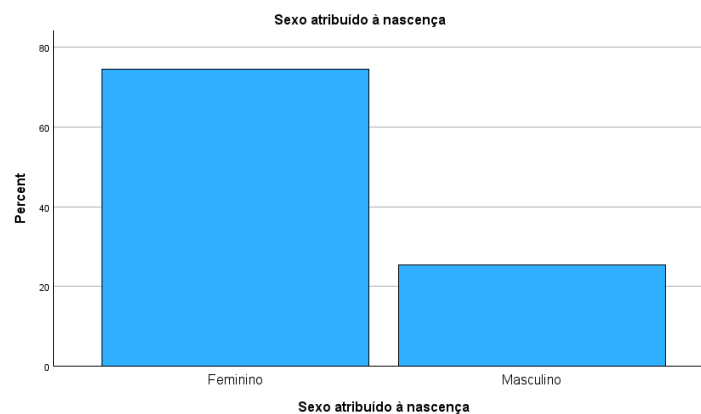


Figura 1-Distribuição do sexo

Apenas 5 participantes ou 9% da amostra, são imigrantes, sendo esta totalidade com o país de origem representado pelo Brasil, como identificado pela Tabela 1, abaixo.

| | | Frequency | Percent | Valid Percent | Cumulative Percent |
|-------|----------|-----------|---------|---------------|--------------------|
| Valid | Portugal | 50 | 90.9 | 90.9 | 90.9 |
| | Brasil | 5 | 9.1 | 9.1 | 100.0 |
| | Total | 55 | 100.0 | 100.0 | |

Tabela 1- País de origem

A amostra contempla participantes dos 18 a 36 anos, com a faixa mais representativa entre 20–22 anos, sendo quase 40% da totalidade, com a grande maioria, 61,8%, com a presença de pelo menos um animal de estimação em seu lar. Além disto, a análise do contexto socioeconômico revela, através da Figura 5, a



predominância de participantes pertencentes a famílias nucleares com número médio de membros entre 3 e 5 pessoas, o que reflete um padrão demográfico comum em ambientes urbanos portugueses.

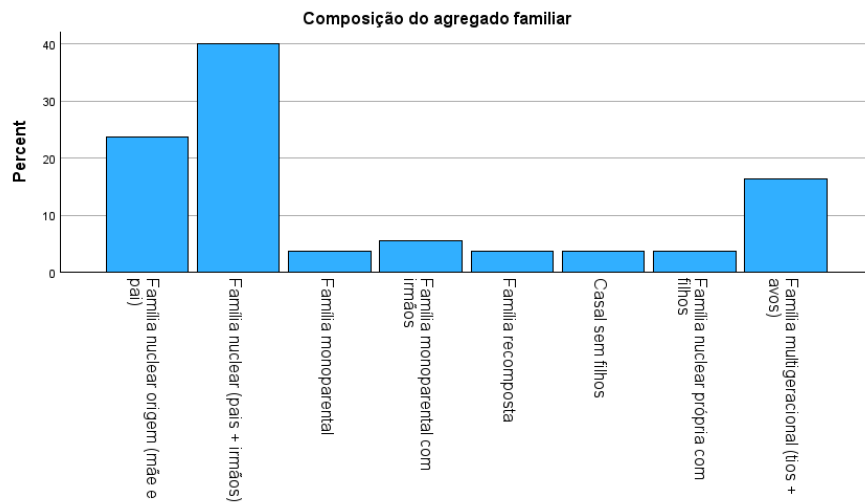


Figura 2- Agregado Familiar

Os resultados dos questionários também evidenciaram uma distribuição entre as faixas de renda e ocupações do agregado familiar. No que diz respeito à renda do agregado, observou-se uma concentração nas faixas de renda mais altas, onde 38,2% dos agregados familiares reportaram uma renda "Acima de 5 salários mínimos" e 29,1% se encontram na faixa "de 3 a 5 salários mínimos". É importante notar que este dado reflete a renda total do agregado, não sendo ponderado pelo número de dependentes. Em relação à ocupação profissional que constitui a principal fonte de renda do agregado, houve uma diversidade de setores, com destaque para a categoria de "Empresário(a) / Comerciante", representando 16,4% da amostra. Outras profissões relevantes incluíram "Autônomo(a)" (9,1%) e "Funcionário(a) Público" (7,3%). Em paralelo, ao analisar a área de atuação profissional, observou-se uma forte concentração na área da saúde, sendo este o campo de maior representatividade na amostra, conforme detalhado na Figura 6.

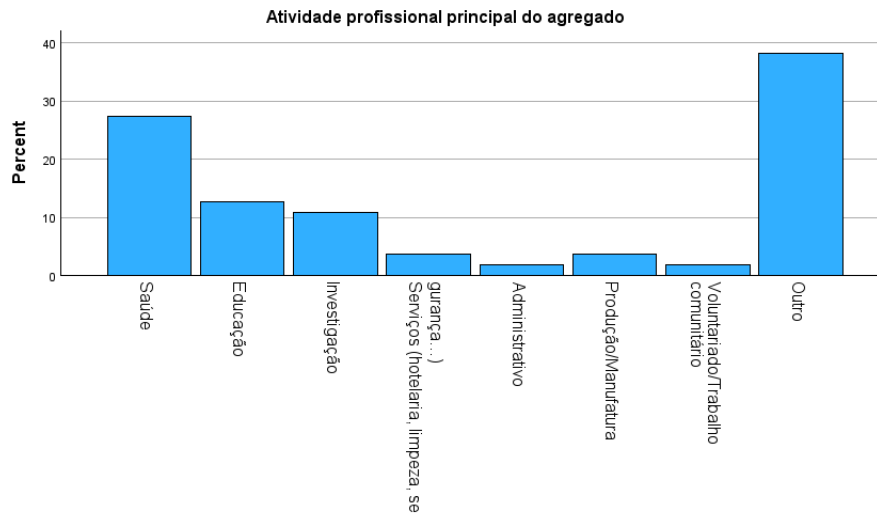


Figura 3- Atividade Profissional

A análise do histórico familiar de saúde revelou que uma parcela significativa da amostra, correspondente a 41,8% , reportou possuir ao menos um parente de primeiro grau (pai ou mãe) com diagnóstico de doença crônica. Dentre as condições mencionadas, a Hipertensão Arterial Sistêmica e a Diabetes Mellitus foram as mais prevalentes, seguidas por doenças autoimunes e/ou reumáticas. Outras condições como doenças cardíacas e asma também foram reportadas, porém com menor frequência. A distribuição detalhada destas comorbidades está evidenciada na Figura 7.

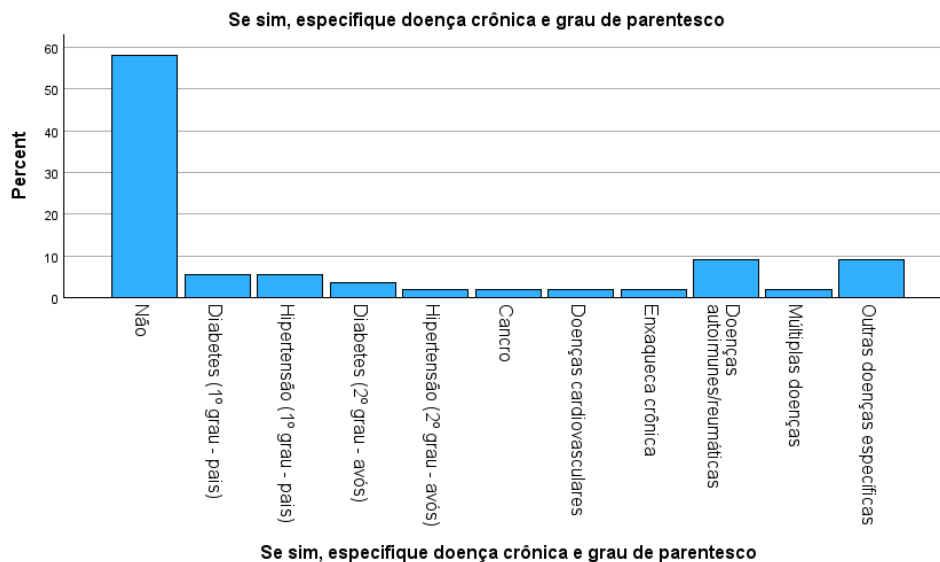


Figura 4- Doença Crônica e Grau de Parentesco

Outro destaque do perfil é o padrão de consumo de substâncias, a análise do consumo de medicamentos prescritos revelou que pouco menos da metade da amostra, 47.3% não consome nenhum tipo de



medicação prescrita, entretanto, 23.3% faz uso da pílula contraceptiva e 7.3% faz uso de antidepressivos (Tabela 2). Além disto, a respeito do uso de substâncias psicoativas ilícitas, a prevalência na amostra foi baixa. Apenas 3,6% dos participantes relataram ter feito uso de alguma droga ilícita ao longo da vida. Dentre os participantes que reportaram o uso de substâncias psicoativas, o consumo foi exclusivamente de Cannabis e o relato de uso foi descrito como esporádico e social, não havendo indícios de uso abusivo ou problemático na amostra investigada.

Toma medicação prescrita atualmente?Qual?

| | | Frequency | Percent | Valid Percent | Cumulative Percent |
|-------|--|-----------|---------|---------------|--------------------|
| Valid | 0 | 26 | 47.3 | 47.3 | 47.3 |
| | Pílula contraceptiva | 13 | 23.6 | 23.6 | 70.9 |
| | Antidepressivo | 4 | 7.3 | 7.3 | 78.2 |
| | Antiepilético | 1 | 1.8 | 1.8 | 80.0 |
| | Anticoagulante | 2 | 3.6 | 3.6 | 83.6 |
| | Anti-histamínicos e outros (insônia)(Isotretinina) | 8 | 14.5 | 14.5 | 98.2 |
| | Para esquizofrenia | 1 | 1.8 | 1.8 | 100.0 |
| | Total | 55 | 100.0 | 100.0 | |

Tabela 2- Uso de Medicação Prescrita

Esses dados são particularmente relevantes, pois fornecem contexto sobre possíveis influências comportamentais e ambientais que podem modular tanto a saúde mental quanto a saúde física dos participantes

3.2. Perfil Antropométrico da Amostra

Os resultados da avaliação antropométrica, conduzida por bioimpedância, evidenciam que a população estudada de jovens universitários apresenta, em média, valores de IMC compatíveis com a faixa de normalidade para adultos, com maioria dos participantes situando-se em 24,2 kg/m² (Tabela 3).

Descriptive Statistics

| | N | Minimum | Maximum | Mean | Std. Deviation |
|---|----|---------|---------|----------|----------------|
| Peso | 35 | 51.40 | 117.90 | 66.4886 | 12.55475 |
| Índice de Massa Corporal (kg/m ²) | 35 | 17.10 | 33.70 | 24.2114 | 3.65173 |
| Massa Muscular Esquelética (Kg) | 36 | 19.20 | 44.60 | 25.7222 | 5.17125 |
| Massa Gorda (Kg) | 35 | 4.70 | 39.90 | 19.4457 | 8.21001 |
| Percentual de Gordura Corporal | 35 | 8.90% | 44.80% | 28.6486% | 8.81103% |

Tabela 3- Análise da Bioimpedância



Ao analisar a composição corporal, com foco primário na massa muscular, observou-se uma distinção clara entre os sexos, conforme esperado para o perfil demográfico. A massa muscular esquelética foi significativamente superior no grupo masculino, que apresentou uma média de $34,1 \pm 5,1$ kg, em comparação com o grupo feminino, cuja média foi de $24,3 \pm 3,4$ kg. Estes valores sugerem uma base muscular adequada na maioria dos participantes, um indicador fundamental para o metabolismo basal e a saúde geral.

Em seguida, a análise da percentagem de gordura corporal revelou certa variabilidade na composição corporal da amostra de estudo. O grupo feminino apresentou uma média de percentagem de gordura de $30,2\% \pm 7,5\%$, enquanto o grupo masculino registou uma média de $18,5\% \pm 7,6\%$. Apesar de a média geral se encontrar dentro de parâmetros esperados, a variação individual foi notável, com um subgrupo de participantes, especialmente do sexo feminino, apresentando valores de gordura corporal acima do recomendado para a manutenção da saúde, indicando potenciais áreas para intervenção.

3.3. Resultado dos Questionários

A análise dos quatro instrumentos utilizados fornece um panorama abrangente do estado de saúde mental e dos padrões comportamentais dos participantes:

- PHQ-9 (depressão): A maioria encontra-se abaixo do ponto de corte para depressão moderadamente grave ou grave, porém, 27 participantes (49,1%) possuem pontuações compatíveis com sintomas clínicos, sugerindo necessidade de monitoramento psicológico. Considerando que a média foi de 10.4 e uma pontuação ≥ 10 geralmente indica a presença de depressão clinicamente significativa e pode justificar uma avaliação clínica mais aprofundada (Figura 8).

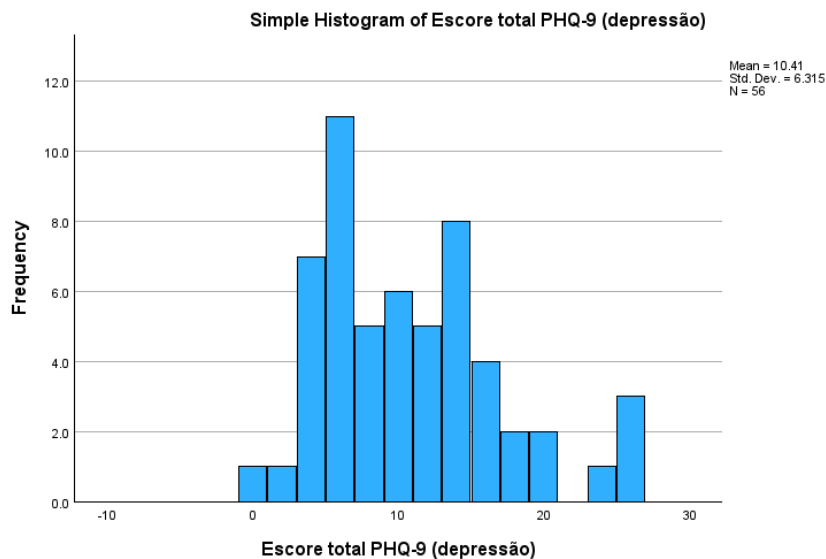


Figura 5- Resultado PHQ-9

- **GAD-7 (ansiedade):** Resultados semelhantes ao PHQ-9, com predominância de escores baixos, mas registo de casos com ansiedade significativa (Figura 9). A média apresentada foi de 9.23 pontos (mínimo = 0; máximo = 20) na amostra válida (n = 55). A distribuição por faixas foi: mínima 0–4 = 34,5%, leve 5–9 = 29,1%, moderada 10–14 = 16,4% e grave 15–21 = 20,0%, indicando concentração entre mínima/leve com contingente relevante nas faixas clínicas (≥ 10).

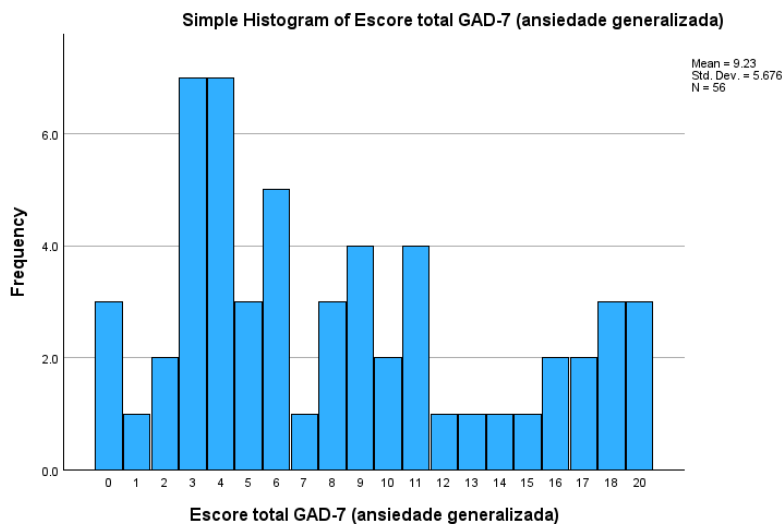


Figura 6- Resultado GAD-7

- **MEDAS-7 (adesão à dieta mediterrânea):** Predominância de escores intermediários, indicando hábitos alimentares com potencial de melhoria. Poucos participantes atingem os patamares recomendados para adesão plena ao padrão mediterrâneo. O MEDAS apresentou média de 5,96



pontos (mínimo = 2; máximo = 12), com 43,6% dos participantes em adesão baixa (0–5), 49,1% em adesão moderada (6–9) e 7,3% em adesão alta (10–14), como evidenciado pela Figura 10.

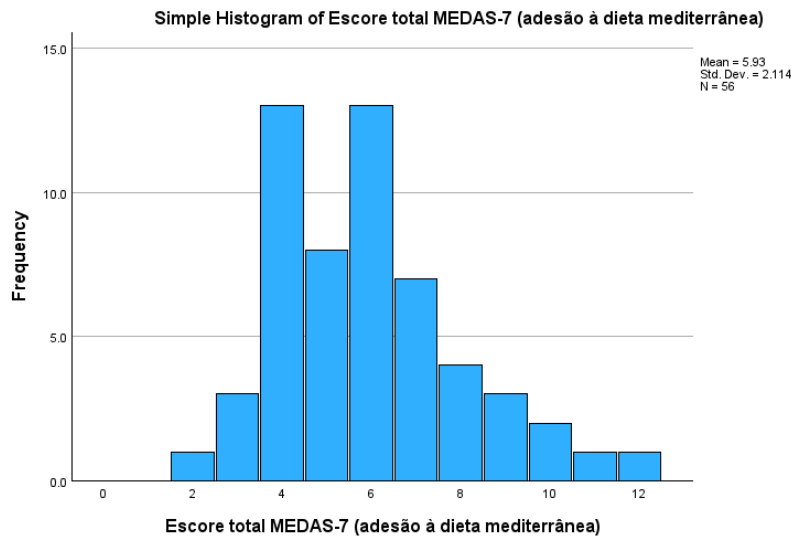


Figura 7- Resultado MEDAS-7

- IPAQ (atividade física): moderado = 41,8%, alto = 36,4% e baixo = 21,8% (n = 55), indicando predominância de níveis moderados a altos de atividade física na amostra e uma distribuição heterogênea, com presença de subgrupos sedentários e outros fisicamente ativos, ressaltando a importância da diversidade comportamental na saúde universitária (Figura 11).

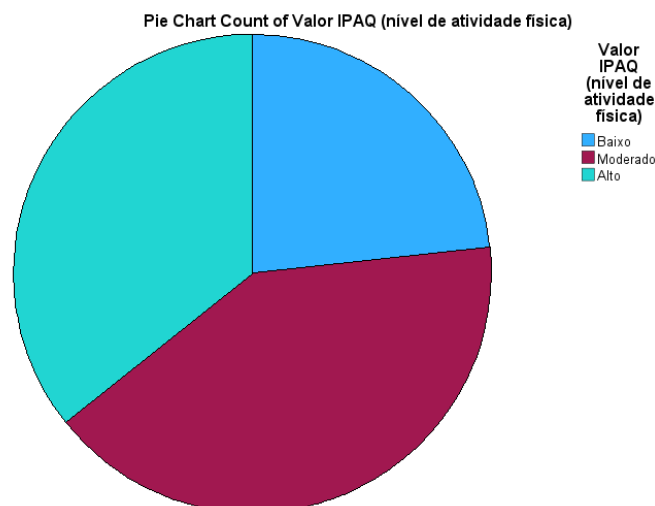


Figura 8- Resultado IPAQ

3.4. Resultado Estatísticos

Os resultados evidenciaram ausência de correlações significativas entre as pontuações totais de depressão (PHQ-9) e as variáveis antropométricas avaliadas ($p > 0,05$ para todas as comparações). Contrariamente, identificou-se correlação negativa moderada e estatisticamente significativa entre sintomatologia ansiosa (GAD-7) e massa muscular esquelética ($r = -0,368$; $p = 0,027$), indicando que maiores níveis de ansiedade se associam a menor quantidade de massa muscular. Similarmente, o nível de atividade física (IPAQ) correlacionou-se positiva e moderadamente com massa muscular esquelética ($r = 0,398$; $p = 0,016$), como elucidado na Figura 12.

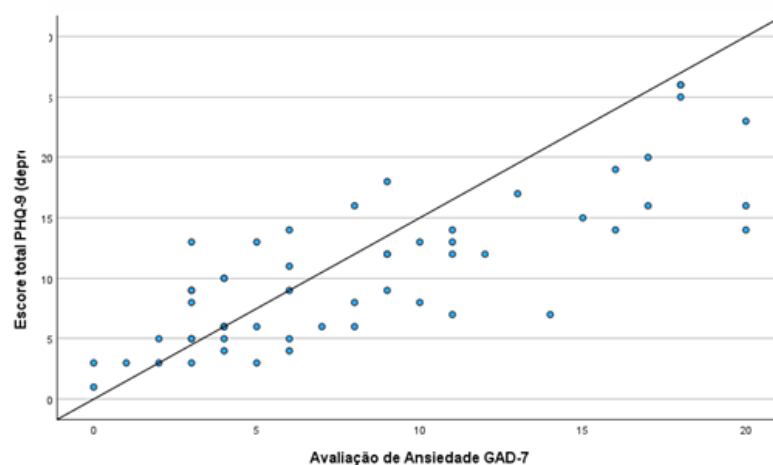


Figura 12- Correlação entre PHQ-9 x GAD-7

Particularmente relevante foi a forte correlação positiva observada entre as pontuações totais de depressão e ansiedade ($r = 0,782$; $p < 0,001$), com um $R^2 = 0,646$ o que significa que 64,6% da variabilidade da pontuação total devido à depressão pode ser explicada pelos níveis de ansiedade ($R^2 = 0,646$; $b = 0,872$; $p < 0,001$), conforme a equação: Depressão = $3,241 + 0,872 \times$ Ansiedade.

Relativamente à adesão à dieta mediterrânea (MEDAS-7), esta variável não apresentou distribuição normal conforme confirmado pela Figura 13 ($p = 0,011 < 0,05$), justificando o emprego da correlação não-paramétrica de *Spearman*, para todas as análises subsequentes envolvendo o MEDAS ou seus itens constituintes.



| Testes de Normalidade | | | | | | |
|---|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
| | Estatística | gl | Sig. | Estatística | gl | Sig. |
| Escore total MEDAS-7 (adesão à dieta mediterrânea) | ,166 | 55 | <,001 | ,943 | 55 | ,011 |

Figura 13- Teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliar normalidade de MEDAS

Quando avaliadas as correlações entre as questões individuais do MEDAS e as pontuações relativas aos outros inquéritos preenchidos, foram encontrados padrões heterogêneos. O consumo de refrigerantes açucarados correlacionou-se significativamente com a pontuação total do MEDAS ($\rho = 0,432$; $p < 0,001$). De forma contrária, o consumo de sobremesas doces, bolachas e bolos de pastelaria não apresentou correlação significativa com o MEDAS total ($\rho = 0,218$; $p = 0,111$), pois onde o p (significância) $> 0,05$ o resultado não é confiável, não permitindo extrapolar os achados e a força de correlação ρ (rho) encontrada, sugerindo que este item em particular possa apresentar comportamento independente ou padrão de resposta diferenciado nesta amostra.

O consumo de carne vermelha, por sua vez, mostrou correlação moderada positiva e significativa com a pontuação total de MEDAS ($\rho = 0,548$; $p < 0,001$), confirmando que a redução de consumo desta categoria alimentar é componente relevante na pontuação global de adesão à dieta estudada. Contudo, nenhum destes itens específicos do MEDAS apresentou correlação significativa com as pontuações totais de depressão (PHQ-9) ou ansiedade (GAD-7), mantendo-se o padrão de não-associação previamente descrito para a pontuação total da dieta com variáveis psicológicas, conforme descrito pela Figura 14. A respeito das correlações entre os itens alimentares e as variáveis antropométricas de composição corporal (IMC, percentagem de gordura corporal e massa muscular esquelética), nenhuma associação estatisticamente significativa foi identificada.



Correlations

| | | Quantas porções de carne vermelha, hamburger ou derivados (fiambre, salsichas, etc) consome por dia? | Quantos refrigerantes açucarados consome por dia? | Quantas porções de frutos secos por semana | Quantas vezes por semana consome sobremesas doces, bolachas e bolos de pastelaria? | Quantas porções de fruta fresca come por dia? | Quantas porções de manteiga, margarina ou natas consome por dia? | Quantas porções de hortícolas crus e cozinhados come por dia? | PONTUAÇÃO (GAD7) | PONTUAÇÃO (PHQ-9) | SOMA IPAQ | |
|-------------------|--|--|---|--|--|---|--|---|------------------|-------------------|-----------|-------|
| Spearman's rho | Quantas porções de carne vermelha, hamburger ou derivados (fiambre, salsichas, etc) consome por dia? | Correlation Coefficient | 1.000 | .135 | .131 | .131 | .035 | .282 | -.092 | .082 | .123 | -.022 |
| | | Sig. (2-tailed) | . | .433 | .446 | .446 | .840 | .096 | .593 | .636 | .123 | .900 |
| | | N | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| | Quantos refrigerantes açucarados consome por dia? | Correlation Coefficient | .135 | 1.000 | .031 | .031 | .086 | -.051 | .180 | -.122 | -.097 | -.208 |
| | | Sig. (2-tailed) | .433 | . | .856 | .856 | .618 | .768 | .295 | .477 | .573 | .224 |
| | | N | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| | Quantas porções de frutos secos por semana | Correlation Coefficient | .131 | .031 | 1.000 | -.064 | .203 | -.328 | .209 | .373 | .139 | .094 |
| | | Sig. (2-tailed) | .446 | .856 | . | .711 | .236 | .051 | .222 | .025 | .419 | .585 |
| | | N | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| | Quantas vezes por semana consome sobremesas doces, bolachas e bolos de pastelaria? | Correlation Coefficient | .131 | .031 | -.064 | 1.000 | .041 | -.040 | .006 | .234 | .254 | .214 |
| | | Sig. (2-tailed) | .446 | .856 | .711 | . | .814 | .817 | .974 | .170 | .135 | .211 |
| | | N | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| | Quantas porções de fruta fresca come por dia? | Correlation Coefficient | .035 | .086 | .203 | .041 | 1.000 | .197 | .325 | .118 | .053 | .238 |
| | | Sig. (2-tailed) | .840 | .618 | .236 | .814 | . | .249 | .053 | .494 | .761 | .162 |
| | | N | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| | Quantas porções de manteiga, margarina ou natas consome por dia? | Correlation Coefficient | .282 | -.051 | -.328 | -.040 | .197 | 1.000 | -.009 | -.138 | -.058 | .065 |
| | | Sig. (2-tailed) | .096 | .768 | .051 | .817 | .249 | . | .958 | .423 | .738 | .708 |
| | | N | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| | Quantas porções de hortícolas crus e cozinhados come por dia? | Correlation Coefficient | -.092 | .180 | .209 | .006 | .325 | -.009 | 1.000 | .295 | .264 | -.083 |
| | | Sig. (2-tailed) | .593 | .295 | .222 | .974 | .053 | .958 | . | .081 | .120 | .631 |
| | | N | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| PONTUAÇÃO (GAD7) | | Correlation Coefficient | .082 | -.122 | .373 | .234 | .118 | -.138 | .295 | 1.000 | .739** | .066 |
| | | Sig. (2-tailed) | .636 | .477 | .025 | .170 | .494 | .423 | .081 | . | <.001 | .702 |
| | | N | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| PONTUAÇÃO (PHQ-9) | | Correlation Coefficient | .262 | -.097 | .139 | .254 | .053 | -.058 | .264 | .739*** | 1.000 | .204 |
| | | Sig. (2-tailed) | .123 | .573 | .419 | .135 | .761 | .738 | .120 | <.001 | . | .232 |
| | | N | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |
| SOMA IPAQ | | Correlation Coefficient | -.022 | -.208 | .094 | .214 | .238 | .065 | -.083 | .066 | .204 | 1.000 |
| | | Sig. (2-tailed) | .900 | .224 | .585 | .211 | .162 | .708 | .631 | .702 | .232 | . |
| | | N | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 | 36 |

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

***. Correlation is significant at the 0.001 level (2-tailed).

Figura 9- Correlações entre perguntas avulsas do MEDAS e pontuação total dos outros questionários de Saúde Mental e Física

3.5. Resultado da Microbiologia

Para a caracterização microbiológica, foram adotados critérios morfológicos rigorosos para análise das colónias isoladas, incluindo forma, borda, elevação, superfície, brilho, densidade, consistência e cor. Estes dados foram complementados pela coloração de Gram e testes específicos em meios seletivos, como o SDA, quando houve suspeita de presença de leveduras ou fungos.

A partir desta abordagem, foram identificados nove gêneros possíveis, os quais se repetiram em ambos os microbiomas avaliados. A seguir, detalham-se os principais resultados para cada isolado analisado:

1) Gênero provável: *Candida albicans*. Células ovais Gram-positivas com brotamento característico de levedura, confirmadas pelo crescimento positivo em meio seletivo SDA. A morfologia rizóide observada na placa é compatível igualmente.

Caracterização visual: colónia com morfologia rizoide, borda fimbriada, elevação bosselada, superfície rugosa, brilho fosco, densidade opaca, consistência quebradiça e ausência de pigmentação aparente, conforme apresentado pela Figura 15.

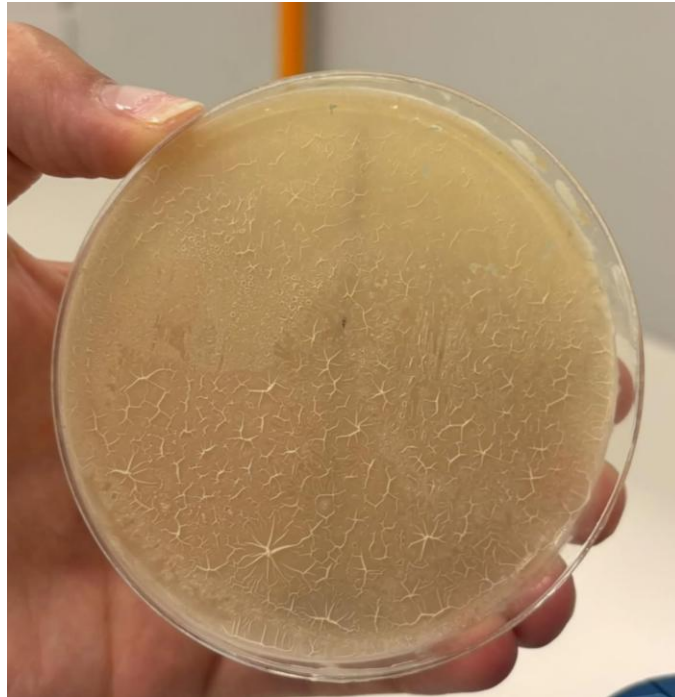


Figura 10-Placa MO-1. Descrição: colónia rizoide cultivada em TSA

Coloração de Gram: apesar de não adequada para fungos, foi possível a visualização de células ovais, Figura 16 e 17.

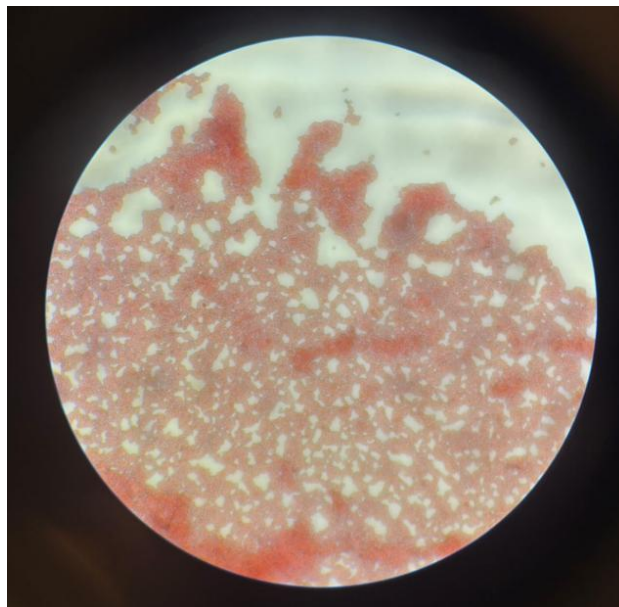


Figura 11-Placa MO-1. Descrição: imagem de microscopia aliada a coloração de Gram, na objetiva de 50x



Figura 12-Placa MO-1. Descrição: imagem de microscopia aliada a coloração de Gram, na objetiva de 100x

Teste em SDA: crescimento positivo, corroborando a suspeita de presença de levedura ou fungo presente no isolamento conforme visto na Figura 18.

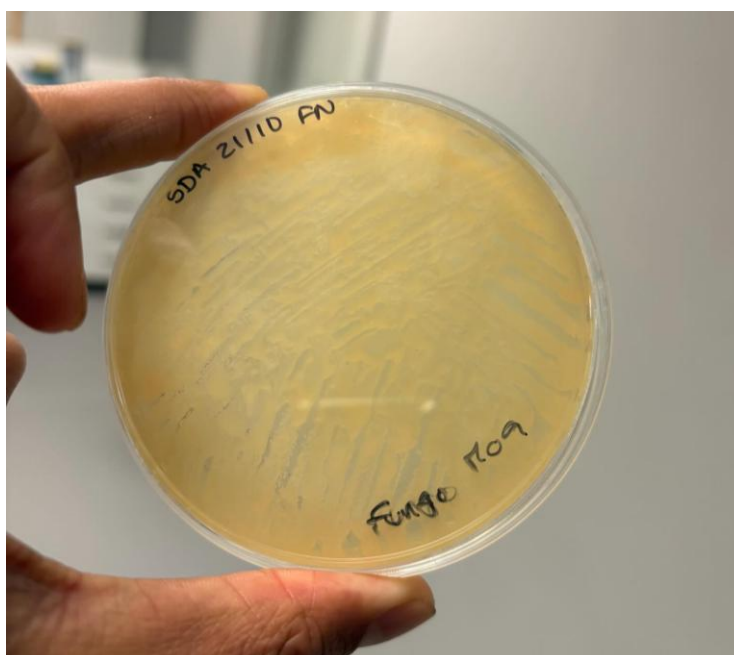


Figura 13- Placa MO-1. Descrição: crescimento positivo da colônia rizoide cultivada em SDA

2) Gênero provável: *Streptococcus spp*, provável *Streptococcus mutans* ou *Streptococcus sanguinis*. Pela identificação visual com cocos Gram-positivos somada morfologia de colônia característica de



estreptococos presentes no microbioma oral. Ambas as espécies são colonizadores precoces e residentes comensais da cavidade oral.

Caracterização visual: colónia puntiforme, borda inteira, elevação convexa, superfície lisa, brilho brilhante, densidade translúcida, consistência cremosa e ausência de pigmentação.

Coloração de Gram: gram-positivo. Cocos esféricos dispostos em pequenas cadeias, conforme abordado pela Figura 19.

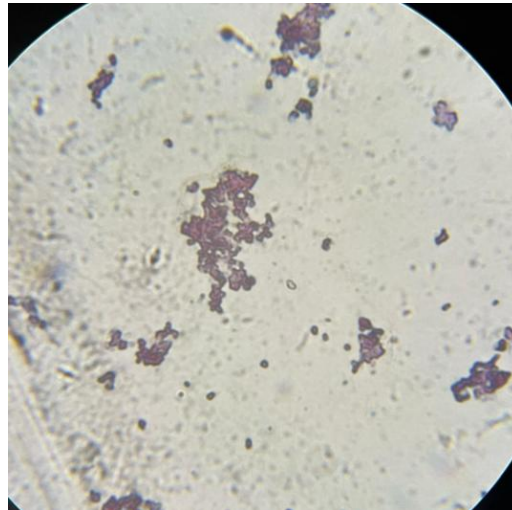


Figura 14- Placa MO-1 Colónia Puntiforme. Descrição: imagem de microscopia aliada a coloração de Gram, na objetiva de 100x

3) Gênero provável: *Staphylococcus spp.* (provável *Staphylococcus epidermidis*). A morfologia é indicativa de estafilococos. A presença de pigmentação nesta placa diferencia-a do isolado anterior (Estreptococos), sugerindo fortemente pertencimento ao gênero *Staphylococcus*. *S. epidermidis* é muito prevalente no microbioma oral como residente comensal e frequentemente isolada em ambientes orais saudáveis.

Caracterização visual: colónia circular, borda inteira, elevação convexa, superfície lisa, brilho brilhante, densidade translúcida, consistência cremosa e presença de pigmentação discreta, apresentado pela Figura 20.

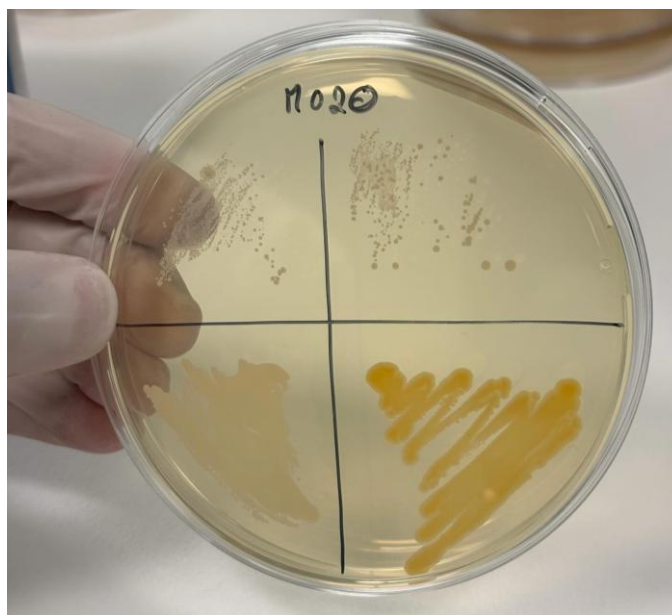


Figura 15- Placa MO-20 em TSA. Descrição: isolamento da placa MO-20 com a mesma colónia presente

Coloração de Gram: gram-positivo (Figura 21). Cocos esféricos dispostos em aglomerados irregulares (clusters)

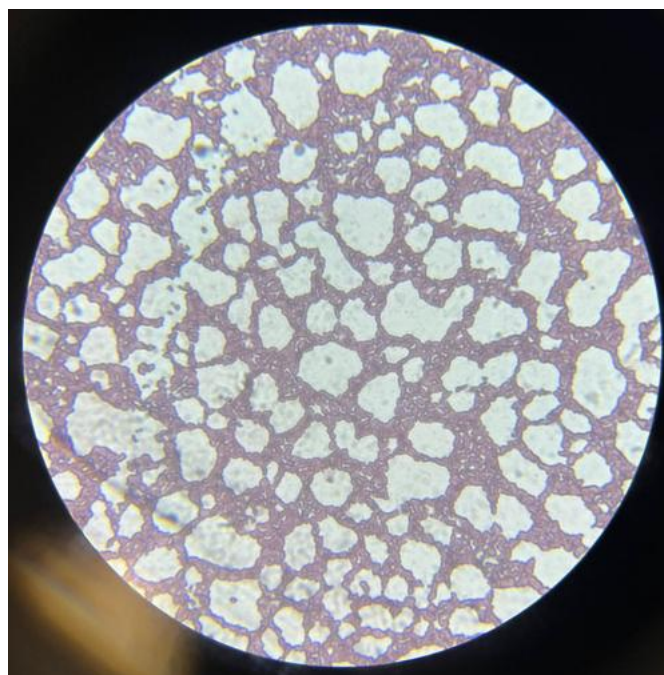


Figura 16- Placa MO-20 Colónia Circular com cor. Descrição: imagem de microscopia aliada a coloração de Gram, na objetiva de 100x

4) Gênero provável: *Streptococcus spp.* ou *coagulase-negativo Staphylococcus spp.* A distinção definitiva entre estes dois géneros clinicamente relevantes requer testes bioquímicos adicionais, como a



prova da catalase que é positiva para *Staphylococcus* e negativa para *Streptococcus*, que não foram realizados nesta fase. No entanto, a morfologia de cocos Gram-positivos é a característica definidora de ambos. Se a organização predominante observada foi em aglomerados irregulares semelhantes a cachos de uva, a probabilidade maior recai sobre *Staphylococcus spp.*, que são comensais ubíquos da pele e mucosas. Se a disposição fosse estritamente em cadeias, apontaria mais para *Streptococcus spp.*. Dada a sobreposição visual em algumas preparações, ambos permanecem como hipóteses diagnósticas válidas baseadas exclusivamente na microscopia.

Caracterização visual: colónia circular, borda inteira, elevação convexa, superfície lisa, brilho brilhante, densidade translúcida, consistência cremosa e ausência de pigmentação.

Coloração de Gram: gram-positivo (Figura 22). Cocos agrupados ou em pequenas cadeias, sem a presença de bastonetes ou filamentos ramificados.

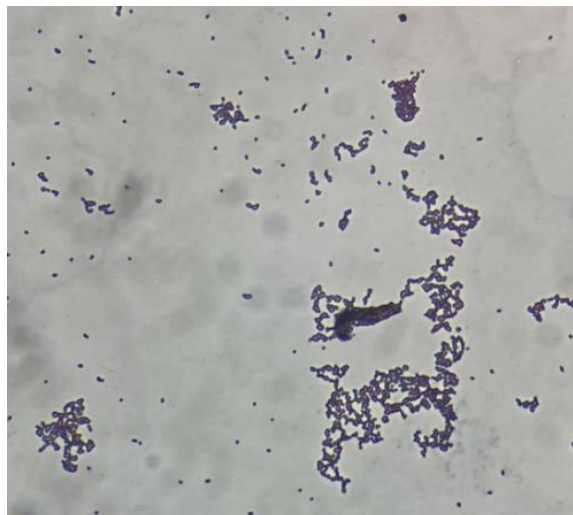


Figura 17- Placa MO-20 Colónia Circular sem cor. Descrição: imagem de microscopia aliada a coloração de Gram, na objetiva de 100x

5) Gênero provável: *Corynebacterium spp.* ou ainda *Actinomyces spp.*, provável *Corynebacterium matruchotii* ou *Corynebacterium durum*. A ausência de pigmentação, visualizada em placa, aliada a suas características morfológicas, visualizadas posteriormente ao teste de Gram, especialmente por serem bastonetes irregulares Gram-positivos frequentemente pleomórficos, apresentam forte indicação e características bactérias corineformes.

Caracterização visual: colónia irregular com borda serrilhada, espreada (crescimento radial disperso), superfície rugosa, brilho brilhante, densidade translúcida, consistência cremosa e ausência de pigmentação.



Coloração de Gram: gram-positivo (Figura 23). Bastonetes irregulares, frequentemente pleomórficos, com distribuição heterogênea.

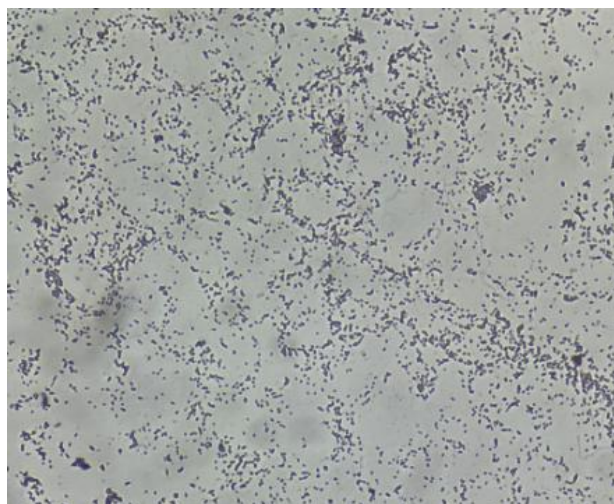


Figura 18-Placa MO-25 Colônia irregular sem cor. Descrição: imagem de microscopia aliada a coloração de Gram, na objetiva de 100x

6) Gênero provável: *Propionibacterium acnes* ou *Prevotella* spp. (provável *Prevotella melaninogenica* ou *pigmentada similar*). A presença de pigmentação conjuntamente com a morfologia da colônia é altamente indicativa de bactérias produtoras de pigmento. *Propionibacterium acnes* é um bacilo Gram-positivo pigmentado, residente oral e de pele, frequentemente isolado do microbioma oral. Alternativamente, *Prevotella melaninogenica* é uma espécie Gram-negativa pigmentada, na cavidade oral como colonizadora de superfícies mucosas. Ambas as espécies são comensais orais reconhecidas, porém, devido ao teste de Gram +, provavelmente é indicativo de *P. acnes*.

Caracterização visual: colônia circular, borda inteira, espraçada (crescimento radial disperso), superfície lisa, brilho brilhante, densidade translúcida, consistência cremosa e presença de pigmentação (amarelada ou discreta).

Coloração de Gram: gram-positivo (Figura 24). Bastonetes curtos, finos e pleomórficos, frequentemente em pequenos aglomerados.

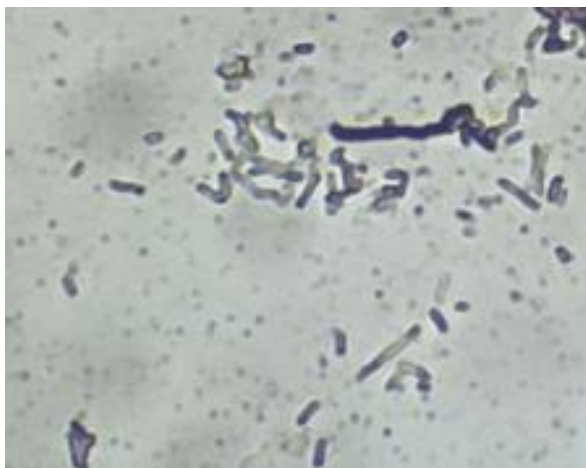


Figura 19–Placa MP-2 Colónia Circular com cor. Descrição: imagem de microscopia aliada a coloração de Gram, na objetiva de 100x

7) Gênero provável: *Lactobacillus spp.* (provável *Lactobacillus salivarius* ou *Lactobacillus crispatus*). Bastonetes Gram-positivos em disposição isolada ou pequenas cadeias, compatíveis com lactobacilo. A morfologia de colónia irregular, ondulada/espraiada, com superfície lisa, brilho fosco e densidade opaca é característica de *Lactobacillus spp.*, especialmente quando o crescimento é lento e em condições de microaerofilia. A ausência de pigmentação e a textura cremosa reforçam esse diagnóstico.

Caracterização visual: colónia irregular com borda ondulada/espraiada, superfície lisa, brilho fosco, densidade opaca, consistência cremosa e ausência de pigmentação. Aspecto de crescimento disperso e radial característico de lactobacilo em TSA.

Coloração de Gram: gram-positivo (Figura 25). Bastonetes finos, retos ou ligeiramente curvados, isolados ou em pequenas cadeias, sem brotamento ou estruturas filamentosas.

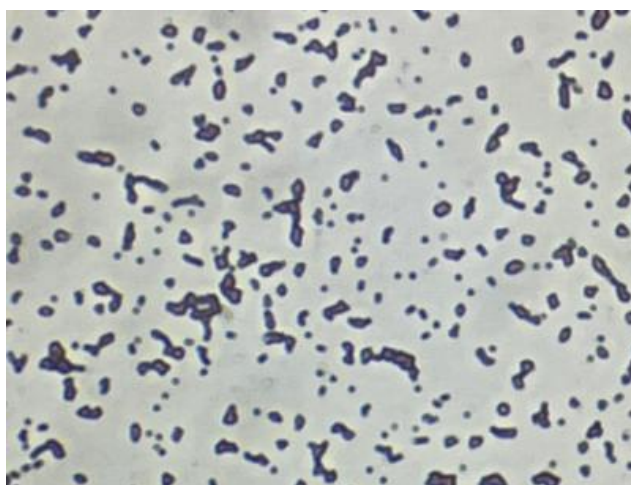


Figura 20–Placa MP-10. Descrição: imagem de microscopia aliada a coloração de Gram, na objetiva de 100x



8) Gênero provável: *Bacillus spp.* (provável *Bacillus subtilis* ou *Bacillus cereus*). Bastonetes Gram-positivos com presença de pigmentação amarela. A morfologia de colônia associada à presença de pigmentação amarelada, é altamente indicativa de espécies de *Bacillus*. *Bacillus subtilis* frequentemente produz colônias com coloração creme a amarela, especialmente em meios como TSA.

Caracterização visual: colônia circular, borda inteira, elevação convexa, superfície lisa, brilho brilhante, densidade translúcida, consistência cremosa e presença de pigmentação amarela/amarelada característica.

Coloração de Gram: gram-positivo (Figura 26). Bastonetes dispostos isoladamente ou em pequenas cadeias.

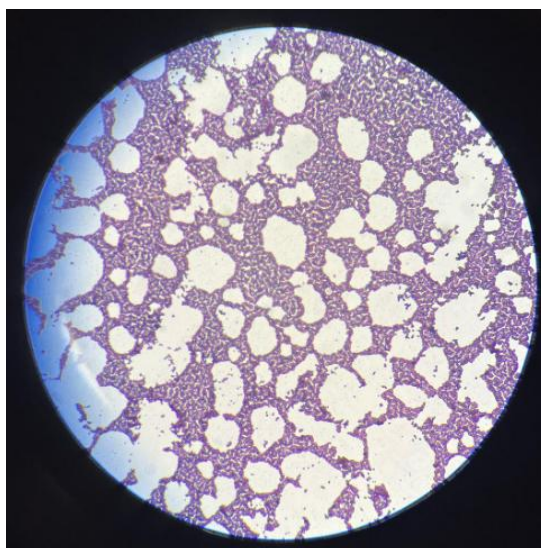


Figura 21-Placa MP-34. Descrição: imagem de microscopia aliada a coloração de Gram, na objetiva de 100x

9) Gênero provável: *Serratia marcescens*. Bastonetes Gram-negativos com produção de pigmento rosado/rosa-avermelhado. A pigmentação rosa característica é produto do metabolismo secundário de *Serratia marcescens*, especificamente da síntese de prodigiosina, um pigmento altamente característico. A morfologia de aliada à pigmentação rosa bem definida confirma de forma conclusiva o diagnóstico de *S. marcescens*. A presença em microbioma oral pode estar associada a condições específicas de disbiose ou comprometimento do sistema imune.

Caracterização visual: colônia circular, borda inteira, elevação convexa, superfície lisa, brilho brilhante, densidade translúcida, consistência cremosa e presença de pigmentação rosada/rosa-avermelhada intensamente característica (prodigiosina).



Coloração de Gram: gram-negativo (Figura 27). Bastonetes retos com extremidades arredondadas, dispostos isoladamente ou aos pares.



Figura 22- Placa MP-21 Colónia de coloração Rosa. Descrição: imagem de microscopia aliada a coloração de Gram, na objetiva de 100x

De forma a sintetizar os achados microbiológicos obtidos na cavidade oral, a Tabela 4 apresenta de forma resumida os principais grupos morfológicos observados em cultura e os respetivos géneros bacterianos/fúngicos possíveis, tal como já descrito na secção de Resultados, sem pretensão de identificação definitiva ao nível de espécie.

| Grupo morfológico (MO) | Possíveis géneros |
|--|--|
| Leveduras | <i>Candida spp.</i> |
| Cocos Gram-positivos em cadeias | <i>Streptococcus spp.</i> |
| Cocos Gram-positivos em cachos | <i>Staphylococcus spp.</i> |
| Cocos Gram-positivos | <i>Streptococcus spp. ou Staphylococcus spp.</i> |
| Bacilos Gram-positivos irregulares, pleomórficos | <i>Corynebacterium spp. ou Actinomyces spp.</i> |

Tabela 4-Possíveis géneros do microbioma oral

De modo semelhante, a Tabela 5 resume os grupos morfológicos identificados nas amostras cutâneas e os possíveis géneros microbianos possíveis associados a esses perfis, salientando que se trata apenas de atribuições presuntivas baseadas em morfologia de colónia e coloração de Gram.



| Grupo morfológico (MP) | Possíveis géneros |
|--|--|
| Cocos Gram-positivos em cachos | <i>Propionibacterium spp. ou Prevotella spp.</i> |
| Bacilos Gram-positivos | <i>Lactobacillus spp.</i> |
| Bacilos Gram-positivos com pigmentação amarela | <i>Bacillus spp.</i> |
| Bacilos Gram-negativos com pigmento rosa/avermelhado | <i>Serratia spp.</i> |

Tabela 5-Possíveis géneros do microbioma da pele

Vale ressaltar que todos os géneros microbianos citados se repetiram entre MO e o MP, com exceção da colónia de coloração rosa, observada exclusivamente em MP e compatível, de forma presuntiva, com *Serratia spp.* Entretanto, demais testes bioquímicos e de sequenciamento devem ser utilizados para de fato poder comprovar a suspeita dos géneros apresentados, não sendo possível ainda, a extrapolação dos mesmo a caracterização do microbioma. Além disso, a distinção entre MO e MP na apresentação dos resultados decorreu apenas da origem da amostra após o crescimento isolado em cultura, uma vez que os perfis morfológicos encontrados se sobrepõem. Ainda assim, o MP indicou ter possível maior variedade e coexistência de diferentes colónias na mesma amostra, quando comparado ao MO, sugerindo uma composição cultivável mais heterogénea na pele do que na cavidade oral.

3.5.1. Contagem de UFC de Bactérias

A avaliação quantitativa da Unidades Formadoras de Colónias (UFC) foi realizada através da cultura direta das 47 amostras, processadas em duplicado e sem etapas prévias de diluição seriada. Esta abordagem metodológica, embora limite a quantificação absoluta em amostras de alta densidade, permitiu uma comparação direta da abundância relativa de biomassa entre os dois microbiomas investigados. Os resultados evidenciaram que no MO houve uma saturação massiva das placas de cultura, onde 95,8% das amostras (n=45) apresentaram crescimento acima de 200 colónias, sendo classificadas como incontáveis. Apenas uma fração residual de 4,2% (n=2) permitiu a individualização e contagem de UFC.

Em contraste, o microbioma da pele (MP) demonstrou uma biomassa significativamente inferior, com 91,5% das amostras (n=43) a apresentarem colónias perfeitamente isoladas e passíveis de contagem



precisa dentro dos limites da placa. Apenas 8,5% (n=4) das amostras cutâneas exibiram crescimento confluyente. Esta disparidade nos perfis de MO e MP, valida biologicamente a distinção entre os dois nichos, com a cavidade oral servindo de potencial reservatório de alta densidade e a pele como um ambiente mais hostil e de menor biomassa, confirmando que o protocolo de sementeira direta, apesar de saturar as amostras orais, foi eficaz para demonstrar a magnitude da diferença de carga microbiana existente entre estes dois habitats humanos.

3.5.2. Presença de Leveduras

A pesquisa de elementos fúngicos, especificamente leveduras, revelou uma presença diferencial entre os dois nichos anatómicos estudados. No MO, a colonização mostrou-se quase universal, com a detecção de crescimento positivo em 46 das 47 amostras analisadas, o que corresponde a uma taxa de prevalência de 97,9%. Este dado destaca a cavidade oral como um reservatório primário e consistente para comunidades fúngicas nesta população.

Comparativamente, o MP apresentou uma frequência de isolamento inferior, embora ainda de relevância. Foi observado crescimento positivo em 32 das 47 amostras, traduzindo-se numa taxa de prevalência de 68,1%. Em termos comparativos, a frequência de colonização por leveduras foi aproximadamente 30% superior no ambiente oral em relação ao cutâneo, evidenciando uma diferença estatisticamente relevante na distribuição destes microrganismos.

Estes resultados quantitativos corroboram a observação direta de que, embora ambos os tecidos suportem comunidades fúngicas, a cavidade oral oferece condições ecológicas que favorecem uma colonização mais estável e disseminada do que a pele. A análise comparativa das taxas de recuperação (97,9% vs 68,1%) documenta, através dos dados obtidos, a hierarquia de colonização fúngica entre mucosas e epitélio queratinizado na amostra.

4. Discussão

O presente estudo exploratório teve como objetivo caracterizar o estado de saúde de uma população jovem universitária pelos dados dos questionários de saúde física e mental aliados ao perfil antropométrico e microbiológico condizente a MO e MP, e assim, investigando possíveis correlações entre os parâmetros usados. A análise integrada dos dados revelou um cenário de elevada complexidade, onde a heterogeneidade dos perfis microbianos coexiste com padrões de ansiedade e hábitos de vida, provavelmente, específicos desta população jovem académica. Os resultados obtidos não só corroboram a distinção ecológica fundamental entre os nichos estudados, mas também sugerem



conexões funcionais relevantes entre a composição corporal, o bem-estar psicológico e a homeostase microbiana, alinhando-se com a hipótese emergente de que a saúde global resulta de um equilíbrio dinâmico entre o hospedeiro e os seus simbioses.

4.1. Perfil Sociodemográfico e Antropométrico

A amostra inicial de 55 participantes revelou um perfil sociodemográfico que expõe aspetos comportamentais e contextuais de relevância para a compreensão das dinâmicas entre saúde mental, composição corporal e ecologia microbiana. A distribuição por género evidencia predominância feminina de 74,5% versus 25,5% de participantes do sexo masculino, com todos os indivíduos identificando-se com o género atribuído ao nascimento, refletindo um padrão comum em programas de formação em saúde em Portugal. Apenas 9% da amostra (n=5) representa população imigrante, exclusivamente originária do Brasil, sugerindo homogeneidade étnico-cultural que, embora limite generalizações transculturais, minimiza variáveis de confundimento relacionadas a adaptação a novos ambientes ou choques dietéticos agudos.

A faixa etária da amostra concentra-se entre 18–36 anos, com 40% dos participantes situados entre 20–22 anos, representando o período crítico de consolidação de identidade adulta e estabelecimento de padrões de vida duradouros, incluindo padrões alimentares, exercício físico e regulação do stress, fatores conhecidamente modeladores do microbioma e da saúde mental em períodos posteriores da vida adulta (Lee et al., 2022). Adicionalmente, 61,8% dos participantes reportaram possuir animais de estimação no lar domiciliar, facto que merece atenção por potencial influência na exposição microbiana ambiental e horizontal, mediada pelo contacto íntimo com animais que albergam microbiomas distintos e complexos. O contexto socioeconómico revela concentração em agregados familiares nucleares de 3–5 membros, com distribuição de rendimento concentrada em escalões superiores: 38,2% reportaram rendimento acima de 5 salários mínimos nacionais e 29,1% entre 3–5 salários, refletindo acesso a recursos financeiros que favorece alimentação diversificada e possibilidade de práticas de higiene pessoal sistemáticas.

O histórico familiar de saúde revelou que 41,8% dos participantes reportaram possuir pelo menos um parente de primeiro grau com diagnóstico de doença crónica, predominantemente hipertensão arterial sistémica e diabetes mellitus, seguidas por condições autoimunes/reumáticas. Esta carga genética ou familiar potencialmente aumentada de morbilidade metabólica e inflamatória poderá predispor a variações na composição corporal ou perfis inflamatórios sistémicos que possuem potencial de modular o microbioma. Complementarmente, 47,3% da amostra não utiliza qualquer medicação prescrita,



enquanto 23,3% faz uso de contraceptivos hormonais e 7,3% utiliza antidepressivos, indicando que uma parcela relevante se encontra medicada para condições psiquiátricas ou de regulação endócrina, ambas potencialmente moduladoras do microbioma e metabolismo.

A avaliação antropométrica revelou que a população estudada apresenta, em sua maioria, composição corporal dentro dos parâmetros esperados para jovens adultos saudáveis. O índice de massa corporal (IMC) médio de 24,2 kg/m² situa-se no limite superior da categoria de normalidade (18,5–24,9 kg/m²), indicando um perfil geral de eutrofia, embora com variabilidade individual notável. A massa muscular esquelética mostrou diferenças marcadas entre sexos, como esperado biologicamente, com o grupo masculino apresentando média de 34,1 ± 5,1 kg e o grupo feminino de 24,3 ± 3,4 kg. Esta distribuição reflete as diferenças hormonais e fisiológicas intrínsecas, sendo estes valores consistentes com os descritos em literatura para populações universitárias europeias de idade similar (Dare et al., 2017; Lombardo et al., 2024).

De particular interesse é a percentagem de gordura corporal observada. O grupo feminino apresentou média de 30,2% ± 7,5%, enquanto o grupo masculino registou 18,5% ± 7,6%. Embora estas médias se encontrem dentro de intervalos de referência para adultos jovens (feminino: 18–25%; masculino: 10–20%), existe uma proporção relevante de participantes, especialmente mulheres, apresentando valores acima do recomendado para manutenção de saúde metabólica ótima. Este achado é particularmente relevante quando considerado em contexto com os padrões de ansiedade e depressão identificados na amostra, sugerindo potenciais interações entre composição corporal, regulação metabólica e saúde mental que justificam investigação mais aprofundada.

A homogeneidade etária e o contexto académico comum dos participantes minimizam variáveis de confundimento relacionadas a etapa de vida e *background* educacional, fortalecendo a validade interna do estudo para investigação de relações causais preliminares. Porém, a predominância feminina (74,5%) pode introduzir viés de sexo em associações com saúde mental, particularmente para ansiedade, que historicamente apresenta prevalências elevadas em mulheres jovens (Afonso Junior et al., 2020). Os resultados apresentados devem, portanto, ser interpretados com este contexto em mente.

4.2. Questionários, correlações e associações

A análise de correlações bivariadas por *Spearman* revelou um padrão complexo de relações entre os constructos psicológicos, comportamentais e antropométricos investigados, onde a presença de correlações significativas ocorreu de forma seletiva e, em alguns casos, contra-intuitiva em relação às hipóteses da literatura existente.



A correlação mais robusta e teoricamente esperada foi observada entre as pontuações totais de depressão (PHQ-9) e ansiedade (GAD-7), apresentando uma correlação positiva forte e altamente significativa ($\rho = 0,739$; $p < 0,001$), com um coeficiente de determinação $R^2 = 0,646$. Este achado está completamente alinhado com a literatura psiquiátrica contemporânea que reconhece depressão e ansiedade como construtos frequentemente comórbidos, mediados por mecanismos neurobiológicos compartilhados incluindo disfunção do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e alterações na neurotransmissão serotoninérgica e gabaérgica (Choi et al., 2020). A possibilidade de extrapolação linear (Depressão = $3,241 + 0,872 \times$ Ansiedade) permite predizer com certa precisão os níveis de depressão baseado nas medidas de ansiedade, sendo este um achado clinicamente relevante para rastreio e acompanhamento de estudantes universitários em ambientes de alto estresse.

Contrariamente às expectativas derivadas da literatura que sugere associações entre excesso de peso e sintomatologia depressiva (Choi et al., 2020), não foram identificadas correlações significativas entre a pontuação total do PHQ-9 e variáveis antropométricas de composição corporal. Este padrão de não-associação pode refletir várias possibilidades: (i) a homogeneidade etária e o contexto académico específico podem ser diferentes da população geral; (ii) uma amostra de apenas 36 participantes pode ser insuficiente para detectar correlações moderadas quando presentes; ou (iii) a população estudada pode representar um grupo relativamente resiliente, onde fatores como acesso a suporte social e institucional atenuam as associações esperadas entre peso corporal e humor deprimido. Este resultado, embora negativo, é tão informativo quanto positivo, sugerindo que nesta população específica, estratégias de melhoria de saúde mental não devem focar primariamente em redução de peso corporal como mecanismo direto de melhoria psicológica.

Particularmente notável foi a identificação de uma correlação negativa moderada e estatisticamente significativa entre sintomatologia ansiosa (GAD-7) e massa muscular esquelética ($\rho = -0,368$; $p = 0,027$). Este achado revela que participantes com maior quantidade absoluta de massa muscular apresentaram pontuações significativamente inferiores de ansiedade. Este resultado é biologicamente plausível e alinha-se com mecanismos conhecidos através dos quais o exercício físico estruturado e a construção de massa muscular produzem efeitos ansiolíticos via: (a) liberação de endorfinas e endocanabinoides durante contração muscular; (b) redução de biomarcadores inflamatórios sistémicos associados à ansiedade; (c) melhoria na regulação do eixo HPA; e (d) incremento em autoeficácia e bem-estar psicológico através de sensação de controle corporal (Gupta et al., 2024). A ausência de correlação similar entre massa muscular e depressão ($\rho = -0,216$, $p = 0,205$) é menos comum na literatura, podendo sugerir que ansiedade e depressão respondem diferentemente a variações em composição corporal em



populações jovens, ou que mecanismos distintos guiam estas relações, por exemplo, cognitivo-comportamentais para depressão versus fisiológicos para ansiedade.

Complementando este achado, o nível de atividade física (IPAQ, expresso em MET-minutos/semana) correlacionou-se positiva e moderadamente com massa muscular esquelética ($\rho = 0,398$; $p = 0,016$), validando que o instrumento IPAQ reflete, de facto, diferenças reais em composição corporal. Este padrão de correlação reforça a validade convergente dos questionários utilizados e sustenta que participantes com maior gasto energético habitual apresentam, provavelmente, maior musculatura. O facto de IPAQ correlacionar significativamente com massa muscular ($p = 0,016$), mas não com % gordura corporal ($\rho = -0,311$, $p = 0,065$) sugere que em indivíduos jovens, o exercício físico associa-se mais fortemente a incrementos de massa magra do que a redução de gordura, possivelmente refletindo anabolismo preferencial em contexto de consumo energético adequado e fisiologia da idade.

Quando avaliada a correlação entre IPAQ e ansiedade (GAD-7), observou-se uma tendência negativa moderada ($\rho = -0,368$, $p = 0,027$). Isto indica que maior atividade física tende a associar-se com menores níveis de ansiedade. Contudo, esta associação pode ser mediada primariamente pela massa muscular, conforme sugerido pela estrutura das correlações observadas (IPAQ \rightarrow Músculo \rightarrow Ansiedade reduzida), ao invés de um efeito direto do exercício independente de ganho muscular.

No que respeita aos padrões alimentares, a adesão à dieta mediterrânea (MEDAS, média = $5,96 \pm 2,61$ pontos) não apresentou correlações significativas com variáveis de saúde mental (vs. PHQ-9: $\rho = 0,158$, $p = 0,359$; vs. GAD-7: $\rho = 0,157$, $p = 0,360$) ou composição corporal (vs. % Gordura: $\rho = 0,183$, $p = 0,286$; vs. IMC: $\rho = 0,087$, $p = 0,618$). Este padrão de não-associação é surpreendente à luz de evidências crescentes que relacionam a adesão à dieta mediterrânea com melhores desfechos em saúde mental e metabólica (Augimeri et al., 2024). As possíveis explicações incluem: (i) a variabilidade reduzida nas pontuações MEDAS (43,6% em adesão baixa, 49,1% moderada, apenas 7,3% alta), sugerindo que a população estudada é relativamente homogénea em padrões de baixo e moderado de adesão, reduzindo o poder para detectar correlações; (ii) a amostra reduzida ($n=36$) pode ser insuficiente para detectar efeitos moderados de nutrição em saúde psicológica, que frequentemente emergem em estudos com amostras maiores; (iii) o contexto universitário pode ser, por exemplo, tão estressante que sobreponha efeitos protetores da nutrição; (iv) o instrumento MEDAS, embora validado, baseia-se em autorrelato e pode subestimar consumo real de componentes benéficos (ex: azeite, frutas) ou superestimar adesão no contexto específico da amostra estudada.

Apesar destas não-significâncias, explorações item-específicas revelaram padrões interessantes. A variável "Quantas vezes por semana consome sobremesas doces, bolachas e bolos de pastelaria?"



correlacionou-se significativamente com a adesão total ao MEDAS ($\rho = 0,546$; $p < 0,001$), indicando alta coerência interna do questionário: indivíduos que relatam menor consumo de doces tendem a apresentar pontuações totais MEDAS mais elevadas. Similarmente, consumo de "Quantas porções de manteiga, margarina ou natas consome por dia?" correlacionou-se com MEDAS total ($\rho = 0,359$; $p = 0,031$). Estas correlações são conceitualmente esperadas se o questionário está adequadamente estruturado, com itens invertidos. De forma semelhante, o consumo de refrigerantes açucarados mostrou correlação esperada positiva com MEDAS total ($\rho = 0,546$, $p < 0,001$), indicando coerência interna do instrumento, onde menor consumo de bebidas açucaradas (que pontua 1) associa-se a maior adesão global à dieta mediterrânea.

A ausência de correlação entre MEDAS e antropometria, particularmente com percentagem de gordura corporal, é potencialmente preocupante. Esperava-se que maior adesão à dieta mediterrânea se relacionasse com menor percentagem de gordura corporal, conforme extensivamente documentado na literatura (Lopes et al., 2023). Este resultado nesta amostra pode refletir a capacidade de jovens adultos em compensar ingestões calóricas desajustadas através de gasto energético elevado, ou indicar que a variação individual em absorção, metabolismo e distribuição de gordura supera o efeito direto do consumo alimentar autorrelatado neste período etário específico. Recomenda-se, em estudos futuros, integração de métodos mais refinados como recordatório de 24 horas ou diários alimentares prospectivos complementados por elementos nutricionais específicos (ex: vitaminas, minerais, ácidos graxos ômega-3). Por fim, observou-se que MEDAS total não correlacionou significativamente com IPAQ ($\rho = -0,010$, $p = 0,953$), sugerindo que nesta população, hábitos alimentares e atividade física operam de forma independente. Este padrão contrasta com achados epidemiológicos que frequentemente observam correlação positiva entre estilo de vida saudável integrado (Lopes et al., 2023). A independência observada pode refletir dinâmicas específicas do ambiente académico, onde estudantes podem ser simultaneamente sedentários e desnutridos, ou ativos mas com consumo alimentar desorganizado, resultando em ausência de correlação agregada.

Em síntese, os dados de correlações revelam um panorama onde a relação entre massa muscular, ansiedade e atividade física emerge como o eixo mais robusto e biologicamente interpretável, enquanto associações esperadas entre nutrição, composição corporal e saúde mental não atingem significância nesta amostra específica. Este padrão pode refletir tanto limitações de potência estatística quanto dinâmicas etárias/contextuais específicas de populações universitárias jovens, onde mecanismos de homeostase metabólica e resiliência psicológica podem ser ainda suficientemente robustos para amortecer o impacto direto de variações moderadas em dieta e peso corporal. Os achados reforçam a



relevância de estudos longitudinais, com amostras ampliadas e coletas repetidas, para elucidação das trajetórias pelas quais microbioma, composição corporal, nutrição e saúde mental se entrelaçam ao longo do desenvolvimento adulto inicial.

4.3. Microbioma Oral e da Pele

Os resultados microbiológicos revelam um perfil de microbiota oral e cutânea em jovens universitários que, embora limitado ao método, apresenta padrões consistentes com a microbiota comensal descrita na literatura para populações saudáveis (Grice et al., 2009). A observação de que todos os géneros microbianos identificados na cavidade oral se repetiram nas amostras cutâneas, com exceção da colónia pigmentada de cor rosa (presuntivamente *Serratia spp.*, exclusiva de MP), sugere uma transição microbiana entre nichos que reflete a dinâmica de contacto constante entre mãos e boca, bem como a disseminação de microrganismos através da secreção sebácea e sudorípara. A presença de leveduras compatíveis com *Candida spp.* em ambos os locais, reforça este padrão de coexistência, sendo *Candida* um comensal frequente da mucosa oral que pode colonizar transitivamente a pele.

A pele apresentou maior variedade de combinações morfológicas e coexistência de diferentes colónias na mesma amostra quando comparada à cavidade oral, sugerindo uma composição cultivável mais heterogénea. Este achado está alinhado com estudos que descrevem a pele como um ecossistema mais diverso devido à sua exposição ambiental variada e microclimas distintos (seco, úmido, sebáceo), que selecionam comunidades microbianas específicas (Grice et al., 2009). A cavidade oral, por sua vez, revelou uma carga microbiana mais elevada em termos de contagem de UFC, mas associada a um espectro menos diverso de morfologias, refletindo a biologia da boca, onde a densidade celular é superior devido principalmente à disponibilidade constante de nutrientes (Deo & Deshmukh, 2019). A presença de *Propionibacterium spp.* ou *Prevotella spp.*, pode ser justificada pela preferência destes géneros por ambientes anaeróbicos e lipídicos típicos dos folículos pilosos, sendo *Propionibacterium acnes* um componente dominante da microbiota cutânea saudável descrito na literatura (Grice et al., 2008, 2009). A sobreposição de perfis entre MO e MP, particularmente a presença de *Candida* em ambos, pode servir como biomarcador de exposição comportamental e ambiental, além de que a colónia rosa, presuntiva de *Serratia*, que somente se desenvolveu em MP, pode ser um diferenciador promissor entre os nichos microbianos. Caso seja comprovada por testes posteriores, como de catalase, oxidase e dnase principalmente, este e outros achados descritos, apontam para uma direção a futuros estudos relacionados.



Vale ressaltar, que os resultados discutidos, indicam uma representação incompleta da verdadeira diversidade microbiana através de abordagens culturais convencionais, indicando a necessidade de complementação por sequenciação de alto rendimento (16S rRNA) nas fases subsequentes de investigação.

4.4. Limitações

O presente estudo apresenta limitações que merecem ser reconhecidas para adequada interpretação dos achados e orientação de trabalhos futuros, em especial por assentar-se em autorrelato de uma população universitária muito jovem, com reduzida experiência culinária e baixa literacia em porções e medidas, o que amplia viés de recordação e erro de mensuração, sobretudo a respeito do questionário dietético (MEDAS-7) e certa parte da atividade física (IPAQ), podendo subestimar ou superestimar associações com desfechos clínicos e microbiológicos.

A amostra estudada representa estudantes de uma única instituição, limita a generalização externa e reduz o poder para detectar efeitos e realizar estratificações por sexo, exposição a fármacos, contacto com animais, hábitos de higiene e outras covariáveis pertinentes, recomendando-se amostras ampliadas e multicêntricas em fases subsequentes. No componente laboratorial, a fase de cultura (TSA/TSB, 35 °C) privilegia organismos aeróbios de crescimento rápido e não captura adequadamente anaeróbios restritos, limitando os achados e representatividade de frações possivelmente relevantes da microbiota oral e cutânea e favorece supercrescimento com placas não contáveis, dificultando estimativas precisas de UFC e o isolamento de espécies minoritárias.

Embora a duplicação operacional por dois mestrados tenha mitigado erros operador-dependentes, persistem fontes de variabilidade relacionadas à pressão e trajetória das zaragoas, tempo até a semeadura, volumes inoculados, lotes de meios e microambiente de incubação, suscetíveis de impactar a reprodutibilidade interplacas e a comparabilidade entre sítios anatómicos. A ausência de um processo metodológico amplamente padronizado para estudos integrados de microbioma de boca e pele dificulta a reprodutibilidade total e a análise entre estudos, tornando imprescindível a futura harmonização de critérios. Adicionalmente, a caracterização aqui reportada descreve apenas a fração cultivável do ecossistema microbiano, sendo imprescindível a etapa de sequenciação (16S/*shotgun*), o controlo rigoroso de contaminantes, normalização por carga total e integração bioinformática com metadados para, só então, propor perfis que contemplem de fato a realidade. Por fim, a adesão diferencial a rotinas pré-colheita (escovagem/banho, uso de enxaguantes e cosméticos, refeições recentes) pode ter variado



entre participantes, influenciando a carga microbiana imediata; protocolos de abstinência e janelas de washout mais estritas são recomendáveis para mitigar este viés nas próximas rondas de coleta.



5. Conclusão

O presente estudo constitui uma contribuição pioneira para a caracterização integrada dos ecossistemas orais e cutâneos numa população universitária, estabelecendo uma correlação observável entre a composição destas comunidades microbianas e indicadores críticos de saúde física e mental. Os resultados obtidos confirmam a existência de uma heterogeneidade marcante na biomassa e diversidade entre os nichos, validando o papel do microbioma não como um espectador passivo, mas como um potencial bioindicador de estados fisiológicos alterados. A identificação de padrões de colonização diferenciais, com destaque para a elevada prevalência fúngica e a variabilidade da carga bacteriana, sugere que o ambiente académico, frequentemente associado a elevados níveis de estresse e alterações de estilo de vida, inclusive alimentar, poderá exercer uma pressão modeladora sobre estes microbiomas periféricos, criando possíveis assinaturas microbianas específicas associadas a quadros de ansiedade e composição corporal.

Mais do que uma simples caracterização descritiva, este trabalho posiciona o microbioma como um elo plausível na compreensão das comorbidades físico-psiquiátricas. Ao demonstrar associações entre perfis microbianos e pontuações de saúde mental, o estudo reforça a hipótese do eixo microbioma-intestino-cérebro estendendo-se a barreiras epiteliais externas, onde a disbiose oral ou cutânea poderá refletir ou até exacerbar inflamações sistémicas subjacentes. Esta perspetiva valida a relevância de monitorar não apenas parâmetros clínicos tradicionais, mas também a ecologia microbiana destes estudantes, servindo este projeto como vanguarda para uma abordagem que integra a microbiologia na avaliação do bem-estar estudantil.

Em última análise, estas descobertas somam para uma nova era de investigação translacional e medicina personalizada. A transição futura para estudos longitudinais e a integração de dados multi-ómicos permitirão preencher as lacunas funcionais aqui identificadas, clarificando como clusters microbianos específicos influenciam a saúde global ao longo do tempo. Este conhecimento fundamentará o desenvolvimento de intervenções terapêuticas inovadoras, como o uso direcionado de psicobióticos, prebióticos ou modeladores do microbioma, visando não apenas tratar a disbiose, mas utilizá-la como ferramenta ativa para a promoção da saúde e otimização metabólica. Assim, o microbioma deixa de ser apenas um objeto de estudo biológico para se tornar um alvo terapêutico tangível na melhoria da qualidade de vida da população académica



Referências Bibliográficas

- Aagaard, K., Petrosino, J., Keitel, W., Watson, M., Katancik, J., Garcia, N., Patel, S., Cutting, M., Madden, T., Hamilton, H., Harris, E., Gevers, D., Simone, G., McInnes, P., & Versalovic, J. (2013). The Human Microbiome Project strategy for comprehensive sampling of the human microbiome and why it matters. *The FASEB Journal*, 27(3), 1012–1022. <https://doi.org/10.1096/fj.12-220806>
- Afonso Junior, A., Portugal, A. C. de A., Landeira-Fernandez, J., Bullón, F. F., Santos, E. J. R. dos, Vilhena, J. de, & Anunciação, L. (2020). Depression and Anxiety Symptoms in a Representative Sample of Undergraduate Students in Spain, Portugal, and Brazil. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, 36, e36412. <https://doi.org/10.1590/0102.3772e36412>
- Augimeri, G., Caparello, G., Caputo, I., Reda, R., Testarelli, L., & Bonofiglio, D. (sem data). Mediterranean diet: A potential player in the link between oral microbiome and oral diseases. *Journal of Oral Microbiology*, 16(1), 2329474. <https://doi.org/10.1080/20002297.2024.2329474>
- Baquero, F., & Nombela, C. (2012). The microbiome as a human organ. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 18 Suppl 4, 2–4. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03916.x>
- Basilicata, M., Pieri, M., Marrone, G., Nicolai, E., Di Lauro, M., Paolino, V., Tomassetti, F., Vivarini, I., Bollero, P., Bernardini, S., & Noce, A. (2023). Saliva as Biomarker for Oral and Chronic Degenerative Non-Communicable Diseases. *Metabolites*, 13(8), 889. <https://doi.org/10.3390/metabo13080889>
- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M.-C. C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G. H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J. A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., ... Schloter, M. (2020). Microbiome definition re-visited: Old concepts and new challenges. *Microbiome*, 8(1), 103. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>



- Chandra Nayak, S., Latha, P. B., Kandanattu, B., Pypmallil, U., Kumar, A., & Kumar Banga, H. (sem data).
The Oral Microbiome and Systemic Health: Bridging the Gap Between Dentistry and Medicine.
Cureus, 17(2), e78918. <https://doi.org/10.7759/cureus.78918>
- Choi, K. W., Kim, Y.-K., & Jeon, H. J. (2020). Comorbid Anxiety and Depression: Clinical and Conceptual
Consideration and Transdiagnostic Treatment. *Advances in Experimental Medicine and Biology*,
1191, 219–235. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9705-0_14
- Clauss, M., Gérard, P., Mosca, A., & Leclerc, M. (2021). Interplay Between Exercise and Gut Microbiome in
the Context of Human Health and Performance. *Frontiers in Nutrition*, 8.
<https://doi.org/10.3389/fnut.2021.637010>
- Craig, C. L., Marshall, A. L., Sjöström, M., Bauman, A. E., Booth, M. L., Ainsworth, B. E., Pratt, M., Ekelund, U.,
Yngve, A., Sallis, J. F., & Oja, P. (2003). International physical activity questionnaire: 12-country
reliability and validity. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 35(8), 1381–1395.
<https://doi.org/10.1249/01.MSS.0000078924.61453.FB>
- Dare, C., Viebig, R. F., & Batista, N. S. P. (2017). Avaliação da composição corporal e dos componentes da
dieta mediterrânea em universitários brasileiros e europeus. *RBONE - Revista Brasileira de
Obesidade, Nutrição e Emagrecimento*, 11(67), 557–566.
- Deo, P. N., & Deshmukh, R. (2019). Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *Journal of Oral and
Maxillofacial Pathology: JOMFP*, 23(1), 122–128.
https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_304_18
- Ferdous, T., Jiang, L., Dinu, I., Groizeleau, J., Kozyrskyj, A. L., Greenwood, C. M. T., & Arrieta, M.-C. (2022).
The rise to power of the microbiome: Power and sample size calculation for microbiome studies.
Mucosal Immunology, 15(6), 1060–1070. <https://doi.org/10.1038/s41385-022-00548-1>
- Glenna, S., Birkeland, E. E., Orr, R. J. S., Gilfillan, G. D., Dalland, M., Økstad, O. A., Voie, Ø. A., & Rounge, T. B.
(sem data). Skin bacterial community dynamics of hands and forearms before and after military



field exercise. Microbiology Spectrum, 13(5), e02953-24.

<https://doi.org/10.1128/spectrum.02953-24>

Grice, E. A., Kong, H. H., Conlan, S., Deming, C. B., Davis, J., Young, A. C., Bouffard, G. G., Blakesley, R. W., Murray, P. R., Green, E. D., Turner, M. L., & Segre, J. A. (2009). Topographical and Temporal Diversity of the Human Skin Microbiome. *Science (New York, N.Y.)*, 324(5931), 1190–1192. <https://doi.org/10.1126/science.1171700>

Grice, E. A., Kong, H. H., Renaud, G., Young, A. C., Bouffard, G. G., Blakesley, R. W., Wolfsberg, T. G., Turner, M. L., & Segre, J. A. (2008). A diversity profile of the human skin microbiota. *Genome Research*, 18(7), 1043–1050. <https://doi.org/10.1101/gr.075549.107>

Gualtero, D. F., Lafaurie, G. I., Buitrago, D. M., Castillo, Y., Vargas-Sanchez, P. K., & Castillo, D. M. (2023). Oral microbiome mediated inflammation, a potential inductor of vascular diseases: A comprehensive review. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 10, 1250263. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1250263>

Gupta, S., Bharatha, A., Cohall, D., Rahman, S., Haque, M., & Azim Majumder, M. A. (sem data). Aerobic Exercise and Endocannabinoids: A Narrative Review of Stress Regulation and Brain Reward Systems. *Cureus*, 16(3), e55468. <https://doi.org/10.7759/cureus.55468>

Haunhorst, S., Bloch, W., Ringleb, M., Fennen, L., Wagner, H., Gabriel, H. H. W., & Puta, C. (2022). Acute effects of heavy resistance exercise on biomarkers of neuroendocrine-immune regulation in healthy adults: A systematic review. *Exercise Immunology Review*, 28, 36–52.

Human Microbiome Market Size & Growth Forecast to 2031. (sem data). MarketsandMarkets. Obtido 23 de setembro de 2025, de <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/human-microbiome-market-37621904.html>



- Jiazhi, S., Caixia, C., Lamei, G., & Jian, Z. (2025). The relationship between physical activity and depression, anxiety, and stress in college students: A mediating effect of diet. *Frontiers in Nutrition*, 12, 1611906. <https://doi.org/10.3389/fnut.2025.1611906>
- Jimenez-Sanchez, M., Celiberto, L. S., Yang, H., Sham, H. P., & Vallance, B. A. (2025). The gut-skin axis: A bi-directional, microbiota-driven relationship with therapeutic potential. *Gut Microbes*, 17(1), 2473524. <https://doi.org/10.1080/19490976.2025.2473524>
- Jost, L. (2007). Partitioning diversity into independent alpha and beta components. *Ecology*, 88(10), 2427–2439. <https://doi.org/10.1890/06-1736.1>
- Khavandegar, A., Heidarzadeh, A., Angoorani, P., Hasani-Ranjbar, S., Ejtahed, H.-S., Larijani, B., & Qorbani, M. (2024). Adherence to the Mediterranean diet can beneficially affect the gut microbiota composition: A systematic review. *BMC Medical Genomics*, 17, 91. <https://doi.org/10.1186/s12920-024-01861-3>
- Kroenke, K., Spitzer, R. L., & Williams, J. B. (2001). The PHQ-9: Validity of a brief depression severity measure. *Journal of General Internal Medicine*, 16(9), 606–613. <https://doi.org/10.1046/j.1525-1497.2001.016009606.x>
- Kyle, U. G., Bosaeus, I., Lorenzo, A. D. D., Deurenberg, P., Elia, M., Gómez, J. M., Heitmann, B. L., Kent-Smith, L., Melchior, J.-C., Pirlich, M., Scharfetter, H., Schols, A. M. W. J., & Pichard, C. (2004). Bioelectrical impedance analysis—part I: Review of principles and methods. *Clinical Nutrition*, 23(5), 1226–1243. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.06.004>
- Lee, J. E., Walton, D., O'Connor, C. P., Wammes, M., Burton, J. P., & Osuch, E. A. (2022). Drugs, Guts, Brains, but Not Rock and Roll: The Need to Consider the Role of Gut Microbiota in Contemporary Mental Health and Wellness of Emerging Adults. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(12), 6643. <https://doi.org/10.3390/ijms23126643>



- Li, C., Chen, Y., Wen, Y., Jia, Y., Cheng, S., Liu, L., Zhang, H., Pan, C., Zhang, J., Zhang, Z., Yang, X., Meng, P., Yao, Y., & Zhang, F. (2022). A genetic association study reveals the relationship between the oral microbiome and anxiety and depression symptoms. *Frontiers in Psychiatry*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2022.960756>
- Lombardo, M., Feraco, A., Armani, A., Camajani, E., Gorini, S., Strollo, R., Padua, E., Caprio, M., & Bellia, A. (2024). Gender differences in body composition, dietary patterns, and physical activity: Insights from a cross-sectional study. *Frontiers in Nutrition*, 11. <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1414217>
- Lopes, S., Fontes, T., Menezes, R., Rodrigues, L. M., & Ferreira-Pêgo, C. (2023). Mediterranean Diet Adherence and Its Relationship to Metabolic Markers and Body Composition in Portuguese University Students. *Nutrients*, 15(10), 2330. <https://doi.org/10.3390/nu15102330>
- Lowry, C. A., Smith, D. G., Siebler, P. H., Schmidt, D., Stamper, C. E., Hassell, J. E., Yamashita, P. S., Fox, J. H., Reber, S. O., Brenner, L. A., Hoisington, A. J., Postolache, T. T., Kinney, K. A., Marciani, D., Hernandez, M., Hemmings, S. M. J., Malan-Muller, S., Wright, K. P., Knight, R., ... Rook, G. A. W. (2016). The Microbiota, Immunoregulation, and Mental Health: Implications for Public Health. *Current environmental health reports*, 3(3), 270–286. <https://doi.org/10.1007/s40572-016-0100-5>
- Maekawa, T., Sakitani, N., Ryu, Y., Takashima, A., Murase, S., Fink, J., Nagao, M., Ogata, T., Shinohara, M., & Sawada, Y. (2022). Application of Passive Head Motion to Generate Defined Accelerations at the Heads of Rodents. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, 185. <https://doi.org/10.3791/63100>
- Malan-Müller, S., Vidal, R., O'Shea, E., Montero, E., Figuero, E., Zorrilla, I., de Diego-Adeliño, J., Cano, M., García-Portilla, M. P., González-Pinto, A., & Leza, J. C. (2024). Probing the oral-brain connection: Oral microbiome patterns in a large community cohort with anxiety, depression, and trauma



symptoms, and periodontal outcomes. *Translational Psychiatry*, 14(1), 1–16.
<https://doi.org/10.1038/s41398-024-03122-4>

Manos, J. (2022). The human microbiome in disease and pathology. *Apmis*, 130(12), 690–705.
<https://doi.org/10.1111/apm.13225>

Marôco, J. (2018). *Análise Estatística com o SPSS Statistics: 7a edição*. ReportNumber, Lda.

Prescott, S. L., Larcombe, D.-L., Logan, A. C., West, C., Burks, W., Caraballo, L., Levin, M., Etten, E. V., Horwitz, P., Kozyrskyj, A., & Campbell, D. E. (2017a). The skin microbiome: Impact of modern environments on skin ecology, barrier integrity, and systemic immune programming. *The World Allergy Organization Journal*, 10(1), 29. <https://doi.org/10.1186/s40413-017-0160-5>

Prescott, S. L., Larcombe, D.-L., Logan, A. C., West, C., Burks, W., Caraballo, L., Levin, M., Etten, E. V., Horwitz, P., Kozyrskyj, A., & Campbell, D. E. (2017b). The skin microbiome: Impact of modern environments on skin ecology, barrier integrity, and systemic immune programming. *The World Allergy Organization Journal*, 10(1), 29. <https://doi.org/10.1186/s40413-017-0160-5>

Proctor, L., LoTempio, J., Marquitz, A., Daschner, P., Xi, D., Flores, R., Brown, L., Ranallo, R., Maruvada, P., Regan, K., Dwayne Lunsford, R., Reddy, M., Caler, L., & NIH Human Microbiome Portfolio Analysis Team. (2019). A review of 10 years of human microbiome research activities at the US National Institutes of Health, Fiscal Years 2007–2016. *Microbiome*, 7(1), 31.
<https://doi.org/10.1186/s40168-019-0620-y>

Schamarek, I., Anders, L., Chakaroun, R. M., Kovacs, P., & Rohde-Zimmermann, K. (2023). The role of the oral microbiome in obesity and metabolic disease: Potential systemic implications and effects on taste perception. *Nutrition Journal*, 22, 28. <https://doi.org/10.1186/s12937-023-00856-7>

Schröder, H., Fitó, M., Estruch, R., Martínez-González, M. A., Corella, D., Salas-Salvadó, J., Lamuela-Raventós, R., Ros, E., Salaverriá, I., Fiol, M., Lapetra, J., Vinyoles, E., Gómez-Gracia, E., Lahoz, C., Serra-Majem, L., Pintó, X., Ruiz-Gutierrez, V., & Covas, M.-I. (2011). A Short Screener Is Valid for



Assessing Mediterranean Diet Adherence among Older Spanish Men and Women¹²³. *The Journal of Nutrition*, 141(6), 1140–1145. <https://doi.org/10.3945/jn.110.135566>

Shoer, S., Shilo, S., Godneva, A., Ben-Yacov, O., Rein, M., Wolf, B. C., Lotan-Pompan, M., Bar, N., Weiss, E. I., Hourí-Haddad, Y., Pilpel, Y., Weinberger, A., & Segal, E. (2023). Impact of dietary interventions on pre-diabetic oral and gut microbiome, metabolites and cytokines. *Nature Communications*, 14, 5384. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41042-x>

Spitzer, R. L., Kroenke, K., Williams, J. B. W., & Löwe, B. (2006). A brief measure for assessing generalized anxiety disorder: The GAD-7. *Archives of Internal Medicine*, 166(10), 1092–1097. <https://doi.org/10.1001/archinte.166.10.1092>

Tyson-Carr, J., Leng, J., Scott, M., Adams, S., Hoptroff, M., Murphy, B., Fallon, N., Paterson, S., Thomas, A., Giesbrecht, T., & Roberts, C. (2025). Body site-specific associations between human skin microbiome composition and psychological wellbeing. *British Journal of Dermatology*, 193(Supplement_2), ii6–ii14. <https://doi.org/10.1093/bjd/ljaf177>

Wegierska, A. E., Charitos, I. A., Topi, S., Potenza, M. A., Montagnani, M., & Santacroce, L. (2022). The Connection Between Physical Exercise and Gut Microbiota: Implications for Competitive Sports Athletes. *Sports Medicine (Auckland, N.z.)*, 52(10), 2355–2369. <https://doi.org/10.1007/s40279-022-01696-x>

Laborclin. (2024). Trypticase soy broth - TSB (Instruções de uso, Rev. 09). <https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2024/09/172074.pdf>

Dalynn Biologicals. (2003, April). Tryptic soy agar (Technical insert). https://www.dalynn.com/dyn/ck_assets/files/tech/PB81.pdf

Sigma-Aldrich. (n.d.). Blue-white screening & protocols for colony selection. <https://www.sigmaaldrich.com/MX/en/technical-documents/technical-article/genomics/cloning-and-expression/blue-white-screening>



EMD Millipore. (n.d.). Sabouraud dextrose agar acc. EP + USP (Application Note TN1821ENUS).

<https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/115/531/tn1821en-mk.pdf>

Ministério da Saúde. (2001). Técnica de Coloração de GRAM.

https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/115_03gram.pdf



P.PORTO

ESCOLA
SUPERIOR
DE SAÚDE



M

MESTRADO

DESIGNAÇÃO DO MESTRADO