

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

JAQUELINE BROSSO ZONTA

Estresse de cuidadores familiares de crianças com necessidades especiais de
saúde: estudo caso-controle

São Carlos
2024

JAQUELINE BROSSO ZONTA

Estresse de cuidadores familiares de crianças com necessidades especiais de
saúde: estudo caso-controlado

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Enfermagem da Universidade
Federal de São Carlos para obtenção de Título
de Doutor em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: Cuidado e
trabalho em saúde e enfermagem.

Orientadora: Profa. Dra. Aline C. C. Okido

São Carlos
2024

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Zonta, Jaqueline Brosso

Estresse de cuidadores familiares de crianças com necessidades especiais de saúde: estudo caso-controle / Jaqueline Brosso Zonta -- 2024.
100f.

Tese de Doutorado - Universidade Federal de São Carlos, campus São Carlos, São Carlos
Orientador (a): Aline Cristiane Cavicchioli Okido
Banca Examinadora: Luis Carlos Lopes Junior, Regina Aparecida Garcia de Lima, Diene Monique Carlos, Eliane Tatsch Neves
Bibliografia

1. Criança. 2. Cuidadores. 3. Estresse. I. Zonta, Jaqueline Brosso. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Ronildo Santos Prado - CRB/8 7325



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Enfermagem

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado da candidata Jaqueline Brosso Zonta, realizada em 29/02/2024.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Aline Cristiane Cavicchioli Okido (UFSCar)

Prof. Dr. Luis Carlos Lopes Junior (UFES)

Profa. Dra. Regina Aparecida Garcia de Lima (USP)

Profa. Dra. Diene Monique Carlos (USP)

Profa. Dra. Eliane Tatsch Neves (UFSM)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem.

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais, **Luiz e Sandra**,
ao meu marido, **Leandro**, e ao meu amado filho, **Thiago**.

Vocês são a Luz da minha vida! **Amo vocês!**

Agradecimientos

Agradeço...

A **Deus**, por me proporcionar viver esta etapa da minha vida, pela sabedoria a mim oferecida e principalmente por me dar forças para desenvolver este trabalho diante de tantas provações.

As **mães das crianças** que participaram deste trabalho, exemplos de superação e força diária. Meu respeito e agradecimento a todas, pela recepção e assentimento para que este fosse desenvolvido!

Aos meus pais, **Luiz e Sandra**, meu alicerce, meus exemplos de pessoas, caráter, família e Amor. Por sempre acreditarem em mim e por me darem forças e serem luz para minha vida!

Ao meu marido, **Leandro**, amigo e companheiro, ao meu filho amado **Thiago**, por disporem muitas vezes da minha companhia por horas ou até dias para que eu pudesse desenvolver este trabalho, por serem meu refúgio e aconchego em dias de aflição, por acreditarem em mim.

A minha irmã **Lilian** e cunhada **Aline**, pela parceria e pelo auxílio diverso em meu trajeto. Por estarem ao meu lado e me darem forças para chegar a esta conquista! Ao meu afilhado **Guilherme**, por deixar meus dias felizes com sua presença.

Aos meus sogros **Denocir e Cleusa**, por cuidarem do meu bem mais precioso, meu filho, para que eu pudesse desenvolver este trabalho e adquirir mais conhecimento.

A minha querida orientadora **Aline Okido**, por sempre estar ao meu lado, por me proporcionar conhecimento, por ser exemplo de docente a seguir. Gratidão pela paciência, compreensão, por me fazer uma pessoa melhor com um olhar diferenciado a área acadêmica bem como aos pequeninos e suas famílias. Ainda, pela amizade que toda essa trajetória pode nos proporcionar e pela parceria para conclusão deste trabalho – esse mérito também é seu!

As minhas colegas de pesquisa: **Bruna e Bianca**, vocês foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos professores **Dr. Luis Carlos Lopes Junior** e **Dra Eliane Tatsch Neves** pelas sugestões compartilhadas durante o exame de qualificação.

Aos meus familiares e amigos que vibram junto a mim a conquista desta fase da minha vida.

Enfim, agradeço imensamente a todos que de alguma forma contribuíram para a concretização deste sonho.

Muito Obrigada!

“Faça o teu melhor, na condição que você tem, enquanto você não tem condições melhores, para fazer melhor ainda!”

Mario Sergio Cortella

ZONTA, J.B. **Estresse de cuidadores familiares de crianças com necessidades especiais de saúde: estudo caso-controle.** 2024. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Enfermagem, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo, 2024.

Resumo

Objetivo geral: analisar o estresse de cuidadores familiares de crianças com necessidades especiais de saúde e identificar os fatores associados. **Método:** estudo caso-controle no qual foi considerado “*caso*” os cuidadores familiares de crianças com necessidades especiais de saúde e “*controle*” os cuidadores familiares de crianças sem necessidades especiais de saúde. O recrutamento de ambos os grupos foi realizado a partir das redes sociais e complementado pela técnica bola de neve. Os grupos foram pareados por sexo e idade, na proporção 1:1. A coleta de dados ocorreu entre março 2022 a junho 2023, majoritariamente nos domicílios dos participantes. Para produção do material empírico foram aplicados o instrumento de caracterização sociodemográfica e clínica e a *Perceived Stress Scale*. Para analisar o cortisol e α -amilase foram coletadas amostras de saliva em quatro momentos de um único dia (ao despertar, 30 minutos após o despertar, ao meio-dia e às 20h). Para medir a produção diária total do cortisol e da α -amilase salivar foi calculado a Área sob a Curva com base no método log-trapezoidal. Para análise dos dados utilizou-se estatística descritiva e inferencial. Os testes estatísticos aplicados foram: Teste de Wilcoxon para dados pareados e ANOVA de medidas repetidas para dados pareados. Todos os preceitos éticos foram atendidos. **Resultados:** participaram 100 cuidadores familiares, 50 incluídos no grupo “*caso*” e 50 no “*controle*”. Houve diferença significativa na pontuação de estresse e no nível de cortisol salivar entre os grupos, tal diferença não foi evidenciada para α -amilase. Em ambos os grupos, os níveis de α -amilase e cortisol ao longo de um dia exibiram padrão circadiano típico. A renda familiar apresentou associação com o estresse percebido ($p=0,003$). A variável idade do cuidador foi significativa para explicar o comportamento do estresse percebido ($p= 0,0098$) e a produção diária total do cortisol ($p=0,0405$). A hospitalização da criança esteve associada ao cortisol salivar ($p=0,0333$) entre os cuidadores de crianças com necessidades especiais de saúde. A ocupação dos cuidadores familiares também repercutiu nos resultados do cortisol salivar ($p= 0,0006$). **Conclusão:** os cuidadores familiares de crianças com necessidades especiais de saúde apresentaram níveis mais altos de estresse percebido e menor produção de cortisol em comparação aos cuidadores familiares de crianças sem necessidade especial de saúde. Familiares cuidadores jovens e com menor renda familiar apresentaram níveis de estresse percebido mais elevados. A produção diária de cortisol salivar mais elevada esteve associada aos cuidadores familiares que possuíam trabalho formal ou informal e que eram mais velhos.

Descritores: Enfermagem. Criança. Cuidadores. Estresse. Alfa-amilases salivares. Receptores de Glucocorticoides. Doenças crônicas.

Abstract

ZONTA, J.B. **Stress the family caregivers of children with special health needs: case-control study**. 2024. Thesis (Doctorate) – Postgraduate Program in Nursing, Federal University of São Carlos, São Carlos, São Paulo, 2024.

Abstract

General objective: To analyze the stress of family caregivers of children with special health needs and identify associated factors. **Method:** A case-control study in which family caregivers of children with special health needs were considered "cases" and family caregivers of children without special health needs were considered "controls". Recruitment of both groups was conducted through social networks and complemented by snowball sampling. The groups were matched by sex and age in a 1:1 ratio. Data collection took place between March 2022 and June 2023, mostly at participants' homes. For the production of empirical material, a sociodemographic and clinical characterization instrument and the Perceived Stress Scale were applied. Saliva samples were collected at four time points in a single day (upon awakening, 30 minutes after awakening, at noon, and at 8 p.m.) to analyze cortisol and α -amylase. To measure the total daily production of salivary cortisol and α -amylase, the Area under the Curve based on the log-trapezoidal method was calculated. Descriptive and inferential statistics were used for data analysis. The statistical tests applied were: Wilcoxon test for paired data and repeated measures ANOVA for paired data. All ethical precepts were met. **Results:** 100 family caregivers participated, with 50 included in the "case" group and 50 in the "control" group. There was a significant difference in stress scores and salivary cortisol levels between the groups, but such a difference was not evident for α -amylase. In both groups, the levels of α -amylase and cortisol throughout the day exhibited a typical circadian pattern. Family income was associated with perceived stress ($p=0.003$). The caregiver's age variable was significant in explaining perceived stress behavior ($p=0.0098$) and total daily cortisol production ($p=0.0405$). Child hospitalization was associated with salivary cortisol ($p=0.0333$) among caregivers of children with special health needs. The occupation of family caregivers also influenced salivary cortisol results ($p=0.0006$). **Conclusion:** Family caregivers of children with special health needs exhibited higher levels of perceived stress and lower cortisol production compared to family caregivers of children without special health needs. Younger family caregivers and those with lower family income presented higher levels of perceived stress. Higher daily salivary cortisol production was associated with family caregivers who had formal or informal work and were older.

Descriptors: Nursing. Child. Caregivers. Stress. Salivary alpha-amylases. Glucocorticoid receptors. Chronic diseases.

ZONTA, J.B. **Estrés de familiares cuidadores de niños con necesidades especiales de salud: estudio de casos y controles.** 2024. Tesis (Doctorado) – Programa de Postgrado en Enfermería, Universidad Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo, 2024.

Resumen

Objetivo general: analizar el estrés de los cuidadores familiares de niños con necesidades especiales de salud e identificar los factores asociados. **Método:** estudio de casos y controles en el que se consideraron "casos" a los cuidadores familiares de niños con necesidades especiales de salud y "controles" a los cuidadores familiares de niños sin necesidades especiales de salud. El reclutamiento de ambos grupos se realizó a través de redes sociales y se complementó con la técnica de bola de nieve. Los grupos fueron emparejados por sexo y edad, en una proporción de 1:1. La recolección de datos se realizó entre marzo de 2022 y junio de 2023, principalmente en los hogares de los participantes. Para la producción del material empírico, se aplicaron un instrumento de caracterización sociodemográfica y clínica, y la Escala de Estrés Percibido. Para analizar el cortisol y la α -amilasa, se recopilaron muestras de saliva en cuatro momentos de un día único (al despertar, 30 minutos después de despertar, al mediodía y a las 20:00 horas). Para medir la producción total diaria de cortisol y α -amilasa salival, se calculó el Área bajo la Curva según el método log-trapezoidal. Para el análisis de datos, se utilizó estadística descriptiva e inferencial. Se aplicaron pruebas estadísticas como el Test de Wilcoxon para datos pareados y ANOVA de medidas repetidas para datos pareados. Se cumplieron todos los preceptos éticos. **Resultados:** participaron 100 cuidadores familiares, 50 incluidos en el grupo "caso" y 50 en el grupo "control". Se observó una diferencia significativa en la puntuación del estrés y en el nivel de cortisol salival entre los grupos, aunque esta diferencia no se evidenció para la α -amilasa. En ambos grupos, los niveles de α -amilasa y cortisol a lo largo del día exhibieron un patrón circadiano típico. La renta familiar se asoció con el estrés percibido ($p=0,003$). La variable edad del cuidador fue significativa para explicar el comportamiento del estrés percibido ($p=0,0098$) y la producción total diaria de cortisol ($p=0,0405$). La hospitalización del niño estuvo asociada al cortisol salival ($p=0,0333$) entre los cuidadores de niños con necesidades especiales de salud. La ocupación de los cuidadores familiares también repercutió en los resultados del cortisol salival ($p=0,0006$). **Conclusión:** los cuidadores familiares de niños con necesidades especiales de salud presentaron niveles más altos de estrés percibido y menor producción de cortisol en comparación con los cuidadores familiares de niños sin necesidades especiales de salud. Los cuidadores familiares más jóvenes y con menores ingresos familiares presentaron niveles más elevados de estrés percibido. La

producción diaria de cortisol salival más elevada estuvo asociada a los cuidadores familiares que tenían trabajo formal o informal y que eran de mayor edad.

Descriptores: Enfermería. Niño. Cuidadores. Estrés. Alfa-amilasas salivales. Receptores de glucocorticoides. Enfermedades crónicas.

Lista de Ilustrações

Figura 1. Kit Coleta	44
Figura 2. Kit Coleta	45
Figura 3. Fluxograma coleta de dados	45
Figura 4. Demonstração de coleta de cortisol salivar	46
Figura 5. Monitor portátil de concentração de α -amilase	47
Figura 6. Demonstração de coleta de α -amilase salivar.....	47
Figura 7: Ritmo circadiano do cortisol salivar de familiares cuidadores de CRIANES (casos) e de cuidadores familiares não CRIANES (controles) nos tempos 8h, 8h30min, 12h e 20h.....	59
Figura 8: Ritmo circadiano α -amilase de cuidadores familiares de CRIANES (casos) e de cuidadores familiares não CRIANES (controles) nos tempos 8h, 8h30min,12h e 20h.....	64

Tabela 1. Resultados do cálculo do tamanho amostral para comparação da média dos valores de cortisol e α -amilase entre os grupos cuidadores de CRIANES (casos) e cuidadores de não-CRIANES (controles), segundo dados de literatura.....	42
Tabela 2: Caracterização dos cuidadores familiares dos grupos “ <i>caso</i> ” (n=50) e “ <i>controle</i> ” (n=50), segundo as variáveis sociodemográficas. São Carlos/SP, Brasil, 2023.....	54
Tabela 3: Caracterização das crianças dos grupos “ <i>caso</i> ” (n=50) e “ <i>controle</i> ” (n=50), segundo as variáveis sociodemográficas e clínicas. São Carlos/SP, Brasil, 2023.....	55
Tabela 4: Análise descritiva do Estresse Percebido de cuidadores familiares dos grupos “ <i>caso</i> ” (n=50) e “ <i>controle</i> ” (n=50). São Carlos/SP, Brasil, 2023.....	56
Tabela 5: Teste de efeitos fixos do Estresse Percebido de acordo com os grupos. São Carlos/SP, Brasil, 2023.....	56
Tabela 6: Teste de efeitos fixos de Estresse Percebido de acordo com o grupo e variáveis sociodemográficas e clínicas de interesse. São Carlos/SP, Brasil, 2023.....	57
Tabela 7: ANOVA de medidas repetidas para estresse percebido, grupo, idade cuidador, renda familiar e evento estressante. São Carlos/SP, Brasil, 2023.....	58
Tabela 8: Análise descritiva do cortisol salivar entre os grupos “ <i>caso</i> ” (n=50) e “ <i>controle</i> ” (n=50). São Carlos/SP, Brasil, 2023.....	58
Tabela 9: ANOVA de medidas repetidas de cortisol salivar dos grupos “ <i>caso</i> ” (n=50) e “ <i>controle</i> ” (n=50). São Carlos/SP, Brasil, 2023.....	60
Tabela 10: Teste de efeitos fixos da variável “Raiz Cortisol” de acordo com as variáveis sociodemográficas e clínicas de interesse do grupo “ <i>caso</i> ”. São Carlos/SP, Brasil, 2023.....	60
Tabela 11: ANOVA da Raiz Cortisol em relação à hospitalização da criança, somente do grupo “ <i>caso</i> ”. São Carlos/SP, Brasil, 2023.....	61
Tabela 12: Teste de efeitos fixos dos diferentes parâmetros de cortisol salivar de acordo com grupo, variáveis sociodemográficas, clínicas e Estresse Percebido. São Carlos/SP, Brasil, 2023.....	61
Tabela 13: ANOVA de Raiz Cortisol em relação à ocupação do cuidador e de AUCG Cortisol em relação à idade e ocupação do cuidador. São Carlos/SP, Brasil, 2023.....	62
Tabela 14: Análise descritiva da α -amilase entre os grupos “ <i>caso</i> ” (n=50) e “ <i>controle</i> ” (n=50). São Carlos/SP, Brasil, 2023.....	63
Tabela 15: Teste de efeitos fixos dos diferentes parâmetros de α -amilase de acordo com as variáveis de interesse. São Carlos/SP, Brasil, 2023.....	65
Tabela 16: Análise inferencial de acordo com o local e dia da coleta de dados. São Carlos/SP, Brasil, 2023.....	65

Lista de Abreviaturas e Siglas

ANOVA	Análise de variância
AUC	Área sob a curva
AUCG	Área sob a curva em relação a base/solo
AUCI	Área sob a curva partir da primeira medida para todos os pontos ao longo do tempo
COVID-19	CoronaVirus Disease 19
CRIANES	Crianças com necessidades especiais de saúde
ECA	Estatuto da Criança e Adolescente
EPI	Equipamentos de proteção individual
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
HPA	Hipotalâmico-pituitário-adrenal
P	Participante
PC	Participante controle
PSS	<i>Perceived Stress Scale</i>
SAS	<i>System for Windows</i>
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SNS	Sistema Nervoso Simpático
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFSCar	Universidade Federal de São Carlos

α	Alfa
β	Beta
ug/dl	Microgramas por Decilitro
$\mu\text{g/dL}$	Miligramas por Decilitro
®	Símbolo de Marca Registrada
U/ml	Unidades por Mililitro
<i>p</i>	Valor P

1. Introdução	27
1.1 Crianças com necessidades especiais de saúde (CRIANES): aspectos conceituais e epidemiológicos.	28
1.2 Sobrecarga e estresse entre os cuidadores de CRIANES	29
1.3 Estresse e mecanismos fisiológicos.....	31
2. Justificativa	35
3. Objetivo	38
3.1 Geral.....	39
3.2. Específicos.....	39
4. Método	40
4.1 Delineamento do estudo	41
4.2 Local do estudo.....	41
4.3 Participantes do estudo e critérios de elegibilidade.....	41
4.3.1 Cálculo Amostral.....	42
4.4 Coleta de dados.....	43
4.4.1 Procedimentos, recrutamento e convite aos potenciais participantes.....	43
4.4.2 Protocolo de coleta	44
4.4.3 Instrumentos de pesquisa.....	48
4.4.4 Medidas de precaução para coleta de dados.....	48
4.5 Variáveis do estudo	49
4.6 Análise dos dados	50
4.7 Procedimentos éticos	51
4.8 Desafios vivenciados.....	52
5. Resultados	53
5.1 Caracterização dos cuidadores familiares e crianças.....	54
5.2 Estresse percebido	55
5.3 Análise do cortisol salivar	58
5.4 Análise da α -amilase salivar.....	63
6. Discussão	67
7. Conclusão	74
Referências	76
Anexos.....	84
Apêndices.....	91

1. *Introdução*

1.1 Crianças com necessidades especiais de saúde (CRIANES): aspectos conceituais e epidemiológicos.

As CRIANES apresentam condições crônicas, estado de saúde frágil, complexidade médico-clínica e podem depender de artefatos tecnológicos para manutenção da sua existência (Mcpherson *et al.*, 1998; Mesman *et al.*, 2013). Necessitam também de atenção contínua dos familiares e profissionais de saúde para além do que é requerido pelas outras crianças da mesma faixa etária (Kuhlthau *et al.*, 2011). O termo se caracteriza por uma definição ampla a qual abarca diferentes agravos que acometem crianças podendo variar em complexidade e demandas de cuidado exigidas (Quach *et al.*, 2015).

Nos Estados Unidos da América, aproximadamente 11,2 milhões de crianças e adolescentes (15,1%) possuem necessidades especiais de saúde (Caicedo, 2014; Sannicandro *et al.*, 2017). No Brasil, sabe-se que o perfil da morbimortalidade infantil tem se modificado com a diminuição da mortalidade por causa evitáveis e o aumento das condições crônicas (Castro *et al.*, 2019). Segundo estudo que estimou a prevalência e traçou o perfil das CRIANES em três municípios das regiões sul e sudeste do Brasil, a prevalência foi de 25,3% sendo a asma e as alergias os agravos de saúde mais frequentes (Arrué *et al.*, 2022).

As CRIANES caracterizam-se por possuírem diferentes diagnósticos médicos, todavia, esta definição enfatiza as demandas de cuidado e não o diagnóstico (Neves *et al.*, 2019). Destacam-se, nesse grupo, crianças com sequelas advindas da prematuridade, os portadores de malformações congênitas, de doenças crônicas, vítimas de traumas, entre outros (Mcpherson *et al.*, 1998). De acordo com o instrumento de triagem para CRIANES desenvolvido nos Estados Unidos da América e validado para o português do Brasil por Arrué e colaboradores (2016), é possível agrupar as necessidades de saúde em três domínios: i) dependência de medicamentos; ii) utilização dos serviços de saúde acima do considerado normal ou de rotina e, iii) presença de limitações funcionais.

As CRIANES também podem ser classificadas de acordo com a tipologia dos cuidados exigidos, entre os quais se encontram o cuidado medicamentoso, relativo ao uso contínuo e diário de medicamentos; cuidado de desenvolvimento, relativo a necessidade de reabilitação psicomotora e social com acompanhamento de profissionais como fisioterapeutas, terapeutas ocupacionais, entre outros; cuidado habitual modificado, relativo aos cuidados especiais que vão além daqueles ofertados a uma criança saudável, como uso de fraldas em crianças maiores de 3 anos de idade, uso de dispositivos para auxiliar na locomoção como cadeira de rodas,

órteses e próteses e qualquer outro cuidado que difere do cuidado ofertado para uma criança saudável e cuidado tecnológico, relativo a determinação do uso de algum dispositivo tecnológico para manutenção da vida, como cateterismo vesical de alívio, por exemplo. É possível que a criança apresente duas ou mais demandas de cuidado, sendo classificada como demanda de cuidado misto (Neves; Cabral, 2008).

1.2 Sobrecarga e estresse entre os cuidadores de CRIANES

De acordo com uma revisão sistemática, as mães de crianças com condições crônicas, outra nomenclatura utilizada para se referir a esse público, estão mais propensas a experienciar elevado nível de estresse (Pinquart, 2018). Dentre as razões, os autores destacam o acúmulo de tarefas relacionadas ao gerenciamento da doença do filho, as relações conflituosas com profissionais de saúde, a incerteza quanto ao prognóstico da criança, o impacto financeiro e o sentimento de culpa nos casos de condições hereditárias ou decorrentes de um trauma (Pinquart, 2018). Na mesma direção, revisão integrativa que tratou sobre a sobrecarga psicológica dos cuidadores de crianças com diagnóstico de asma, um subgrupo das CRIANES, revelou como fatores geradores de estresse a constante preocupação e as mudanças na rotina doméstica (Foronda *et al.*, 2020).

As demandas de cuidado exigidas por uma CRIANES resultam na necessidade de incorporação de novos saberes e práticas ao cotidiano dos cuidadores (Okido; Zago; De Lima, 2015) e ocasionam extrema carga emocional e social gerando estresse (Dybwik *et al.*, 2011). Estudo de abordagem qualitativa realizado com cuidadores primários de crianças com diagnóstico de asma, um subgrupo das CRIANES, identificou o sono inadequado, a preocupação e constante monitoração das condições clínicas da criança e, a não divisão igualitária do cuidado entre os membros da família como fatores geradores de estresse (Chen *et al.*, 2015). Na mesma direção, estudo realizado com 231 pais de crianças com doença mitocondrial identificou correlações positivas estatisticamente significantes entre estresse parental e presença de atrasos no desenvolvimento, número de hospitalizações, número de visitas médicas, número de órgãos envolvidos e número de especialistas que fazem acompanhamento (Senger *et al.*, 2016).

Ademais, uma outra investigação que objetivou identificar o tempo dispendido pela família para o cuidado da CRIANES no domicílio bem como estimar o custo financeiro necessário para prover esse cuidado, revelou que as famílias gastam em média 5,1 horas por

semana. Todavia, há CRIANES que requerem mais de 21 horas de cuidado por semana, dentre elas: as crianças com fibrose cística, com paralisia cerebral e distrofia muscular. O estudo reforça ainda que, a atenção dedicada ao cuidado das CRIANES potencializa as dificuldades financeiras, o isolamento social e a insatisfação conjugal gerando estresse (Romley *et al.*, 2017). Na mesma perspectiva, Keilty e colaboradores (2018) reforçam que alguns destes cuidadores prestam cuidados altamente qualificados até 24 horas por dia, impactando negativamente a duração e a qualidade do sono, resultando em fadiga excessiva e sintomas depressivos.

Com relação às reações desencadeadas pelo estresse, é comum a presença de transtornos psiquiátricos como ansiedade e depressão entre as cuidadoras de CRIANES, as quais apresentam quase duas vezes mais probabilidade de frequentar serviços de saúde mental (Pilapil *et al.*, 2017). Fraser e colaboradores (2021) corroboram ao concluir que as mães de filhos com doenças crônicas apresentam incidências significativamente mais elevadas de depressão, ansiedade e encaminhamentos para serviços secundários de saúde mental em comparação com mães de crianças sem doenças de longa duração. Na mesma direção, investigação realizada no Irã com 250 pais de crianças com deficiência reforça que os pais experimentam um alto nível de estresse e pressão mental com risco aumentado de problemas psicológicos e interrupção do funcionamento da família (Savari; Naseri; Savari, 2023).

Além disso, as demandas de cuidado podem impactar também no estado de saúde geral à medida que, estas cuidadoras tornam-se mais propensas do que a população em geral, para relatar problemas como enxaqueca, dores no estômago, artrite/ doenças reumáticas e experiência recente de dor (Caicedo, 2014; Pilapil *et al.*, 2017). Ainda, há uma ocorrência significativamente elevada de obesidade, hipertensão e dores nas costas entre mães de crianças com condições crônicas em comparação com mães cujos filhos não possuem condições crônicas (Fraser *et al.*, 2021).

Todavia, as situações estressoras podem ser percebidas de maneira distinta entre as pessoas a depender do contexto individual e social que dispõem. Ademais, um mesmo evento estressor pode ser percebido de diferentes formas, pelo mesmo indivíduo em diferentes momentos da sua vida (Vasconcelos; Do Nascimento, 2016). Assim, estudo mexicano realizado com 416 familiares cuidadores de crianças com condição crônica, enfatiza a importância de identificar os fatores sociodemográficos e psicossociais que contribuem para o processo de adaptação positiva durante o diagnóstico e tratamento prolongado da criança (Toledano-Toledano; Domínguez-Guedea, 2019).

1.3 Estresse e mecanismos fisiológicos

Existem muitos sistemas no corpo que regulam o nível de estresse incluindo o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), o sistema nervoso autônomo (SNA) e o sistema imunológico (Noushad *et al.*, 2021). O estresse persistente ou prolongado resulta na secreção de certos hormônios ou substâncias químicas do corpo que podem afetar órgãos vitais como cérebro, coração ou fígado, prejudicando a saúde do sujeito (Noushad *et al.*, 2021).

O estresse pode influenciar negativamente múltiplas vias biológicas, culminando em desregulação dos ritmos circadianos (Sephton; Spiegel, 2003). Os ritmos circadianos dizem respeito a ciclos diários regulares de atividade e descanso controlado pelo núcleo supraquiasmático no cérebro. Ritmos circadianos sincronizados são importantes para a saúde e bem-estar, além disso, são indicadores importantes da regulação de mecanismos de resposta ao estresse (Savvidis; Koutsilieris, 2012; Sephton; Spiegel, 2003).

O estresse ativa o eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal (HPA) e o eixo simpático- adrenal provocando alterações nos níveis de cortisol e de α -amilase salivar, respectivamente (Papacosta; Nassis, 2011). Cortisol e α -amilase são considerados biomarcadores do estresse e suas implicações para a saúde foram investigadas em diversas populações por diferentes estudos (Dickerson; Kemeny, 2004; Granger *et al.* 2007; Nater *et al.*, 2007; Nater *et al.*, 2008; Wolf; Nicholls; Chen, 2008).

Tanto o cortisol quanto a α -amilase são hormônios cuja secreção segue um ritmo circadiano característico. Assim, o cortisol é encontrado na corrente sanguínea e na saliva em sua forma livre (biologicamente ativo) e ligado a proteínas transportadoras. Sua liberação segue um padrão circadiano e normalmente é secretado pela adrenal em rajadas curtas, com 15 a 30 pulsos ao longo de um dia. A concentração de cortisol salivar é diretamente proporcional ao cortisol livre no soro. Os níveis circulantes de cortisol atingem o pico aproximadamente 20 a 40 minutos após o despertar seguido por declínio gradual ao longo do dia, atingindo níveis mínimos à noite (Huijbregts *et al.*, 2011; Shirtcliff *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2015). Ressalta-se que o nível de cortisol pode ser afetado pelo uso de corticosteroides (Nater *et al.*, 2005; Nierop *et al.*, 2006). Embora normalmente, o nível de cortisol permaneça alto em horários específicos do dia, por exemplo, pela manhã, se persistir ao longo do dia, é uma situação alarmante (Noushad *et al.*, 2021).

Outro parâmetro que tem sido reportado para identificar a resposta ao estresse é a α -amilase, uma vez que, frente ao evento estressor, o Sistema Nervoso Simpático (SNS) ativa a liberação das catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) liberando α -amilase imediatamente (Granger *et al.*, 2007; Nater; Rohleder, 2009; Rohleder *et al.*, 2004). A α -amilase é secretada pelas glândulas salivares e tem como principais funções a digestão enzimática de carboidratos e a manutenção da imunidade da mucosa oral, inibindo a proliferação de bactérias (Nater; Rohleder, 2009). Os níveis desta enzima podem ser afetados pelo tabagismo, ingestão de cafeína, consumo de alimentos e exercício físico (Nater; Rohleder, 2009). O ritmo circadiano da α -amilase apresenta um padrão oposto ao do cortisol com níveis baixos de manhã e níveis mais elevados no final da noite (Nater *et al.*, 2007).

Os níveis de cortisol salivar e α -amilase aumentam diante do estresse (Dickerson; Kemeny, 2004), todavia, o tempo de ação do SNS é menor do que o tempo de ação do eixo HPA, deste modo, o nível de α -amilase atinge seu pico de resposta mais rápido que o cortisol salivar, ocorrendo o mesmo na recuperação dos níveis (Chrousos, 2009). A elevação do nível da α -amilase ocorre imediatamente após o evento estressor, retornando à linha de base 10 minutos após o evento estressor, sendo considerado um biomarcador de natureza aguda e de curto prazo. Em contrapartida, sob condições de estresse, existe um lapso estimado de 15-30 minutos entre o evento estressor e a produção e liberação aumentada de cortisol plasmático e um lapso de dois minutos adicionais ocorre antes de se detectar aumentos de cortisol na saliva (Gunnar; White, 2001). Para tanto, o cortisol, por refletir a ativação do eixo HPA pode ser considerado um biomarcador de estresse crônico.

Em situações esporádicas, a resposta fisiológica ao estresse parece ser benéfica, todavia, situações estressoras a longo prazo podem ocasionar efeitos deletérios (Chrousos, 2009). O estresse pode exercer efeito imunossupressor a medida que, altas concentrações de cortisol inibem a apresentação de antígenos, levam à atrofia do tecido linfóide do timo, do baço e dos linfonodos, além de estimularem a morte celular programada (apoptose) de linfócitos (Abrahão *et al.*, 2019; Chandwani *et al.*, 2012).

O estresse crônico interfere negativamente na síntese e liberação de citocinas e de outros mediadores de reações imunes e inflamatórias. O cortisol em altas concentrações também modifica o equilíbrio da resposta imune celular e humoral. Essas alterações estão associadas com a diminuição da atividade citotóxica de linfócitos e de células *Natural Killers*. A ruptura do balanço imune pode levar também a uma cascata crônica de eventos mediados por citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6, TNF- α e IFN- γ), resultando em retroalimentação do estresse,

depressão, ansiedade, fadiga, perturbações do sono, alterações cognitivas, e disrupturas do ritmo circadiano, consequentemente reduzindo a qualidade de vida (Abrahão *et al.*, 2019; Chandwani *et al.*, 2012).

De acordo com uma revisão de escopo que examinou o impacto do estresse crônico associado ao cuidado de uma criança com uma condição crônica, níveis elevados de cortisol a longo prazo podem levar a uma resposta imunitária suprimida e ao aumento da susceptibilidade a condições crônicas de saúde (Mountcastle *et al.*, 2023) como, doenças cardiovasculares, distúrbios autoimunes e condições inflamatórias crônicas (Baxter; Ray, 2020).

Num esforço para elucidar os mecanismos fisiológicos associados ao desenvolvimento de doenças entre cuidadores que sofrem de estresse, Epel e colegas (2004) desenvolveram um estudo pioneiro entre mães de CRIANES. Os pesquisadores compararam os níveis de estresse percebido entre mães de crianças sem doenças e mães de crianças com doenças crônicas, examinando três biomarcadores associados ao envelhecimento celular: comprimento dos telômeros, atividade da telomerase e índice de estresse oxidativo. De acordo com os resultados, dentro do grupo de cuidadores, quanto maior a duração do cuidado, menor o comprimento dos telômeros das mães, menor a atividade da telomerase e maior o estresse oxidativo (Epel *et al.*, 2004). A investigação sobre os telômeros reforça que o estresse influencia a saúde física através de respostas neuroendócrinas e inflamatórias que danificam o DNA celular, embora a reparação de tais danos seja possível através da cura e recuperação do estresse (Lyons; Razzoli; Bartolomucci, 2023; Rentscher *et al.*, 2020).

Apesar da evidência robusta de um mecanismo fisiológico do estresse, muitas medidas de estresse na literatura ainda se baseiam exclusivamente em medidas de autorrelato. Isoladamente, estas medidas são limitadas devido a diferenças culturais na medição, à dependência do viés de recordação consciente, à variabilidade nas experiências ao longo do tempo e aos efeitos de calibração (Epel *et al.*, 2018). Portanto, a incorporação de biomarcadores juntamente com medidas de autorrelato reflete um reconhecimento da importância de adotar uma lente de sistemas complexos para compreender as relações dinâmicas entre estresse, contextos sociais e resultados no cuidado familiar (Crielaard *et al.*, 2021; Merabet *et al.*, 2022; Nwanaji-enwerem *et al.*, 2021; Slavich; Mengelkoch; Cole, 2023; Stoeckel *et al.*, 2023).

Diante do exposto, o presente estudo parte das seguintes questões de pesquisa: os níveis de cortisol e α -amilase salivar dos cuidadores familiares de CRIANES ao longo do dia indicam desregulação do ritmo circadiano? Existe diferença entre estresse e níveis de cortisol e α -amilase salivar de cuidadores familiares de CRIANES (*grupo caso*) com aqueles cuidadores

familiares de crianças não classificadas como CRIANES (*grupo controle*)? Variáveis clínicas e sociodemográficas estão associadas ao estresse percebido e aos níveis de cortisol e α -amilase salivar? Há associação entre os níveis de cortisol e α -amilase salivar e os níveis de estresse mensurado mediante aplicação de escala subjetiva?

Inicialmente, faz-se importante destacar que o manejo do estresse entre os cuidadores familiares de CRIANES é uma questão importante na prática da enfermagem pediátrica uma vez que, o estresse excessivo dos genitores/cuidadores familiares pode culminar em fracasso ou interrupção do cuidado oferecido as CRIANES.

Justifica-se também a relevância deste estudo ao incluir cuidadores familiares de CRIANES, independente dos diagnósticos médicos. Os estudiosos há muito endossam uma abordagem não baseada em diagnósticos médicos para estudar o estresse entre cuidadores de crianças. Stein e Jessop (1989) destacaram que os rótulos diagnósticos explicam muito pouco sobre o que importa na vida das crianças e de suas famílias. Mais recentemente, Brehaut e colegas (2019) instigaram os investigadores a explorar outros indicadores além do diagnóstico infantil para explicar as repercussões no estado de de saúde dos cuidadores.

No entanto, uma abordagem baseada na doença persiste nas pesquisas emergentes sobre biomarcadores de estresse nas famílias. A maioria dos estudos sobre o tema concentram-se em condições específicas, como crianças com autismo (por exemplo, Crosswell *et al.*, 2022; Padden Concialdi-Mcglynn; Lydon, 2019), crianças com câncer (por exemplo, Kim; Chung; Lee, 2022; Russ, 2020), entre outras. Assim, ao propor investigar o estresse entre cuidadores familiares de crianças não estratificadas por seus diagnósticos médicos, o presente estudo amplia seu potencial inovador pois, diferentemente dos estudos já publicados, será capaz de analisar o efeito das demandas de cuidado exigidas sobre o estresse do cuidador. Nesta direção, faz-se importante registrar que, ao adotar esta perspectiva valora-se as necessidades de cuidado da criança e sua família e não a doença.

Acrescenta-se ainda como diferencial deste estudo a investigação conjunta dos níveis de cortisol e da α -amilase ao longo de um dia uma vez que, em geral, os estudos analisam isoladamente o cortisol salivar (Bella; Garcia; Spadari-Bratfisch, 2011; Chen *et al.*, 2015; Dykens *et al.*, 2014).

Por fim, o presente estudo corrobora com o avanço científico da enfermagem pediátrica ao incorporar elementos da medicina de precisão na prática da enfermagem. Corwin e Ferranti (2016) argumentam que a mensuração de biomarcadores em protocolos de investigação é uma ferramenta poderosa para os enfermeiros promoverem a enfermagem de precisão. Essa prática prioriza intervenções personalizadas que ligam as características ômicas dos pacientes às características contextuais (Ielapi *et al.*, 2020; Lopes-Júnior *et al.*, 2021). Em outras palavras, permite uma abordagem mais precisa e direcionada a saúde do paciente a medida que considera os fatores sociais, econômicos, culturais e ambientais bem como, características moleculares,

genéticas e bioquímicas de cada indivíduo (Lin; Wang; Chen, 2023).

Nessa direção, a longo prazo, os resultados deste estudo podem subsidiar intervenções de enfermagem mais específicas e personalizadas a partir dos níveis de cortisol e alfa-amiliase que foram apresentados e, gerar oportunidades ricas de futuras pesquisas de intervenção.

3. *Objetivo*

3.1 Geral

- ❖ Analisar o estresse de cuidadores familiares de crianças com necessidades especiais de saúde e identificar os fatores associados.

3.2. Específicos

- ❖ Caracterizar os participantes do estudo segundo dados sociodemográficos e clínicos;
- ❖ Mensurar o nível de estresse percebido nos grupos “*caso*” e “*controle*” a partir da *Perceived Stress Scale* – PSS;
- ❖ Mensurar os níveis de cortisol e α -amilase salivar em 4 (quatro) períodos de um dia (ao despertar, 30 minutos após o despertar, ao meio-dia e às 20h) e analisar o ritmo circadiano apresentado, nos grupos “*caso*” e “*controle*”;
- ❖ Calcular a produção diária total do cortisol e da α -amilase salivar a partir da Área sob a Curva, nos grupos “*caso*” e “*controle*”;
- ❖ Comparar o estresse percebido e os níveis de cortisol e de α -amilase salivar entre cuidadores familiares de CRIANES (grupo *caso*) e àqueles cuidadores familiares de crianças não classificadas como CRIANES (grupo *controle*).

4.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo caso-controle (Hulley; Cummings; Newman, 2015). Faz-se importante mencionar que o presente estudo está vinculado ao Projeto Regular FAPESP (2019/24975-7) intitulado “Ritmos circadianos de alfa amilase e cortisol salivar de cuidadores de crianças com necessidades especiais de saúde: estudo caso-controle”. Para além dos objetivos previstos nesse estudo, o projeto ampliado busca analisar a influência do apoio social e do *Coping* religioso-espiritual nos níveis de cortisol e alfa amilase.

4.2 Local do estudo

O estudo foi desenvolvido em um município do interior do estado de São Paulo. Primeiramente, a proposta era realizar a coleta de dados exclusivamente a partir de visitas domiciliares, no entanto, esse contexto foi sendo adaptado à rotina do cuidador familiar participante da pesquisa. Embora o domicílio tenha sido o local majoritariamente escolhido pelos participantes, o ambiente de trabalho também foi uma opção comumente escolhida.

4.3 Participantes do estudo e critérios de elegibilidade

Foram considerados “*casos*” os cuidadores familiares de CRIANES e “*controles*” os cuidadores familiares de crianças não classificadas como CRIANES. Conforme já descrito na introdução, o termo CRIANES se caracteriza por uma definição ampla a qual abarca diferentes agravos que acometem crianças podendo variar em complexidade e demandas de cuidados exigidas (Quach *et al.*, 2015). Assim, para ser incluído no grupo “*caso*”, a criança deveria apresentar pelo menos uma das quatro demandas de cuidados: cuidado de desenvolvimento; cuidado habitual modificado; cuidado medicamentoso e/ou cuidado tecnológico.

Foram incluídos cuidadores familiares, maiores de 18 anos de idade, responsáveis pela maior parte dos cuidados de crianças até 12 anos incompletos, de acordo com a classificação de faixa etária do Estatuto da Criança e Adolescente (ECA) (Brasil, 1990). Para recrutamento do grupo “*controle*” foi considerado o pareamento da díade (cuidador/criança) por sexo e idade na proporção 1:1 a fim de evitar potenciais vieses de confusão (Gordis, 2017), sendo estabelecido como limite a diferença de idade de 10 anos para os cuidadores familiares e de 2 anos para as crianças maiores de 2 anos, conforme proposto por Padden e James (2017).

Adotou-se como critério de exclusão para ambos os grupos o uso de medicamentos glicocorticoides.

4.3.1 Cálculo Amostral

Inicialmente para o cálculo do tamanho amostral foi utilizado o método de comparação de média entre 2 grupos em um estudo analítico com variável numérica, fixando o nível de significância alfa ou erro do tipo I em 5% ($\alpha=0.05$; intervalo de confiança=95%) e o poder da amostra em 80% ou erro tipo II de 20% ($\beta=0.20$), de acordo com Hulley e colaboradores (2015).

O tamanho da amostra foi calculado a partir da diferença dos valores de média e desvio padrão dos níveis de α -amilase e de cortisol salivar entre cuidadores “casos” e “controles” em estudos internacionais prévios com o mesmo protocolo de tempos de coletas dos biomarcadores (Bella; Garcia; Spadari-Bratfisch, 2011; Padden; James, 2017), utilizando-se o programa computacional SAS System for Windows (*Statistical Analysis System*), versão 9.2. A Tabela 1 apresenta os cálculos do tamanho amostral para cada uma das comparações.

Tabela 1. Resultados do cálculo do tamanho amostral para comparação da média dos valores de cortisol e α -amilase entre os grupos cuidadores de CRIANES (casos) e cuidadores de não-CRIANES (controles), segundo dados de literatura.

Variável	Grupo Controle	Grupo Caso	Amostra Grupo	Amostra Total
	Média (desvio-padrão)	Média (desvio-padrão)	n	n
Cortisol ao acordar	0,91 (0,58)	0,70 (0,32)	80	160
Cortisol 30 min após	1,02 (0,63)	0,85 (0,41)	78	156
Cortisol ao meio-dia	0,48 (0,26)	0,33 (0,13)	32	64
Cortisol 20 horas	0,27 (0,19)	0,18 (0,13)	51	102
Cortisol Área sob a curva	11,47 (5,24)	8,17 (2,89)	27	54
α -amilase	100,20 (82,60)	144,96 (111,81)	77	154

De acordo com a tabela acima, uma amostra de 160 cuidadores (80 cuidadores em cada grupo) seria ideal para comparação dos níveis de cortisol salivar nos quatro períodos de um dia propostos no protocolo de coleta de dados (ao despertar, 30 minutos após o despertar, ao meio dia e às 20h) bem como para a comparação das respectivas Área sob a Curva (AUC). Com relação a α -amilase, os valores de referência correspondem a média das dosagens diurnas (ao despertar e após o despertar), não foi encontrado nenhum estudo que avaliasse a α -amilase em todos os períodos propostos no presente estudo.

Entretanto, diante de diversos desafios experienciados ao longo do desenvolvimento do estudo, os quais serão detalhados posteriormente, foi possível recrutar 100 participantes, 50 em cada grupo.

Diante desse cenário, foi calculado o poder do teste a partir do ANOVA para medidas repetidas da variável “cortisol ao acordar”. A “medida repetida”, nesse caso, foi a mensuração pareada entre os dois grupos, pois essa medida não foi avaliada em vários tempos. O “grupo” nessa análise foi desconsiderado (grupo = 1), pois a comparação entre grupos já é avaliada pelas medidas repetidas. A correlação entre as medidas foi calculada e informada para análise de poder, considerou-se effect size intermediário e, por haver apenas duas medidas, o coeficiente de correção de esfericidade foi 1. O poder de teste foi de 0,7862831. Assim, sugere-se que o teste tem uma boa capacidade de detectar efeito real uma vez que está relativamente próximo de 1, este, considerado indicador de maior probabilidade de efeitos reais.

Por fim, de acordo com os resultados de uma revisão sistemática (em análise) que objetivou sintetizar e analisar criticamente a literatura sobre biomarcadores associados ao estresse em cuidadores de CRIANES, dos sete estudos que foram analisados, dois eram do tipo caso-controle e o número de participantes não excedeu 76, sendo 38 no grupo caso e 38 no grupo controle (Okido *et al.*, 2024).

4.4 Coleta de dados

A coleta de dados ocorreu entre março de 2022 a junho de 2023.

4.4.1 Procedimentos, recrutamento e convite aos potenciais participantes

Inicialmente, foram recrutados os “casos” e em seguida os “controles”. O procedimento para recrutamento de ambos os grupos se deu da mesma forma, ou seja, por meio de folders divulgados nas redes sociais *Facebook; Instagram e WhatsApp®* (Apêndice A e B). Nos folders havia um link de acesso para o *WhatsApp®*, criado exclusivamente para fins da pesquisa. A partir do acesso ao link, o participante entrava em contato com a pesquisadora para manifestar interesse. Após agradecer o interesse em participar da pesquisa, o pesquisador se certificava da elegibilidade do potencial participante e a seguir, explicava os procedimentos da coleta de dados, conforme texto padrão (Apêndice C).

Mantendo o desejo em contribuir com a pesquisa, o pesquisador compartilhava, via formulário on-line disponibilizado pela plataforma gratuita *Google Forms*, o Termo de

Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (Apêndice D). Após leitura do TCLE e manifestação de concordância, era agendado data e local para a coleta de dados.

Além da divulgação da pesquisa nas redes sociais, esse estudo utilizou a estratégia de recrutamento conhecida como “*Snowball*” (Parker, Scott, Geddes, 2019), para tanto, foi solicitado apoio dos primeiros participantes para que convidassem para participar da pesquisa outros contatos que se encaixavam nos critérios e que pudessem estar dispostos a contribuir. Faz-se importante destacar que a pesquisadora possuía experiência profissional de 11 anos como enfermeira assistencial em uma Unidade de Terapia Intensiva Neonatal e Pediátrica do município, o que gerou um forte vínculo com muitos familiares de CRIANES. Desse modo, ao publicar a pesquisa em suas redes sociais houve uma ótima adesão dos potenciais participantes.

4.4.2 Protocolo de coleta

Primeiramente, é importante mencionar que além da pesquisadora principal, outras duas pessoas compuseram a equipe de coleta, sendo uma enfermeira mestranda do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar e uma bolsista de iniciação científica do sétimo semestre do Curso de Graduação em Enfermagem da UFSCar. Anteriormente ao início da coleta de dados, foi realizado um treinamento para alinhamento e padronização dos procedimentos a fim de minimizar possível viés de aferição.

Um “kit coleta” (Figura 1 e 2) foi organizado a fim de padronizar o procedimento de coleta e armazenamento das amostras.



Figura 1: Kit coleta.

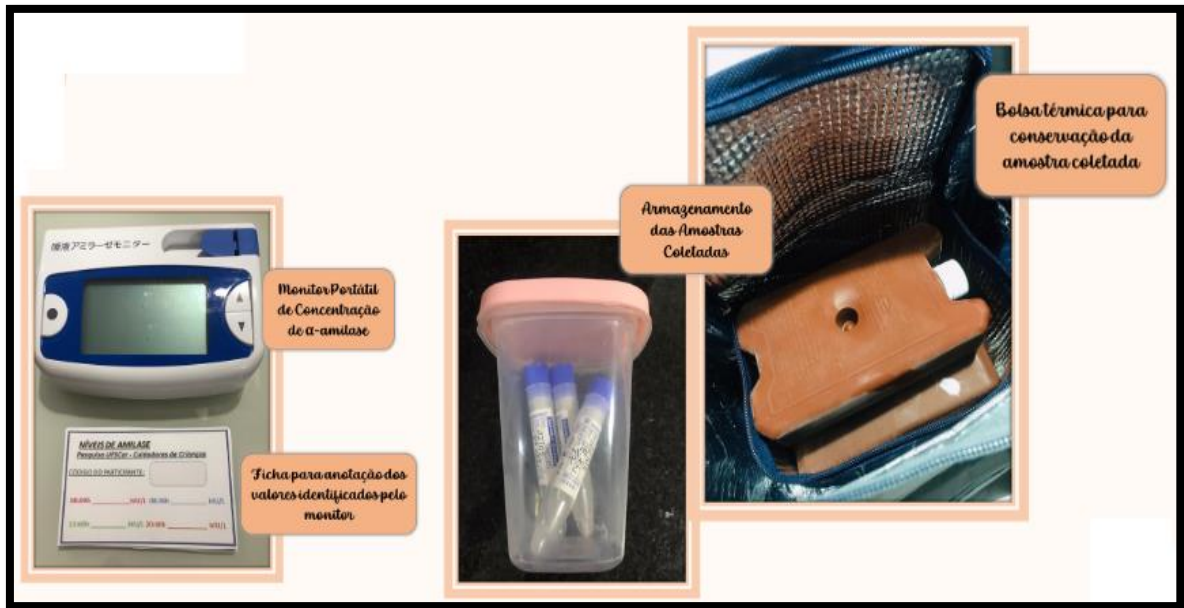


Figura 2: Kit coleta.

O protocolo de coleta de dados elegido foi o mesmo realizado no estudo de Bella e colaboradores (2011), conforme Figura 3. Justifica-se adotar esse protocolo por tratar-se de um estudo brasileiro, com uma amostra específica de cuidadores de crianças, publicado na *Psychoneuroendocrinology*, revista de referência na área de psiconeuroendocrinologia. Ademais, o uso do mesmo protocolo dará mais consistência nas discussões dos resultados.

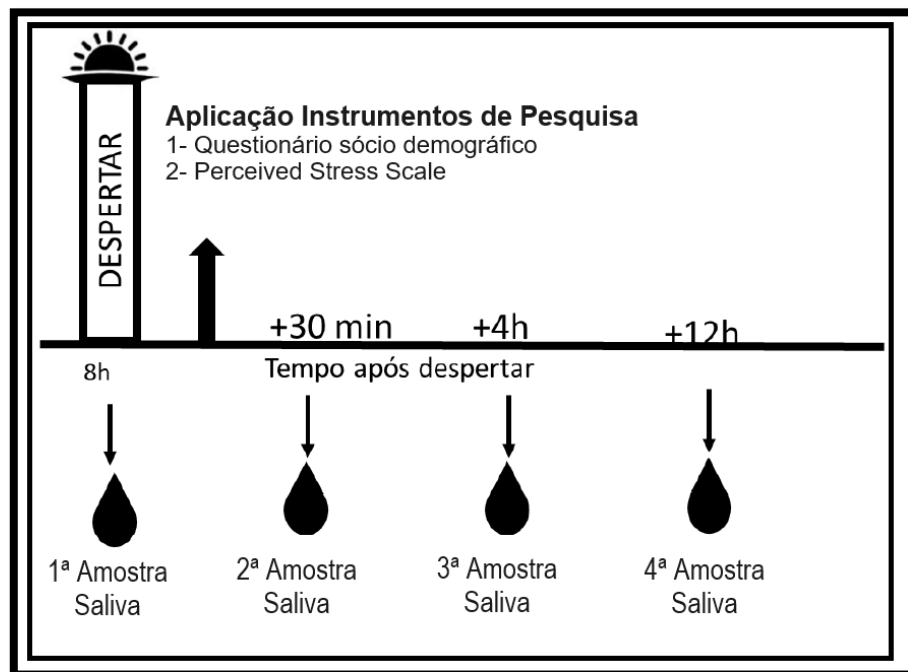


Figura 3: Fluxograma coleta de dados.

Desse modo, no dia anterior à data agendada, era enviado ao participante da pesquisa as recomendações de preparo para a coleta (Apêndice E), via *WhatsApp*®. As recomendações consistiam em não ingerir alimentos ou qualquer bebida 1h antes da coleta (inclusive café), não escovar os dentes ou usar enxaguante bucal antes da coleta, não fumar ou exercitar-se também 1 hora antes da coleta (Lopes-Júnior *et al.*, 2018). Ainda, os participantes foram orientados a não consumir bebida alcoólica nas 24 horas anteriores a coleta (Salimetrics®, USA). Os participantes também não podiam ter sido submetidos a procedimentos invasivos nas últimas horas.

No dia agendado, às 8:00h, eram coletadas as primeiras amostras de saliva para análise do cortisol e α -amilase. No intervalo de 30 minutos entre a primeira e a segunda coleta eram aplicados os instrumentos de pesquisa, os quais serão detalhados posteriormente. Após a segunda coleta, as pesquisadoras retornavam até o local indicado pelo participante às 12h e às 20h, totalizando três deslocamentos por participante.

Para a coleta do cortisol salivar foi utilizado o *Salivette*®, rolo absorvente que era mastigado suavemente por 2 minutos a fim de coletar uma quantidade de saliva mínima de 500 μ l (Figura 4). Após, o material biológico era condicionado em refrigeração até a entrega ao laboratório terceirizado contratado para processamento. As concentrações do cortisol salivar foram determinadas pelo método de eletroquimioluminescência (Elecsys 1010/1020 analyzers, Roche Diagnostic, Laval, Quebec). Os resultados eram disponibilizados em aproximadamente cinco dias via sistema informatizado do laboratório. A unidade de medida dos níveis de cortisol apresentada nos laudos foi ug/dL. Os valores de referências adotados foram: entre 08h e 08:30h valores inferior a 0,736 ug/dl; às 12h inferior a 0,252 ug/dl e às 20h inferior a 0,274ug/dl.

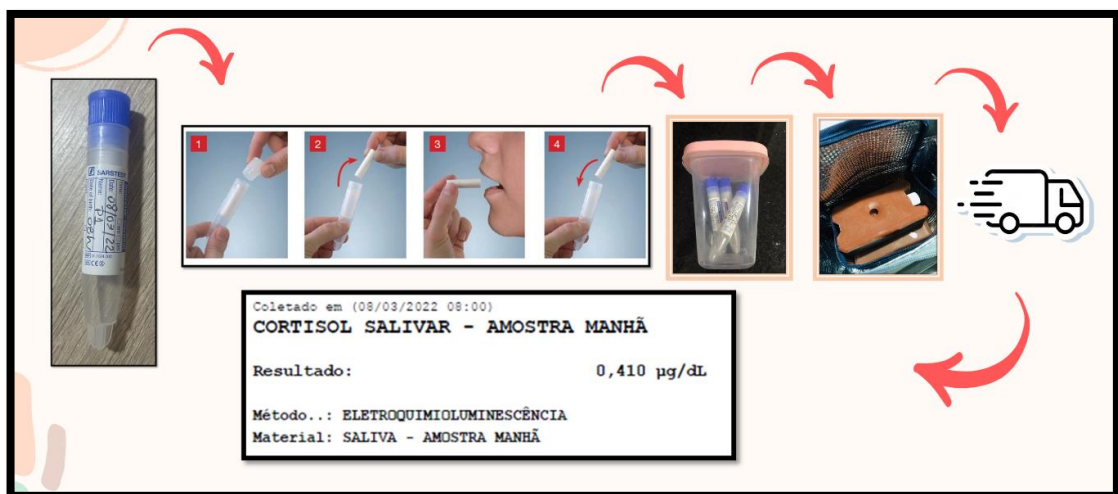


Figura 4: Demonstração de coleta de cortisol salivar.

Para coleta e análise da α -amilase foi utilizado um monitor portátil de concentração de α -amilase (Cocoro, Nipro, Osaka, Japão), conforme Figura 5. Assim, primeiramente, uma fita de teste descartável era inserida na região sublingual do participante por 60 segundos. A seguir, a fita era inserida no monitor para que o nível da enzima fosse calculado e apresentado no visor digital (Figura 6). Os valores apresentados pelo dispositivo variam de zero a 999 unidades por mililitro (U/ml). De acordo com o fabricante, valores até 30 (U/ml) indicam que não há estresse, de 31 a 45 U/ml pouco estresse, de 46 a 60 U/ml presença de estresse e acima de 61 U/ml muito estresse. Vale destacar que este dispositivo tem sido adotado em diversos estudos devido sua praticidade na coleta e análise da saliva (Costa, 2017; Garcia *et al*, 2018). Os valores indicados no monitor eram registrados numa ficha e posteriormente lançados no banco de dados (Apêndice F).

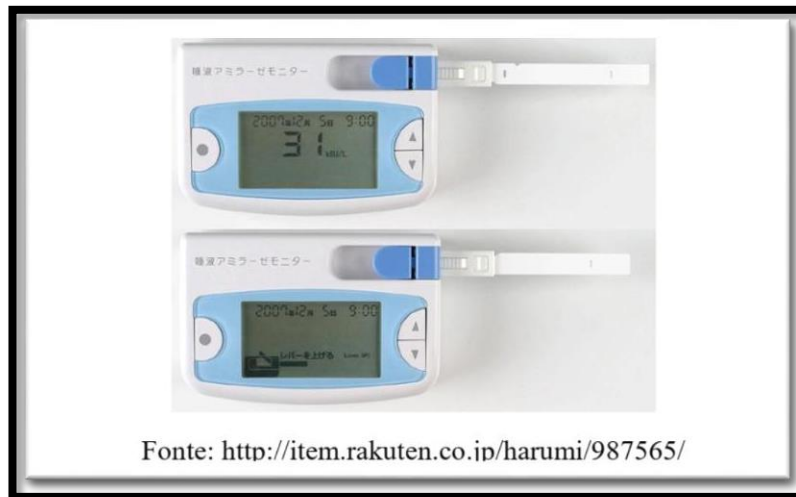


Figura 5: Monitor portátil de concentração de α -amilase.



Figura 6: Demonstração de coleta de α -amilase salivar.

4.4.3 Instrumentos de pesquisa

Os instrumentos de pesquisa foram convertidos num formulário eletrônico na plataforma *Google*®. Assim, os participantes puderam respondê-los utilizando um *Tablet* devidamente higienizado sob supervisão e apoio das pesquisadoras. Foram aplicados os seguintes instrumentos:

- ❖ **Instrumento de caracterização:** organizado com dados sociodemográficos dos cuidadores familiares como idade, raça/cor, escolaridade, situação conjugal, ocupação, renda familiar, número de moradores no domicílio e vivência de situações estressantes nos últimos 30 dias. O instrumento também abordava questões relativas às crianças como idade, sexo, demandas de cuidado exigidas (cuidado medicamentoso, tecnológico, habitual modificado e de desenvolvimento) e hospitalizações recentes (Apêndice G).
- ❖ ***Perceived Stress Scale* (PSS):** elaborada por Cohen e colaboradores em 1983 e traduzida para o português do Brasil como Escala de Estresse Percebido (Luft et al., 2007). Possui 14 questões com opções de resposta que variam de zero a quatro (0=nunca; 1=quase nunca; 2=às vezes; 3=quase sempre 4=sempre). As questões com conotação positiva têm sua pontuação somada de modo invertido. O total da escala é a soma das pontuações destas 14 questões podendo variar de zero a 56, sendo que quanto maior a pontuação, maior o estresse percebido (Anexo 1). O instrumento apresenta alta consistência interna em seus estudos originais, com valores de α de *Cronbach* acima de 0,80.

4.4.4 Medidas de precaução para coleta de dados

Diante do cenário da pandemia pela Covid-19 foram adotadas as seguintes precauções:

- ❖ Garantia de que as pesquisadoras estavam com esquema vacinal completo contra a Covid-19, além da dose reforço;
- ❖ Na véspera do dia agendado para coleta de dados era questionado sobre a presença de sintomas sugestivos da Covid-19 entre os moradores do domicílio. No caso de resposta afirmativa, a coleta era suspensa e reagendada;
- ❖ A equipe de coleta utilizou equipamentos de proteção individual (EPI) e permaneceu com *dispenser* de álcool em gel 70% para higienização das mãos;
- ❖ A coleta das amostras de saliva bem como a aplicação dos instrumentos aconteceu em ambientes amplos e ventilados como garagem, quintal ou varanda;

- ❖ O *Tablet* utilizado para aplicação dos instrumentos era higienizado com solução alcoólica antes e após o uso.

4.5 Variáveis do estudo

Nesse estudo, considerou-se como variável dependente o “Estresse” obtido a partir da pontuação da *Perceived Stress Scale* e dos níveis de cortisol e α -amilase salivar, conforme detalhado abaixo.

- ❖ Valor Cortisol (ug/dL) por horário de coleta
- ❖ AUCG Cortisol
- ❖ Valor α -amilase (U/ml) por horário de coleta
- ❖ AUCG α -amilase
- ❖ Estresse Percebido

As variáveis independentes foram as variáveis sociodemográficas e clínicas oriundas do instrumento de caracterização. Para algumas variáveis, devido à baixa frequência amostral que dificultava a aplicação dos testes foi necessário agrupar categorias, conforme detalhado abaixo:

- ❖ Raça/cor: Branco e Não branco. Na categoria não branco foram incluídas as opções preto, pardo e amarelo.
- ❖ Escolaridade: Ensino Fundamental/Médio e Ensino Superior.
- ❖ Situação Conjugal: Com companheiro(a) e Sem companheiro(a).
- ❖ Ocupação: Remunerada e Não remunerada. Na categoria remunerada foram incluídos os autônomos, trabalhadores com carteira assinada e trabalhadores informais. Na categoria não remunerada ficaram as pessoas que afirmaram ser “do lar” ou desempregadas.
- ❖ Idade Cuidador: variável numérica.
- ❖ Renda Familiar: variável numérica.
- ❖ Número moradores: variável numérica.
- ❖ Evento estressante: variável dicotômica (Sim/Não).
- ❖ Idade criança: variável numérica
- ❖ Sexo criança: Feminino e Masculino
- ❖ Demandas de cuidado: Duas demandas, Três demandas e Quatro demandas. Variável exclusiva para o grupo “*caso*”.
- ❖ Hospitalização: variável dicotômica (Sim/Não).

4.6 Análise dos dados

Análises descritivas foram realizadas para caracterizar os participantes do estudo por meio de frequências absolutas e relativas, média, mediana, desvio padrão, quartis, valores mínimos e máximos. Para determinar a produção diária total do cortisol e da α -amilase salivar calculou-se a Área sob a Curva (AUC) que é considerada uma medida da produção diária total de um biomarcador, calculada com base no método do *log-trapezoidal* (Pruessner *et al.*, 2003). Segundo os autores, é possível calcular a área sob curva em relação a base/solo (AUCG) ou a partir da primeira medida para todos os pontos ao longo do tempo (AUCI). Todavia, no presente estudo optou-se por calcular somente a AUCG.

Após teste de normalidade observou-se que, em geral, as variáveis não apresentavam distribuição normal, para tanto, utilizou-se o teste de Wilcoxon, um teste de comparação de medidas apropriado para variáveis quantitativas que não seguem distribuição normal. Para a comparação pareada, as medidas foram transformadas em rankings. Para a comparação entre medidas categóricas, devido à característica pareada dos dados, optou-se por aplicar o teste de McNemar.

Dentre as técnicas estatísticas apropriadas para estudos do tipo caso-controle, a ANOVA de medidas repetidas destaca-se por ser frequentemente usada na literatura e permitir análise conjunta de todos os fatores de interesse. No entanto, a ANOVA exige que a variável dependente tenha distribuição aproximadamente normal. Desse modo, foram testadas transformações nas variáveis para que estas apresentassem comportamento aproximadamente normal. Após validação por meio da análise de resíduos da ANOVA (homoscedasticidade e normalidade), da significância das variáveis preditoras e estatísticas de ajuste, as variáveis foram assim transformadas:

- ❖ Valor Cortisol (ug/dL) por horário de coleta – Raiz Cortisol
- ❖ AUCG Cortisol- Log10(AUCG Cortisol)
- ❖ Valor α -amilase por horário de coleta - Log10(Amilase)
- ❖ AUCG α -amilase- Log10(AUCG Amilase)
- ❖ Estresse Percebido- não foi transformada pois já segue distribuição normal.

Diferenças entre as variáveis foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. Todas as análises estatísticas foram conduzidas no programa computacional SAS *System for Windows (Statistical Analysis System)*, versão 9.04 (SAS® *Institute Inc*, 2002-2008, Cary, NC, USA) e R versão 4.2.3.

Entendendo que estudos de caso-controle geralmente realizam o cálculo de *odds ratio*, faz-se oportuno justificar o porque não foi calculado no presente estudo. Primeiramente, para utilizar o *odds ratio* é obrigatório que a variável dependente seja categórica e, nesse estudo, todas as variáveis dependentes são contínuas. Embora não seja impossível essa análise, para calcular *odds ratio* seria necessário inverter o lugar das variáveis dependentes e independentes, o que não é exatamente correto do ponto de vista da definição de variáveis dependentes e independentes.

Por fim, com o objetivo de identificar possível risco de viés de aferição, foi aplicado o teste Mann-Whitney para comparar os valores de cortisol e α -amilase de acordo com o local da coleta de dados (domicílio e outro local).

4.7 Procedimentos éticos

O desenvolvimento do estudo atendeu as normas nacionais e internacionais de ética em pesquisa envolvendo seres humanos. O projeto foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos em cumprimento à Resolução 466/2012 da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Conselho Nacional de Saúde (Brasil, 2012) e aprovado sob o número do parecer: 5.261.942, em 24 de fevereiro de 2022 (Anexo 2).

Buscando zelar pela integridade dos sujeitos envolvidos no estudo foi elaborado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice D), o qual por meio de linguagem simples e objetiva informou sobre os objetivos do estudo, os procedimentos para coleta de dados, os possíveis riscos/constrangimentos, os benefícios, bem como a garantia de sigilo e o respeito ao desejo de participarem ou não da pesquisa.

Essa pesquisa não proporcionou benefícios imediatos ao participante, contudo, a participação possibilitou a ampliação do conhecimento a respeito do estresse entre cuidadores familiares de crianças com necessidades especiais de saúde e, a partir destes resultados, novas estratégias de atenção ao cuidador poderão ser incorporadas. Quanto aos riscos previstos destacou-se: limitação do pesquisador em assegurar total confidencialidade devido ao potencial risco de violação dos dados no ambiente virtual; constrangimento e desconforto ao responder as perguntas do formulário e ao coletar as amostras de saliva. Todavia, foi enfatizado no TCLE que a participação é livre e a desistência a qualquer momento é garantida. Além disso, nos colocamos à disposição para amparar e confortar o participante, caso fosse necessário.

Para assegurar o sigilo e a confidencialidade das informações os participantes foram codificados com sigla e números sendo a sigla P (participante) para o grupo “*caso*” e PC

(participante controle) para o grupo “*controle*”, inclusive nos laudos do laboratório. Os números no grupo “*caso*” foram incluídos conforme ordem de agendamento: P1; P2; P3 e assim consecutivamente. Já o grupo “*controle*” foi codificado de acordo com o pareamento da díade, ou seja, se pareado com o participante 1 o código foi PC1, se pareado com o participante 5, o código foi PC5 e assim por diante (Anexo 3).

4.8 Desafios vivenciados

É importante evidenciar alguns desafios enfrentados para o desenvolvimento do presente estudo:

- ❖ Diante da pandemia da Covid-19, não se obteve liberação imediata da Universidade para coleta de dados presencial, em especial por tratar-se de amostras salivares.
- ❖ Alguns cuidadores familiares, tanto do grupo “*caso*” como do grupo “*controle*”, após conhecer maiores detalhes sobre a pesquisa, em especial, a necessidade de quatro coletas ao longo de um dia, desistiram de participar.
- ❖ Houve muitas desmarcações na véspera, em ambos os grupos. Embora tenha sido possível reagendar quantas vezes os participantes necessitavam, tal situação impossibilitava agendar outro participante no mesmo dia.
- ❖ O projeto contou com 1 (um) monitor portátil de análise da α -amilase, inviabilizando o agendamento de mais de uma participante por dia.
- ❖ As amostras de saliva requeriam armazenamento adequado e envio oportuno ao laboratório parceiro. Tal logística inviabilizou a coleta em alguns dias da semana (sexta-feira, sábado e véspera de feriados) uma vez que o condicionamento da amostra não poderia ser superior a 48h após a coleta.

5.1 Caracterização dos cuidadores familiares e crianças

Participaram do estudo 100 cuidadores familiares sendo 50 do grupo “*caso*” e 50 do grupo “*controle*”, 100% eram do sexo feminino. A média de idade foi 38,22 (dp=6,88) para o grupo “*caso*” e 38,16 (dp= 6,08) para o “*controle*”. Quanto à situação conjugal, em ambos os grupos a opção com companheiro predominou (82%-92%). A caracterização detalhada dos participantes esta apresentada na Tabela 2.

Tabela 2: Caracterização dos cuidadores familiares dos grupos “*caso*” (n=50) e “*controle*” (n=50), segundo as variáveis sociodemográficas. São Carlos/SP, Brasil, 2023.

Variáveis	Caso			Controle			p-valor
	Média (dp)	Mediana	Mín-Max.	Média (dp)	Mediana	Mín-Max.	
Idade cuidador	38,22 (6,88)	38,50	26 – 54	38,16 (6,08)	39,00	23 - 51	0,9486*
Renda familiar	4.376 (3.776)	3.100	1.000 – 20.000	9.824 (6.722)	8.500	1.500 – 30.000	<0,0001*
Número moradores	3,72 (1,01)	4,00	2 – 7	3,70 (0,91)	4,00	2 – 6	0,9005*
	n	%		n	%		p-valor
Raça							0,0046**
Branco	25	50		41	82		
Não branco	25	50		9	18		
Escolaridade							0,0164**
Ensino Fund/Médio	31	62		18	36		
Ensino Superior	19	38		32	64		
Situação conjugal							0,2673**
Com companheiro	41	82		46	92		
Sem companheiro	9	18		4	8		
Ocupação							0,0013**
Remunerada	24	48		42	84		
Não remunerada	26	52		8	16		

*Teste de Wilcoxon **Teste de McNemar

Analisando a Tabela 2, é possível identificar que os grupos apresentaram diferença significativa para as variáveis renda familiar, raça, escolaridade e ocupação. Segundo a análise, o grupo “*caso*” possui renda menor quando comparada ao grupo “*controle*” (mediana 3.100 - 8.500 respectivamente). Quanto à raça/cor, 25(50%) participantes do grupo “*caso*” se autodeclararam “não branco”, já no grupo “*controle*” apenas 9(18%). No que diz respeito à escolaridade, houve um predomínio de cuidadores familiares com Ensino Fundamental/Médio entre o grupo “*caso*” e com Ensino Superior entre os “*controles*”. Por fim, observou-se que 26

(52%) mães do grupo “*caso*” não possuíam trabalho remunerado enquanto que 8 (16%) participantes do grupo “*controle*” relataram situação semelhante.

Com relação à caracterização das crianças, a idade média foi de 6,24 anos no grupo “*caso*” e 6,06 anos no “*controle*”, resultado esperado, uma vez que a idade da criança foi pareada entre os grupos. Em relação ao sexo, o masculino prevaleceu no grupo “*caso*” (62%) e o feminino no grupo “*controle*” (58%). Quanto às demandas de cuidado das CRIANES, a maioria (55,10%) necessitava de três demandas de cuidado (cuidado habitual modificado, cuidado de desenvolvimento e cuidado medicamentoso), sete crianças faziam uso de dispositivos tecnológicos para manutenção da vida, totalizando quatro demandas de cuidados. Também como já era previsto, as crianças do grupo “*caso*” foram mais comumente hospitalizadas do que as crianças do grupo “*controle*”. A Tabela 3 apresenta os detalhes da caracterização das CRIANES e crianças do grupo controle incluídas no estudo.

Tabela 3: Caracterização das crianças dos grupos “*caso*” (n=50) e “*controle*” (n=50), segundo as variáveis sociodemográficas e clínicas. São Carlos/SP, Brasil, 2023.

Variáveis	Caso			Controle		
	Média (dp)	Mediana	Mín-Max.	Média (dp)	Mediana	Mín-Max.
Idade criança	6,24 (2,76)	6	1-11	6,06 (2,83)	6	1-12
	n	%		n	%	
Sexo						
Feminino	19	38		29	58	
Masculino	31	32		21	42	
Demandas de cuidado						
Duas demandas	15	30,6		-	-	
Três demandas	27	55,1		-	-	
Quatro demandas	7	14,3		-	-	
Hospitalização						
Sim	21	42		4	8	
Não	29	58		46	92	

5.2 Estresse percebido

Com relação à vivência de situações estressantes nos últimos 30 dias, 40 (80%) cuidadores familiares do grupo “*caso*” e 29 (58%) do grupo “*controle*” afirmaram ter vivenciado uma situação estressante recentemente. Dentre as situações estressantes citadas destacam-se: situação de doença da criança; situações familiares, adaptação escolar, entre outros. A seguir, a

Tabela 4 apresenta a pontuação obtida a partir da aplicação da PSS sendo possível observar diferença estatisticamente significativa entre os grupos de cuidadores familiares, em outras palavras, a pontuação de estresse percebido foi maior no grupo “*caso*”.

Tabela 4: Análise descritiva do Estresse Percebido de cuidadores familiares dos grupos “*caso*” (n=50) e “*controle*” (n=50). São Carlos/SP, Brasil, 2023.

Estresse Percebido	Média (dp)	Mediana	Min-Máx.	p-valor*
Caso	33,76 (6,07)	33,00	21-45	<0,0001
Controle	27,52 (8,09)	28,00	5-49	

*Teste de Wilcoxon dp= desvio-padrão

Tal significância foi mantida ao realizar o teste ANOVA de medidas repetidas considerando a pontuação de Estresse Percebido e os grupos. Conforme indicado na Tabela 5, estima-se um aumento de 6,24 no resultado do Estresse Percebido no grupo “*caso*” quando comparado com o “*controle*”.

Tabela 5: Teste de efeitos fixos do Estresse Percebido de acordo com os grupos. São Carlos/SP, Brasil, 2023.

Variável	Categoria	Estimativa	p-valor
	Intercepto	27,5200	< 0,0001
Estresse Percebido	Caso	6,2400	< 0,0001
	Controle	Referência	-

A seguir, foram testados modelos ANOVA de medidas repetidas incluindo, além da variável grupo, as variáveis sociodemográficas e clínicas de interesse (Tabela 6). Nessa análise, é possível observar que a diferença significativa na pontuação do Estresse Percebido entre os grupos “*caso*” e “*controle*” foi mantida, mesmo com a inclusão das demais variáveis. Dentre as variáveis que mantiveram resultado significativo sendo controlados os efeitos de grupo, foram: idade do cuidador, renda familiar e evento estressante. Faz-se oportuno mencionar que para a variável “demandas de cuidado” foi realizado ANOVA simples, ou seja, não foi incluído o grupo no modelo uma vez que no grupo “*controle*” as crianças não exigiam nenhuma demanda especial de cuidado.

Tabela 6: Teste de efeitos fixos de Estresse Percebido de acordo com o grupo e variáveis sociodemográficas e clínicas de interesse. São Carlos/SP, Brasil, 2023.

Variável	p- valor
Grupo	< 0,0001
Idade cuidador	0,0098
Grupo	0,0003
Raça/cor	0,5612
Grupo	0,0004
Escolaridade	0,0640
Grupo	< 0,0001
Situação conjugal	0,4756
Grupo	0,0004
Ocupação	0,1576
Grupo	0,0158
Renda familiar	0,0003
Grupo	< 0,0001
Número moradores	0,2058
Grupo	0,0003
Evento estressante	0,0115
Grupo	< 0,0001
Idade criança	0,3012
Demandas de cuidado	0,7035
Grupo	0,0004
Hospitalização	0,3465
Grupo	< 0,0001
Sexo criança	0,5613

A Tabela 7 apresenta o coeficiente estimado das variáveis sociodemográficas que apresentaram resultado significativo na tabela anterior. Em relação à idade do cuidador, sendo controlados os efeitos de grupo, para cada um ano a mais na idade do cuidador é esperado diminuição de 0,2845 na pontuação do estresse percebido. Quanto à renda familiar, sendo controlado os efeitos de grupo, para cada um real a mais na renda familiar é esperado -0,0005 pontos no resultado do estresse. Já com relação à variável “evento estressante”, sendo controlado os efeitos de grupo, estima-se um aumento de 3,99 na pontuação estresse percebido entre aqueles que afirmaram ter vivenciado situação estressantes nos últimos 30 dias.

Tabela 7: ANOVA de medidas repetidas para estresse percebido, grupo, idade cuidador, renda familiar e evento estressante. São Carlos/SP, Brasil, 2023.

Variável	Categoria	Estimativa	p-valor
Intercepto	-	38,3780	< 0,0001
Grupo	Caso	6,2571	< 0,0001
	Controle	Referência	-
Idade do cuidador	-	-0,2845	0,0098
Intercepto	-	32,1043	< 0,0001
Grupo	Caso	3,6981	0,0158
	Controle	Referência	-
Renda familiar	-	-0,0005	0,0003
Intercepto	-	25,2057	< 0,0001
Grupo	Caso	5,3622	0,0003
	Controle	Referência	-
Evento estressante	Sim	3,9901	0,0115
	Não	Referência	-

5.3 Análise do cortisol salivar

A Tabela 8 apresenta a comparação dos valores do cortisol salivar entre os grupos a partir do Teste de Wilcoxon, sendo observado diferença significativa para o cortisol das 20h e AUCG Cortisol, ou seja, o grupo de cuidadores familiares de CRIANES apresentaram menor nível do cortisol coletado às 20 horas bem como, menor produção total diária de cortisol quando comparado ao grupo “controle”.

Tabela 8: Análise descritiva do cortisol salivar entre os grupos “caso” (n=50) e “controle”(n=50). São Carlos/SP, Brasil, 2023.

Variável	Média (dp)	Mediana	Mínimo- Máximo	p-valor*
Cortisol 08:00h				0,0631
Caso	0,33 (0,21)	0,27	0,07 – 1,13	
Controle	0,39 (0,22)	0,32	0,13 – 1,28	
Cortisol 08:30h				0,2695
Caso	0,27 (0,20)	0,21	0,05 – 0,96	
Controle	0,29 (0,22)	0,23	0,08 – 1,50	
Cortisol 12:00h				0,1524
Caso	0,13 (0,08)	0,12	0,05 – 0,51	
Controle	0,16 (0,10)	0,13	0,05 – 0,59	

Cortisol 20:00h				0,0260
Caso	0,07 (0,04)	0,05	0,05 – 0,26	
Controle	0,11 (0,13)	0,05	0,05 – 0,60	
AUCG Cortisol				0,0205
Caso	98,14 (45,75)	87,28	39,12 – 243,60	
Controle	121,41 (70,75)	105,25	46,89 – 355,50	

*Teste de Wilcoxon dp= desvio-padrão AUCG= área sob a curva em relação ao solo

A Figura 7 apresenta graficamente os níveis médios de cortisol ao longo do dia. A linha tracejada em vermelho representa o ritmo circadiano de cortisol salivar do grupo “*caso*” enquanto a linha contínua verde representa o ritmo circadiano de cortisol salivar do grupo “*controle*”. É possível observar que o ritmo circadiano está preservado em ambos os grupos, com concentrações altas de cortisol ao acordar e diminuição progressiva nos horários subsequentes.

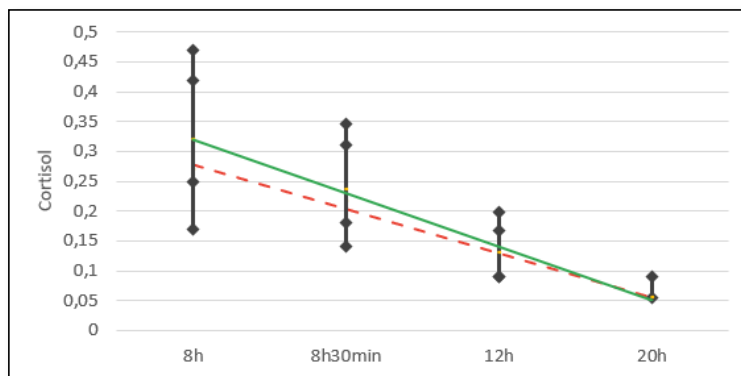


Figura 7: Ritmo circadiano do cortisol salivar de cuidadores familiares de CRIANES (casos) e de cuidadores familiares não CRIANES (controles) nos tempos 8h, 8h30min, 12h e 20h.

O teste ANOVA de medidas repetidas, considerando os grupos e os diferentes parâmetros do cortisol salivar, está apresentado nas Tabela 9. De acordo com o coeficiente estimado, espera-se uma diminuição de -0,0442 no resultado de Raiz Cortisol no grupo “*caso*” quando comparada com o “*controle*”, mantidas as demais variáveis constantes. Não houve diferença no resultado de AUCG Cortisol nesse teste, apesar de ter ficado próximo de p-valor significativo, conforme apresentado abaixo:

Tabela 9: ANOVA de medidas repetidas de cortisol salivar dos grupos “*caso*” (n=50) e “*controle*” (n=50). São Carlos/SP, Brasil, 2023.

Variável	Categoria	Estimativa	p- valor
Raiz Cortisol	Intercepto	0,2989	< 0,0001
	Caso	-0,0442	0,0075
	Controle	Referência	-
AUCG Cortisol	Intercepto	2,0287	< 0,001
	Caso	-0,0757	0,0572
	Controle	Referência	-

AUCG= área sob a curva em relação ao solo

Diante da diferença significativa entre os grupos para a variável renda familiar (Tabela 2), surgiu a seguinte preocupação: a diferença nos níveis de cortisol (Raiz Cortisol) provém do fato do grupo “*caso*” ser formado por cuidadores familiares de crianças com necessidades especiais de saúde ou do fato do grupo ter renda inferior? Para tentar esclarecer essa hipótese foi realizado o teste ANOVA de medidas repetidas apenas para o grupo “*caso*” avaliando a relação entre as demais variáveis sociodemográficas e clínicas de interesse e Raiz Cortisol, conforme apresentado na Tabela 10. Pode-se observar que a renda familiar não apresentou associação estatisticamente significativa com o nível de cortisol ($p= 0,5509$). Assim, como dentro do grupo “*caso*”, não houve relação entre renda e cortisol, este é um indicativo de que alterações no nível de cortisol provém realmente do fato do grupo ser formado por cuidadores familiares de crianças com necessidades especiais de saúde.

Tabela 10: Teste de efeitos fixos da variável “Raiz Cortisol” de acordo com as variáveis sociodemográficas e clínicas de interesse do grupo “*caso*”. São Carlos/SP, Brasil, 2023.

Variável	p-valor
Idade cuidador	0,0587
Raça/cor	0,4448
Escolaridade	0,9633
Situação conjugal	0,8809
Ocupação	0,0924
Renda familiar	0,5509
Número moradores	0,9947
Evento estressante	0,8535
Idade criança	0,3817
Sexo criança	0,6349
Hospitalização	0,0333

Demandas de cuidado	0,4260
Estresse percebido	0,3931

Dando continuidade a análise da Tabela 10, pode-se observar que a variável “demandas de cuidado” não apresentou relação estatisticamente significativa com Raiz Cortisol ($p=0,4260$), anulando uma possível hipótese de relação entre nível de cortisol e cuidadores familiares de crianças que exigem mais cuidados. Em contrapartida, a variável “hospitalização” apresentou significância ($p=0,0333$). De acordo com o coeficiente estimado, apresentado na Tabela 11, espera-se um aumento de 0,0317 no resultado da Raiz Cortisol das mães que afirmaram hospitalização da criança no último ano quando comparada com as mães de crianças que não necessitaram de hospitalização.

Tabela 11: ANOVA da Raiz Cortisol em relação à hospitalização da criança, somente do grupo “*caso*”. São Carlos/SP, Brasil, 2023.

Variável	Categoria	Estimativa	Valor p
Hospitalização	Sim	0,0317	0,0333
	Não	Referência	-

Por fim, foram testados modelos ANOVA de medidas repetidas considerando o melhor modelo para os diferentes parâmetros de cortisol salivar adicionando grupo (apenas para Raiz Cortisol), variáveis sociodemográficas, clínicas e Estresse Percebido, conforme apresentado nas Tabelas 12 e 13.

Tabela 12: Teste de efeitos fixos dos diferentes parâmetros de cortisol salivar de acordo com grupo, variáveis sociodemográficas, clínicas e Estresse Percebido. São Carlos/SP, Brasil, 2023.

Variável	Raiz Cortisol	AUCG Cortisol
	p-valor	p-valor
Idade cuidador	0,1074	0,0405
Grupo	0,0076	
Raça/Cor	0,1054	0,3297
Grupo	0,0108	
Escolaridade	0,4543	0,3482
Grupo	0,0067	

Situação conjugal	0,8289	0,7648
Grupo	0,0092	
Ocupação	0,0006	0,0106
Grupo	0,0705	
Renda familiar	0,2056	0,9462
Grupo	0,0033	
Números moradores	0,9427	0,7755
Grupo	0,0078	
Evento estressante	0,5982	0,7303
Grupo	0,0069	
Idade criança	0,4849	0,7875
Grupo	0,0071	
Sexo criança	0,3373	0,8638
Grupo	0,0047	
Hospitalização	0,4783	0,7004
Grupo	0,0066	
Estresse percebido	0,1607	0,6949
Grupo	0,0026	

AUCG= área sob a curva em relação ao solo

Na Tabela 12 observa-se que a ocupação do cuidador mostrou-se significativa para explicar o comportamento da Raiz Cortisol ($p=0,0006$), no entanto, ao incluí-la, a variável Grupo deixou de ser significativa ($p=0,0705$), possivelmente isso ocorre por haver relação entre o grupo e a ocupação. As variáveis “Idade cuidador” e “ocupação” mostraram-se significativas para explicar o comportamento da AUCG Cortisol ($p=0,0405$ e $p= 0,0106$, respectivamente).

Tabela 13: ANOVA de Raiz Cortisol em relação à ocupação do cuidador e de AUCG Cortisol em relação à idade e ocupação do cuidador. São Carlos/SP, Brasil, 2023.

Variável	Categoria	Estimativa	p-valor
Raiz Cortisol	Intercepto	0,2718	< 0,0001
	Autônomo	0,0236	0,3112
	Trabalhador com carteira assinada	0,0199	0,3026
	Trabalhador informal	0,3340	< 0,0001
	Desempregado	0,0825	0,0430
	Do lar	Referência	-
AUCG Cortisol	Intercepto	0,1181	< 0,001
	Idade cuidador	0,0030	0,0405

			-
AUCG Cortisol	Intercepto	19,186	< 0,001
	Autônomo	0,0910	0,1178
	Trabalhador com carteira assinada	0,0899	0,0448
	Trabalhador informal	0,5895	0,0029
	Desempregado	0,1927	0,0598
	Do lar	Referência	-

AUCG= área sob a curva em relação ao solo.

De acordo com a Tabela 13, é esperado que cuidadores familiares que indicaram estar desempregados ou executando trabalho informal apresentem, respectivamente, um aumento de 0,3340 e 0,0825 na Raiz Cortisol quando comparado com aqueles que afirmaram ser “do lar”. Ainda, estima-se um aumento de 0,5895 na AUCG Cortisol entre os participantes que trabalham informalmente em comparação com os cuidadores familiares “do lar”. Interpretação semelhante pode ser feita entre os trabalhadores de carteira assinada, onde estima-se um aumento de 0,0899 na produção diária do cortisol (AUCG) em comparação com os cuidadores familiares “do lar”. Em relação à idade do cuidador, para cada um ano a mais na idade do cuidador é esperado o acréscimo de 0,0030 no valor do AUCG Cortisol.

5.4 Análise da α -amilase salivar

A Tabela 14 apresenta a comparação dos valores da α -amilase entre os grupos a partir do Teste de Wilcoxon, não sendo observado diferenças significativas entre os grupos.

Tabela 14: Análise descritiva da α -amilase entre os grupos “*caso*” (n=50) e “*controle*” (n=50). São Carlos/SP, Brasil, 2023.

Variável	Média (dp)	Mediana	Mínimo- Máximo	p-valor
Amilase 08:00h				0,0502
Caso	23,18 (21,54)	15,50	3,00 – 112,00	
Controle	15,38 (10,65)	14,00	3,00 – 40,00	
Amilase 08:30h				0,1719
Caso	20,28 (16,44)	16,00	2,00 – 69,00	
Controle	15,72 (9,71)	15,00	3,00 – 49,00	

Amilase 12:00h				0,6605
Caso	27,20 (21,75)	22,50	3,00 – 97,00	
Controle	24,22 (17,98)	20,50	3,00 – 72,00	
Amilase 20:00h				0,1106
Caso	24,74 (20,15)	20,50	3,00 – 75,00	
Controle	18,86 (12,97)	17,50	3,00 – 49,00	
AUCG Amilase				0,1280
Caso	18.102,90 (12.171,01)	26.775,00	2.280,00 – 46.605,00	
Controle	14.999,40 (8.163,64)	19.200,00	2.985,00 – 37.110,00	

*Teste de Wilcoxon dp= desvio-padrão AUCG= área sob a curva em relação ao solo

A Figura 8 apresenta graficamente os níveis médios de α -amilase ao longo do dia. A linha tracejada em vermelho representa o ritmo circadiano da α -amilase salivar do grupo “*caso*” enquanto a linha contínua verde representa o ritmo circadiano da α -amilase do “*controle*”. É possível observar que o ritmo circadiano está preservado em ambos os grupos, com concentrações mais baixas ao acordar e aumento progressivo nos horários subsequentes.

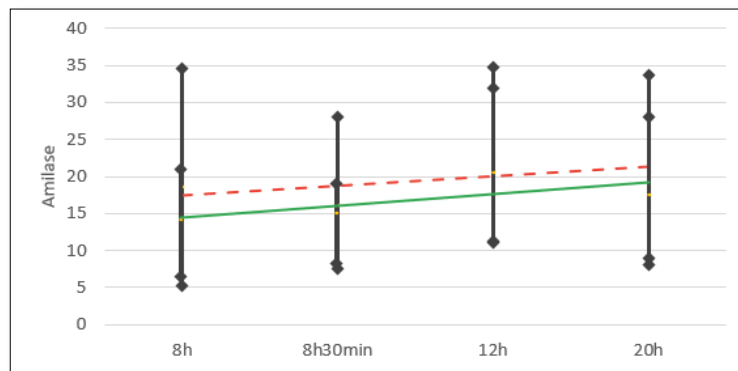


Figura 8: Ritmo circadiano α -amilase de cuidadores familiares de CRIANES (casos) e de cuidadores familiares não CRIANES (controles) nos tempos 8h, 8h30min, 12h e 20h.

A relação entre grupo e os diferentes parâmetros da α -amilase também não foi identificada no teste ANOVA de medidas repetidas. Para tanto, foram testados modelos ANOVA simples entre α -amilase e variáveis independentes de interesse, não sendo identificado nenhum resultado significativo, conforme apresentado na Tabela 15.

Tabela 15: Teste de efeitos fixos dos diferentes parâmetros de α -amilase de acordo com as variáveis de interesse. São Carlos/SP, Brasil, 2023.

Variável	Log10(Amilase)	AUCG Amilase
	p-valor	p-valor
Idade cuidador	0,5526	0,3786
Raça/cor	0,6917	0,5992
Escolaridade	0,1285	0,2448
Situação conjugal	0,5977	0,3034
Ocupação	0,2573	0,4642
Renda familiar	0,6587	0,6939
Número moradores	0,2666	0,2591
Evento estressante	0,8389	0,9351
Idade criança	0,3309	0,2088
Sexo criança	0,9263	0,8735
Hospitalização	0,8074	0,9393
Demandas de cuidado	0,0693	0,1557
Estresse Percebido	0,5720	0,3383

AUCG= área sob a curva em relação ao solo

5.5 Cálculo risco de viés de aferição

Conforme registrado no método, pressupondo risco de viés de aferição, foi aplicado o teste Mann-Whitney para comparar os valores de cortisol e α -amilase de acordo com o local da coleta de dados. Conforme mostra a Tabela 16, o local de coleta apresentou diferença significativa entre os participantes do grupo controle para o nível de cortisol às 20 horas, embora com número reduzido de participantes na opção “outro local”.

Tabela 16: Análise inferencial de acordo com o local e dia da coleta de dados. São Carlos/SP, Brasil, 2023.

Variável	Local da coleta				
	Domicílio		Outro Local		p- valor
	n	Média (dp)	n	Média (dp)	
Amilase 08h					
Caso	44	23,57 (22,65)	06	20,33 (11,09)	0,8690
Controle	43	15,42 (10,95)	07	15,14 (9,34)	0,9664
Amilase 08:30h					
Caso	44	20,50 (17,12)	06	18,67 (11,11)	0,8930
Controle	42	15,83 (10,34)	08	15,12 (5,77)	0,8319

Amilase 12:00h					
Caso	43	28,09 (23,01)	07	21,71 (10,78)	0,7903
Controle	41	24,78 (19,10)	09	21,67 (12,17)	0,9094
Amilase 20:00h					
Caso	48	25,10 (20,32)	02	16,00 (18,38)	---
Controle	47	19,23 (13,27)	03	13,00 (4,00)	0,5259
Cortisol 8:00h					
Caso	44	0,33 (0,22)	06	0,30 (0,18)	0,9405
Controle	43	0,38 (0,21)	07	0,40 (0,25)	0,8667
Cortisol 8:30h					
Caso	44	0,27 (0,21)	06	0,26 (0,16)	0,9286
Controle	42	0,28 (0,22)	08	0,34 (0,24)	0,3744
Cortisol 12:00h					
Caso	43	0,13 (0,08)	07	0,11 (0,04)	0,7787
Controle	41	0,15 (0,11)	09	0,18 (0,07)	0,1423
Cortisol 20:00h					
Caso	48	0,06 (0,03)	02	0,16 (0,15)	---
Controle	47	0,10 (0,11)	03	0,29 (0,21)	0,0101

*Teste Mann-Whitney

--- Não houve observações suficientes por categoria para aplicação de teste estatístico

O delineamento metodológico proposto pareou os grupos a partir da idade da criança e do familiar cuidador. Todavia, foi possível observar diferenças significativas entre os grupos com relação à renda familiar, raça/cor, escolaridade e ocupação.

No que diz respeito à renda familiar, o grupo “*caso*” apresentou rendimento médio de 4.376 reais mensal e o “*controle*” de 9.824 reais ($p < 0,0001$) corroborando com os resultados de uma investigação do tipo caso-controle que comparou o nível de cortisol salivar e a percepção de sobrecarga e estresse de cuidadores de crianças com paralisia cerebral e de cuidadores de crianças sem necessidades especiais de saúde. Segundo esse estudo, a renda também foi significativamente menor entre os cuidadores de crianças com necessidades especiais de saúde (4.531 dólares/ano) enquanto que a renda anual do grupo controle foi de 8.676 dólares (Bella; Garcia; Spadari-Bratfisch, 2011). Na mesma direção, estudo do tipo caso-controle que explorou a associação entre cortisol ao despertar, estresse, depressão e ansiedade em pais de crianças com doenças crônicas também identificou renda menor entre os participantes do grupo caso (Ljubičića *et al.*, 2020).

A questão da renda está intimamente relacionada aos outros aspectos socioeconômicos que também apresentaram diferença significativa sobretudo a escolaridade e ocupação. No presente estudo, 24 (48%) cuidadoras de CRIANES afirmaram exercer atividade remunerada, já no grupo controle, 42(84%) mulheres trabalhavam. Diferença semelhante também foi revelada em um estudo conduzido junto a mães de crianças com autismo e crianças com desenvolvimento típico. De acordo com os autores, 11% das mães de crianças com diagnóstico de autismo possuíam emprego, em contrapartida, esse percentual aumentou para 26% entre as mães do grupo controle (Padden; James, 2017).

Para Cardoso e colaboradores (2021), não exercer atividade remunerada é reflexo da necessidade de dispor de tempo para o cuidado da criança/adolescente com condições crônicas. Ademais, segundo estudo que examinou a prevalência da insuficiência alimentar entre CRIANES norte-americanas, um índice importante relacionado à questão socioeconômica, a redução no emprego dos pais e as despesas médicas mais elevadas ajudam a explicar tal cenário (Balistreri, 2019).

O baixo nível de escolaridade de cuidadores familiares de CRIANES também já foi retratado na literatura. Por exemplo, pesquisa qualitativa que abordou a percepção de cuidadoras sobre a continuidade do cuidado a crianças com necessidades especiais de saúde durante a pandemia da Covid-19, apontou que das 11 participantes, nove não finalizaram o ensino médio (Medeiros *et al.*, 2021). A experiência internacional se apresenta semelhante, segundo estudo conduzido junto a 47 familiares de crianças com transtorno do

desenvolvimento, 68,1% tinham ensino médio completo ou mais, mesmo assim, foram considerados menos instruídos do que a população geral da localidade, onde 79,2% das pessoas com mais de 25 anos têm ensino médio completo ou mais (Roberts *et al.*, 2020).

Segundo nossos resultados, a média da pontuação do estresse percebido no grupo “*caso*” foi de 33,76 (desvio-padrão 6,07) ao passo que no grupo “*controle*” foi 27,52 (desvio-padrão 8,09), uma diferença estatisticamente significativa. Conforme investigação realizada no Irã com 250 cuidadores de crianças com algum tipo de deficiência, que utilizou o mesmo instrumento para avaliação do estresse percebido, a média foi de 27,88 (desvio-padrão 8,23), ou seja, semelhante a média obtida entre os cuidadores de crianças sem necessidades especiais de saúde do presente estudo e inferior ao estresse percebido pelos cuidadores de CRIANES (Savari; Naseri; Savari, 2023).

Ainda, o nível médio de estresse percebido identificado em um estudo realizado na Turquia entre mães de crianças com deficiências físicas e/ou mentais foi de 24,99, aproximadamente 10 pontos a menos do que o apresentado no estudo atual (Yilmaz, 2020). Todavia, investigação realizada em um ambulatório de média complexidade que desenvolve atividades de reabilitação a crianças com condições que afetam o desenvolvimento neuromotor e sensorial de um município do interior do estado de São Paulo, obteve a média de 30,56 pontos com a aplicação da escala, resultado mais próximo aos achados do presente estudo (De Lima *et al.*, 2023).

A diferença estatisticamente significativa revelada entre os grupos para a pontuação do estresse percebido pode ser explicada pela sobrecarga emocional e física associada ao cuidado de uma CRIANES. Segundo estudo recentemente publicado realizado com cuidadores de crianças com transtorno de desenvolvimento intelectual há correlação positiva entre o aumento do nível de estresse percebido e a sobrecarga (Jyoti *et al.*, 2023).

Dentre as variáveis sociodemográficas que mantiveram relação significativa com o estresse percebido, sendo controlado o efeito do grupo, destaca-se a idade do cuidador e renda. Tem-se então que, cuidadores mais jovens e com menor renda apresentaram maior pontuação de estresse percebido, independente do grupo que pertenciam. Esse achado coincide parcialmente com os resultados de uma publicação recente que analisou os fatores sociodemográficos relacionados ao estresse de mães de crianças com necessidades especiais de saúde (De Lima *et al.*, 2023) a medida que a variável idade materna também apresentou associação negativa com o estresse e permaneceu no modelo explicativo final, todavia, a renda familiar perdeu significância na análise de regressão linear múltipla e não entrou no modelo final.

A relação entre renda e estresse pode ser justificada pela maior capacidade financeira das pessoas de acessar recursos que podem ajudar a mitigar o estresse, como assistência profissional, serviços de apoio e oportunidades de lazer. Ademais, proporciona um acesso mais fácil a tecnologias e serviços terapêuticos especializados, aliviando a carga emocional e física dos cuidadores, bem como, fornecendo segurança para a família como um todo, criando um ambiente mais propício ao bem-estar e à qualidade de vida (Heller *et al.*, 2021).

Os testes estatísticos aplicados indicaram menor valor de Raiz de Cortisol e AUCG Cortisol entre os participantes do grupo “*caso*”. Níveis menores de cortisol entre cuidadores familiares de crianças com alguma condição crônica tem sido identificado nos estudos que compararam a dosagem desse biomarcador com pais de crianças sem condições crônicas de saúde (Bella; Garcia; Spadari-Bratfisch, 2011; Padden; James, 2017). Embora esses estudos corroborarem ao apresentarem uma tendência de maior nível de cortisol entre os cuidadores de crianças saudáveis, faz-se importante mencionar que os valores médios de cortisol foram relativamente diferentes entre eles. Por exemplo, a média da produção diária de cortisol na atual pesquisa foi de 98,14 entre os participantes do grupo “*caso*” e de 81,7 entre os cuidadores de crianças com paralisia cerebral que compuseram o estudo de Bella e colaboradores (2011). O cortisol salivar ao despertar dos cuidadores familiares de CRIANES obteve média de 0,33 ug/dL enquanto que entre os pais de crianças com autismo incluídos na investigação de Padden e James (2017) a média foi de 0,43ug/dL.

A hipótese dessa atividade diminuída do cortisol entre os cuidadores familiares de crianças com alguma condição crônica de saúde está alinhada a ideia de uma resposta protetora entre indivíduos que vivenciam estresse crônico, inclusive, níveis baixos de cortisol também foram relatados entre indivíduos com transtorno de estresse pós-traumático (Padden; James, 2017). Chojnowska e colaboradores (2021) descrevem que a exposição prolongada ao estresse (mental e físico) pode levar a uma diminuição da sensibilidade do eixo HPA, resultando na redução da produção de cortisol pelas glândulas supra-renais.

Ademais, de acordo com as conclusões de uma revisão sistemática que explorou os efeitos de cuidar de uma criança com doença congênita, cromossômica ou genética na regulação ou desregulação do eixo HPA, ao optar por um estudo com delineamento transversal torna-se impossível compreender como o estresse crônico do cuidado pode impactar na regulação do eixo HPA dos cuidadores durante um período prolongado, dada a medição singular. A medida que a criança cresce e se desenvolve, bem como a doença estaciona ou progride, o estresse pode flutuar ao longo do tempo e impactar o sistema fisiológico dos cuidadores de forma diferente ao longo da vida da criança (Mountcastle *et al.*, 2023).

Os achados dessa revisão também são pertinentes para explicar o resultado significativo entre idade do cuidador familiar e produção diária de cortisol. Segundo Mountcastle e colaboradores (2023), o estresse pode ser criticamente elevado imediatamente após o diagnóstico à medida que os padrões diários mudam, novas rotinas são adotadas e convivem com muitas incertezas, todavia, o estresse pode diminuir ao longo do tempo à medida que os cuidadores se adaptam à nova realidade.

O número de demandas de cuidado das CRIANES não foi capaz de explicar o comportamento do estresse percebido, nem mesmo dos níveis de cortisol e α -amilase. Porém, a literatura aponta que malformações congênitas e síndromes genéticas, situações que geralmente requerem demandas de cuidado tecnológico, exigem responsabilidades adicionais aos cuidadores, como apoiar nas atividades da vida diária e realizar tarefas médicas complexas, potencializando o estresse dos cuidadores (National Alliance for Caregiving, Aarp, 2020). Na mesma direção, estudo que comparou a qualidade do sono e o nível de cortisol salivar noturno entre pais de crianças sem necessidades especiais de saúde e pais de crianças com diferentes condições crônicas como Transtorno do Espectro Autista, paralisia cerebral, Síndrome de Down e Diabetes Mellitus Tipo 1 identificou maior concentração do cortisol noturno entre os pais de crianças com Autismo e disrupção no sono dos pais de crianças com diabetes, reforçando a hipótese de que os cuidados exigidos pela criança podem interferir no comportamento do estresse (Ljubičić; Šare; Kolčić, 2024).

Já a hospitalização da criança no último ano, apresentou efeito positivo sobre o valor da Raiz Cortisol. Segundo revisão de escopo realizada por Lee e colaboradores (2023) que investigou a experiência da figura paterna diante da hospitalização de um filho em unidade de terapia intensiva, a hospitalização pode ser considerada um fator preditivo de estresse, sendo identificado que pais de crianças hospitalizadas apresentaram níveis moderado a alto de estresse devido a hospitalização. Tal achado se alinha também com os apontamentos de Mountcastle e colaboradores (2023), os quais reforçam que o estresse pode ser um reflexo da trajetória da doença, ou seja, se houver períodos de piora do quadro clínico o estresse pode aumentar novamente.

De acordo com as análises realizadas, estima-se um aumento no nível de cortisol entre as cuidadoras que exercem atividade remunerada em comparação com aquelas que se declararam “do lar”. Em um estudo chinês que avaliou os fatores associados ao estresse parental, envolvimento parental e qualidade de vida das famílias de crianças com TEA a maioria dos pais trabalhava fora de casa. Segundo os autores, o trabalho pode ter um impacto positivo na saúde mental materna a medida que o emprego se caracteriza como uma forma de descanso para os

pais, proporcionando um local onde podem restaurar ou reabastecer as energias, atuando como um fator protetor (Wang; Hu; Han, 2020). Por outro lado, mulheres que trabalham também precisam dar conta dos afazeres domésticos e do cuidado ao filho, o que pode potencializar o estresse.

Ademais, estar desempregada também repercutiu em níveis mais elevados de cortisol. Assim, o desemprego pode ser entendido como um evento estressante. Na literatura foi identificado uma pesquisa que avaliou a percepção do estresse e do estado de saúde entre indivíduos desempregados justificando que o desemprego e os elevados níveis de estresse percebido têm sido associados em estudos transversais. Todavia, os resultados indicaram que 68% dos desempregados apresentaram níveis normais ou baixos de estresse percebido invalidando a hipótese inicial dos autores (Costa *et al.*, 2021). Na mesma direção, estudo longitudinal que analisou se o desemprego a curto e médio prazo estava associado a alterações na concentração de cortisol capilar concluiu que estar desempregado não estava associado a níveis mais elevados de cortisol capilar sendo importante considerar o contexto do desemprego, particularmente as perspectivas futuras de reemprego (Lawes *et al.*, 2022).

O presente estudo não identificou correlação significativa entre os biomarcadores e o estresse percebido. Na pesquisa realizada por Ljubičić e colaboradores (2020) o cortisol total foi associado de forma estatisticamente significativa à ansiedade e à depressão ($p = 0,004$; $p = 0,034$, respectivamente), enquanto a sua associação com o estresse geral não atingiu significância estatística ($p = 0,088$). Da mesma forma, estudo de intervenção que envolveu a inclusão de um cão de serviço na família de 98 cuidadores primários de crianças com TEA obteve uma redução significativa na percepção de estresse mas não houve alteração no nível de cortisol (Fecteau *et al.*, 2017). Por outro lado, Dykens e Lambert (2013) apontaram que mães que relatam alto estresse percebido tinham níveis reduzidos de cortisol, enquanto mães com baixo estresse percebido tinham valores mais acentuados de cortisol.

A comparação dos valores da α -amilase entre os grupos não revelou diferenças significativas, no entanto, observou-se uma tendência de significância para a α -amilase coletada às 08h onde o grupo “caso” apresentou uma média de 23,18 U/ml e o “controle” média de 15,38 U/ml ($p=0,0502$). De acordo com os padrões do fabricante, valores até 30 (U/ml) indicam que não há estresse, todavia, dentre os cuidadores do grupo “caso” esse valor chegou a 112 U/ml indicando nível de estresse alto, enquanto que no grupo “controle” o valor máximo de α -amilase às 8 horas foi de 40 U/ml, indicativo de pouco estresse. Dos sete estudos que compuseram a revisão sistemática conduzida por Okido e colaboradores (2024) apenas um incluiu a mensuração da α -amilase, ademais, os pesquisadores realizaram apenas uma medida às 12

horas. De qualquer forma, também foi observado níveis mais elevados de α -amilase entre os cuidadores de crianças com autismo em comparação com o grupo controle, todavia, sem diferença estatística. Por fim, faz-se importante mencionar que a α -amilase tem sido associada a distúrbios do sono. Segundo revisão teórica da literatura publicada em 2023, os estudos sugerem um aumento dos níveis de α -amilase resultante de estresse e/ou distúrbios do sono como fragmentação do sono, por exemplo (Thieux, 2023).

Por fim, destaca-se a validade dos achados sobretudo por encontrar respaldo na literatura. No entanto, cabe apontar como limitação o delineamento observacional do tipo caso-controle sendo imprescindível investir em futuras pesquisas de intervenção bem como, que analisem o processo de estresse ao longo do tempo de modo a conhecer o impacto longitudinal no eixo HPA dos cuidadores. Outra limitação importante se refere a diferença estatisticamente significativa no nível de cortisol salivar das 20 horas entre os participantes do grupo controle que realizaram a coleta das amostras no domicílio e àqueles que coletaram no local de trabalho, revelando um viés de aferição. Esse achado indica a relevância de se padronizar o local da coleta em estudos futuros.

7. *Conclusão*

Os resultados do presente estudo possibilitaram responder a todas as questões de pesquisa previamente elaboradas pela pesquisadora. Dentre as principais conclusões destacam-se: os níveis de α -amilase e cortisol ao longo de um dia não indicaram desregulação do ritmo circadiano; os cuidadores familiares de CRIANES apresentaram níveis mais altos de estresse percebido e menor produção de cortisol em comparação aos cuidadores familiares de crianças sem necessidades especiais de saúde, não sendo evidenciado essa diferença para α -amilase; renda familiar, ocupação, idade do cuidador e vivência de hospitalização da criança se constituíram em fatores associados ao estresse, alguns repercutindo na pontuação de estresse percebido e outros no nível de cortisol. Por fim, não foi revelado correlação significativa entre os biomarcadores e o estresse percebido.

Referências

ABRAHÃO, C. A. et al. Complementary Therapies as a Strategy to Reduce Stress and Stimulate Immunity of Women With Breast Cancer. **Journal of Evidence-Based Integrative Medicine**, v. 24, p. 2515690X1983416, 1 jan. 2019.

ARRUÉ, A. M. et al. Tradução e adaptação do Children with Special Health Care Needs Screener para português do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, n. 6, 2016.

ARRUÉ, A. M. et al. Prevalence of children with special healthcare needs: An epidemiological survey in Brazil. **Journal of Pediatric Nursing**, v. 67, p. 95–101, 1 nov. 2022.

BALISTRERI, K. S. Food insufficiency and children with special healthcare needs. **Public Health**, v. 167, p. 55–61, fev. 2019.

BAXTER, M.; RAY, D. W. Circadian rhythms in innate immunity and stress responses. **Immunology**, v. 161, n. 4, p. 261–267, 3 jan. 2020.

BELLA, G. P.; GARCIA, M. C.; SPADARI-BRATFISCH, R. C. Salivary cortisol, stress, and health in primary caregivers (mothers) of children with cerebral palsy. **Psychoneuroendocrinology**, v. 36, n. 6, p. 834–842, jul. 2011.

BRASIL, Constituição. Lei nº 8.069, de 13 de julho de 1990. Dispõe sobre o Estatuto da Criança e do Adolescente e dá outras providências. Diário Oficial da União, 1990.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Brasília, 2012. Disponível em: http://www.conselho.saude.gov.br/web_comissoes/conep/index.html.

BREHAUT, J. C. et al. Using Canadian administrative health data to measure the health of caregivers of children with and without health problems: A demonstration of feasibility. **International Journal of Population Data Science**, v. 4, n. 1, 2 abr. 2019.

CAICEDO, C. Families With Special Needs Children: family health, functioning, and care burden.. **Journal of the American Psychiatric Nurses Association**, v. 20, n. 6, p. 398–407, nov. 2014.

CARDOSO, É. L. DA S. et al. Fatores associados à qualidade de vida de cuidadores de crianças e adolescentes com condições crônicas. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, v. 42, p. e20190318, 21 maio 2021.

CASTRO, M.C. et al. Brazil's unified health system: the first 30 years and prospects for the future. **The lancet**, v. 394, n. 10195, p. 345-56. 2019.

CHANDWANI, K. D. et al. Cancer-Related Stress and Complementary and Alternative Medicine: A Review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1–15, 2012.

CHEN, X. et al. Caregivers' hair cortisol: a possible biomarker of chronic stress is associated with obesity measures among children with disabilities. **BMC Pediatrics**, v. 15, n. 1, 15 fev. 2015.

CHEN, S.H. et al. The stress of caring for children with asthma: a qualitative study of primary caregivers. **Journal of Nursing Research**, v.23, p. 298–307. 2015.

CHOJNOWSKA, S. et al. Salivary biomarkers of stress, anxiety and depression. **Journal of clinical medicine**, v. 10, n. 3, p. 517, 2021.

CHROUSOS, G. P. Stress and disorders of the stress system. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 5, n. 7, p. 374–381, 2 jun. 2009.

COHEN, S.; KARMACK, T.; MERMELSTEINM, R. A global measure of perceived stress. **Journal of Health and Social Behavior**, v. 24, n. 4, p. 385-96, 1983.

CORWIN, E. J., FERRANTI, E. P. Integration of biomarkers to advance precision nursing interventions for family research across the life span. **Nursing Outlook**, v. 64, n.4, p. 292-298, 2016.

COSTA, A. C. B. Avaliação da ansiedade aguda pré-operatória em pacientes cirúrgicos utilizando a Escala IDATE e o biomarcador A-amilase. 2017. Tese (Doutorado)- Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

COSTA, C. et al. Perceived stress in a gender perspective: a survey in a population of unemployed subjects of Southern Italy. *Frontiers in public health*, v. 9, p. 640454, 2021.

CRIELAARD, L. et al. Understanding the impact of exposure to adverse socioeconomic conditions on chronic stress from a complexity science perspective. **BMC Medicine**, v. 19, n. 1, 12 out. 2021.

CROSSWELL, AD. et al. Psychological resources and biomarkers of health in the context of chronic parenting stress. **International Journal of Behavioral Medicine**, v.29, n.2, p.175-187, 2022.

DE LIMA, B. J. et al. Estresse percebido de mães de crianças com necessidades especiais de saúde e fatores sociodemográficos relacionados. **Ciência, Cuidado e Saúde**, v. 22, 2023.

DICKERSON, S.S; KEMENY, M.E. Acute stressors and cortisol responses: a theoretical integration and synthesis of laboratory research. **Psychological bulletin**, v. 130, n.3, p. 355-91, 2004.

DYBWIK, K. et al. "Fighting the system": Families caring for ventilator-dependent children and adults with complex health care needs at home. **BMC Health Services Research**, v. 11, n. 1, p. 156, 2011.

DYKENS, E.M. et al. Reducing distress in mothers of children with autism and other disabilities: a randomized trial. **Pediatrics**, v. 134, n. 2, p. e454-63, 2014.

DYKENS, E.M.; LAMBERT, W. Trajectories of diurnal cortisol in mothers of children with autism and other developmental disabilities: Relations to health and mental health. **Journal of autism and developmental disorders**, v. 43, p. 2426-2434, 2013.

EPEL, E. S. et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n.49, p.17312-17315, 2004.

EPEL, E. S. et al. More than a feeling: A unified view of stress measurement for population science. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 49, p. 146-169, 2018.

FECTEAU, S. M. et al. Parenting stress and salivary cortisol in parents of children with autism spectrum disorder: Longitudinal variations in the context of a service dog's presence in the family. **Biological Psychology**, v. 123, p. 187-195. 2017.

FORONDA, C. L. et al. Psychological and socioeconomic burdens faced by family caregivers of children with asthma: an integrative review. **Journal of pediatric health care**, v. 34, n. 4, p. 366-376, 2020.

FRASER, L. K. et al. Health of mothers of children with a life-limiting condition: a comparative cohort study. **Archives of Disease in Childhood**, v. 106, n.10, p. 987-993, 2021.

GARCIA, A. C. M. et al. The effect of therapeutic listening on anxiety and fear among surgical patients: randomized controlled trial. **Rev Lat Am Enfermagem**, v. 26, p.e3027. 2018.

GORDIS, L. **Epidemiologia**. Thieme Revinter Publicações LTDA, 2017.

GRANGER, D. et al. Salivary alpha-amylase in biobehavioral research: recent developments and applications. **Annals of the New York Academy of sciences**, v. 1098, p. 122-144. 2007.

GUNNAR, M. R.; WHITE, B. P. Salivary cortisol measures in infant and child assessment. In: SINGER, L. T.; ZESKIND, P. S. **Biobehavioral Assessment of the Infant**, p. 167-189, 2001.

HELLER, H.L. et al. Necessidades de cuidadores de crianças com transtorno de neurodesenvolvimento: "overview". **Revista de APS**, v. 24, n. 4, 2021.

HUIJBREGTS, S.C. et al. Neurobiological and behavioral stress reactivity in children prenatally exposed to tobacco. **Psychoneuroendocrinology**, v. 36, n. 6, p. 913-8, 2011.

HULLEY, S. B.; CUMMINGS, S. R.; NEWMAN, T. B. Delineando estudos transversais e de coorte. In: HULLEY, S. B. et al. Delineando a pesquisa clínica. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, cap.7, p. 90-102, 2015.

IELAPI, N. et al. Precision medicine and precision nursing: the era of biomarkers and precision health. **International Journal of General Medicine**, p. 1705-1711, 2020.

JYOTI, A. et al. Caregiver burden among primary caregivers of children with intellectual development disorder and its association with perceived stress. **NeuroQuantology**, v. 21, n. 6, p. 96, 2023.

KEILTY, K.; NICHOLAS, D.; SELKIRK, E. Experiences with unregulated respite care among family caregivers of children dependent on respiratory technologies. **Journal of Child Health Care**, v. 22, n. 1, p. 46-56, 2018.

- KIM, Y., CHUNG, M.L.; LEE, H. Caregivers of patients with cancer: Perceived stress, quality of life and immune function. **BMJ Supportive & Palliative Care**, 2022.
- KUHLTHAU, K. A. et al. Evidence for family-centered care for children with special health care needs: a systematic review. **Academic Pediatric**, v.11, n.2, p.136-43. 2011.
- LAWES, M. et al. Unemployment and hair cortisol as a biomarker of chronic stress. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 21573, 2022.
- LEE, J.; CHOI, S. The experience of fathers whose infants were hospitalized in Neonatal Intensive Care Unit in South Korea: A scoping review. **Journal of Pediatric Nursing**, v. 72, p. 36-44, 2023.
- LIN, W.L.; WANG, H.H.; CHEN, K.M. Precision Health in Nursing Practice. **Hu Li Za Zhi**, v. 70, n. 1, p. 96-100, 2023.
- LUFT, C.D.B. et al. Versão brasileira da Escala de Estresse Percebido: Tradução e validação para idosos. **Revista de Saúde Pública**, v. 41, n. 4. p. 606-615, 2007.
- LOPES-JÚNIOR, L.C. et al. The effect of clown intervention on self-report and biomarker measures of stress and fatigue in pediatric osteosarcoma inpatients: a pilot study. **Integrative cancer therapies**, v. 17, n. 3, p. 28–940. 2018.
- LOPES JÚNIOR, L. C. The era of precision medicine and its impact on nursing: paradigm shifts?. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 74, 2021.
- LOPES-JÚNIOR, L. C. et al. Biomarkers of stress in caregivers of children with special health care needs: A protocol for systematic review. **Medicine**, v. 101, n. 44, 2022.
- LJUBIČIĆ, M. et al. Awakening cortisol indicators, advanced glycation end products, stress perception, depression and anxiety in parents of children with chronic conditions. **Psychoneuroendocrinology**, v. 117, p. 104709, 2020.
- LJUBIČIĆ, M.; ŠARE, S.; KOLČIĆ, I. Sleep Quality and Evening Salivary Cortisol Levels in Association with the Psychological Resources of Parents of Children with Developmental Disorders and Type 1 Diabetes. **Journal of Autism and Developmental Disorders**, p. 1-14, 2024.
- LYONS, E.; RAZZOLI, M.; BARTOLOMUCCI, A. O impacto do estresse da vida nas características do envelhecimento e da senescência acelerada: Conexões na doença e na saúde. **Neurociências e Revisões Biocomportamentais**, v. 105359, 2023.
- MCPHERSON, M. et al. A new definition of children with special health care needs. **American Academy Pediatrics**. v.102, n.1, p.137- 141. 1998.
- MERABET, N. et al. Como a exposição ao estresse crônico contribui para o desenvolvimento do diabetes tipo 2: uma abordagem científica complexa. **Fronteiras em Neuroendocrinologia** , v. 65, p. 100972, 2022.

MEDEIROS, J. P. B. et al. Continuidade do cuidado às crianças com necessidades especiais de saúde durante a pandemia da Covid-19. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 75, 2021.

MESMAN, G. R. et al. The impact of technology dependence on children and their families. **Journal Pediatric Health Care**. v.7, n.6, p.451. 2013.

MOUNTCASTLE, L. et al. The Impact of Caregiving for Children with Chronic Conditions on the HPA Axis: A Scoping Review. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 69, p. 101062, 2023.

NATER, U. M. et al. Human salivary alpha-amylase reactivity in a psychosocial stress paradigm. **International Journal of Psychophysiology**, v. 55, p. 333–342. 2005.

NATER, U.M. et al. Alterations in diurnal salivary cortisol rhythm in a population-based sample of cases with chronic fatigue syndrome. **Psychosomatic medicine**, v.70, n.3, p. 298–305, 2008.

NATER, U.M. et al. Determinants of the diurnal course of salivary alpha-amylase. **Psychoneuroendocrinology**, v.32, p. 392-401, 2007

NATER, U. M.; ROHLEDER, N. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: Current state of research. **Psychoneuroendocrinology**, v. 34, p. 486-496, 2009.

NATIONAL ALLIANCE FOR CAREGIVING; AARP. Caregiving in the United States 2020. AARP, Washington, DC, 2020.

NEVES, E. T.; CABRAL, I. E. A fragilidade clínica e a vulnerabilidade social das crianças com necessidades especiais de saúde. **Revista Gaúcha Enfermagem**, v. 29, n. 2, p. 182-190, 2008.

NEVES, ET, et al. Accessibility of children with special health needs to the health care network. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 72, p. 65-71, 2019.

NIEROP, A. et al. Prolonged salivary cortisol recovery in second-trimester pregnant women and attenuated salivary a-amylase responses to psychosocial stress in human pregnancy. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 91, p. 1329–1335, 2006.

NOUSHAD, S. et al. Biomarkers of chronic stress: A systematic review. **International journal of health sciences**, v. 15, n. 5, p. 46, 2021.

NWANAJI-ENWEREM, J. C. et al. Adotando uma abordagem de exposição “composta” na pesquisa de biomarcadores de envelhecimento ambiental: um apelo à ação para o avanço da igualdade na saúde racial. **Perspectivas de saúde ambiental**, v. 129, n. 4, p. 045001, 2021.

OKIDO, A. C. C.; ZAGO, M. M. F.; DE LIMA, R. A. G. O cuidado do filho dependente de tecnologia e suas relações com os sistemas de cuidados em saúde. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**. v.23, n.2, p.291-298. 2015.

OKIDO, A.C.C. et al. Evaluating stress experienced by caregivers of children with special health care needs via biomarkers: A systematic review. 2024.

PADDEN, C.; JAMES, J.E. Stress among parents of children with and without autism spectrum disorder: a comparison involving physiological indicators and parent self-reports. **Journal of developmental and Physical disabilities**, v. 29, n. 4. p.567-8, 2017.

PADDEN, C.; CONCIALDI-MCGLYNN, C.; LYDON, S. Psychophysiological measures of stress in caregivers of individuals with autism spectrum disorder: A systematic review. **Developmental neurorehabilitation**, v. 22, n.3, p.149-163, 2019.

PAPACOSTA, E.; NASSIS, G. P. Saliva as a tool for monitoring steroid, peptide and immune markers in sport and exercise science. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 14, p. 424-434, 2011.

PARKER, C.; SCOTT, S.; GEDDES, A. Snowball sampling. **SAGE research methods foundations**, 2019.

PILAPIL, M. et al. Caring for the caregiver: supporting families of youth with special health care needs. **Current problems in pediatric and adolescent health care**, v. 47, n. 8, p. 190-199, 2017.

PINQUART, M. Parenting stress in caregivers of children with chronic physical condition—A meta-analysis. **Stress and Health**, v. 34, n. 2, p. 197-207, 2018.

PRUESSNER, J.C. et al. Two formulas for computation of the area under the curve represent measures of total hormone concentration versus time dependent change. **Psychoneuroendocrinology**, v. 28, p. 916-931. 2003.

QUACH, J. et al. Trajectories and outcomes among children with special health care needs. **Pediatrics**, v.135, n.4, p.e842-e850, 2015.

RENTSCHER, K. et al. Psychosocial stressors and telomere length: a current review of the science. **Annual review of public health**, v. 41, p. 223-245, 2020.

ROBERTS, L. R. et al. Self-reported parenting stress and cortisol awakening response following mindfulness-based stress reduction intervention for parents of children with developmental delays: A pilot study. **Biological Research for Nursing**, v.22, n.2, p.217-225, 2020.

ROHLEDER, N. et al. Psychosocial stress-induced activation of salivary alpha-amylase: an indicator of sympathetic activity? **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1032, p. 258–263, 2004.

ROMLEY, J.A. et al. Family-provided health care for children with special health care needs. **Pediatrics**, v. 139, n. 1, 2017.

RUSS, K. A. et al. Cortisol as an acute stress biomarker in young hematopoietic cell transplant patients/caregivers: active music engagement protocol. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 26, n.5, p.424-434, 2020.

SANNICANDRO, T. et al. Health care changes for children with special health care needs. **Maternal and Child Health Journal**, v.21, n.3, p.524-30. 2017.

SAVARI, K; NASERI, M; SAVARI, Y. Evaluating the role of perceived stress, social support, and resilience in predicting the quality of life among the parents of disabled children. **International Journal of Disability, Development and Education**, v. 70, n. 5, p. 644-658, 2023.

SAVVIDIS, C.; KOUTSILIERIS, M. Circadian rhythm disruption in cancer biology. **Molecular medicine**, v. 18, n.9, p.1249-1260, 2012.

SENGER, B.A. et al. Stress and coping of parents caring for a child with mitochondrial disease. **Applied Nursing Research**, v.29, n.1,p. 195-201, 2016.

SLAVICH, G. M.; MENGELKOCH, V.; COLE, S. W. Genômica social humana: Conceitos, mecanismos e implicações para a saúde. **Medicina do Estilo de Vida** , v. 2, p. e75, 2023.

STEIN, R. E., JESSOP, D. J. What diagnosis does not tell: The case for a noncategorical approach to chronic illness in childhood. **Social Science & Medicine**, v. 29, n.6, p.769-778, 1989.

STOECKEL, L. E. et al. Programa de Mudança de Ciência do Comportamento do NIH: Olhando para o Futuro. **Terapia Comportamental** , 2023.

THIEUX, M. et al. Salivary α -amylase as a marker of sleep disorders: A theoretical review. **Sleep Medicine Reviews**, p. 101894, 2023.

TOLEDANO-TOLEDANO, F; DOMÍNGUEZ-GUEDEA, M. T. Psychosocial factors related with caregiver burden among families of children with chronic conditions. **BioPsychoSocial medicine**, v. 13, p. 1-9, 2019.

VASCONCELOS, A. G; DO NASCIMENTO, E. Teoria Motivacional do Coping: um modelo hierárquico e desenvolvimental. **Avaliação Psicológica: Interamerican Journal of Psychological Assessment**, v. 15, n. 2, p. 77-87, 2016.

WANG, H.; HU, X.; HAN, Z. R. Parental stress, involvement, and family quality of life in mothers and fathers of children with autism spectrum disorder in mainland China: A dyadic analysis. **Research in Developmental Disabilities**, v. 107, p. 103791, 2020.

WANG, J. et al. Salivary biomarkers of oxidative stress: a critical review. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 85, p. 95-104, 2015.

WOLF, J. M.; NICHOLLS, E.; CHEN, E. Chronic stress, salivary cortisol, and α -amylase in children with asthma and healthy children. **Biological Psychology**, v. 78, p. 20–28, 2008.

YILMAZ, G. Mothers with disabled children: needs, stress levels and family functionality in rehabilitation. **Scandinavian Journal of Caring Sciences**, v. 34, n. 2, p. 524-532, 2020.

ANEXO 1



Perceived Stress Scale (PSS)

Instrução: Para cada questão, pedimos que indique com que frequência se sentiu ou pensou de determinada maneira, **durante o último mês**. Apesar de algumas perguntas serem parecidas, existem diferenças entre elas e deve responder a cada uma como perguntas separadas. Responda de forma rápida e espontânea. Para cada questão indique, com uma cruz (X), a alternativa que melhor se ajusta à sua situação.

	Nunca	Quase nunca	Algumas vezes	Frequentemente	Muito frequente
	0	1	2	3	4
1. No último mês, com que frequência esteve preocupado(a) por causa de alguma coisa que aconteceu inesperadamente?					
2. No último mês, com que frequência se sentiu incapaz de controlar as coisas importantes da sua vida?					
3. No último mês, com que frequência se sentiu nervoso(a) e em stresse?					
4. No último mês, com que frequência sentiu confiança na sua capacidade para enfrentar os seus problemas pessoais?					
5. No último mês, com que frequência sentiu que as coisas estavam a correr à sua maneira?					
6. No último mês, com que frequência sentiu que não aguentava com as coisas todas que tinha para fazer?					
7. No último mês, com que frequência foi capaz de controlar as suas irritações?					
8. No último mês, com que frequência sentiu ter tudo sobcontrolo?					
9. No último mês, com que frequência se sentiu furioso(a) por coisas que ultrapassaram o seu controle?					
10. No último mês, com que frequência sentiu que as dificuldades se estavam a acumular tanto que não as conseguia ultrapassar?					
11. No último mês, com que frequência tem ficado irritado porque as coisas que acontecem estão fora do seu controle?					
12. No último mês, com que frequência tem se encontrado pensando sobre as coisas que deve fazer?					
13. No último mês, com que frequência tem conseguido controlar a maneira como gasta seu tempo?					
14. No último mês, com que frequência tem sentido que as dificuldades se acumulam a ponto de você acreditar que não pode superá-las					
	0	1	2	3	4

ANEXO 2

Parecer consubstanciado do CEP

	UFSCAR - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS									
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP										
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA										
Título da Pesquisa: Ritmos circadianos de alfa-amilase e cortisol salivar de cuidadores de crianças com necessidades especiais de saúde: estudo caso-controle										
Pesquisador: Jaqueline Brosso Zonta										
Área Temática:										
Versão: 2										
CAAE: 54779421.4.0000.5504										
Instituição Proponente: Programa de Pós-Graduação em Enfermagem										
Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO										
DADOS DO PARECER										
Número do Parecer: 5.261.942										
Apresentação do Projeto:										
As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram extraídas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1862575.pdf, de 11/02/2022) e/ou do Projeto Detalhado (Projeto_Revisto_11_fev_2022.pdf, de 11/02/2022): RESUMO, HIPÓTESE (se houver), METODOLOGIA, CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.										
Objetivo da Pesquisa:										
Objetivo Primário:										
Caracterizar o ritmo circadiano da -amilase e do cortisol salivar dos cuidadores de CRIANES e identificar os fatores associados.										
Objetivo Secundário:										
Caracterizar os participantes do estudo segundo dados sócio demográficos;										
Caracterizar as CRIANES de acordo com as demandas de cuidado exigidas;										
Analisar o nível de estresse psicológico a partir da Perceived Stress Scale – PSS;										
Analisar a percepção com relação ao apoio social recebido;										
Analisar a estratégia de coping religioso/espiritual;										
Mensurar os níveis de -amilase e cortisol salivar em 4 (quatro) períodos de um dia (ao despertar, 30 minutos após o despertar, ao meio dia e às 20h);										
<table border="0"> <tr> <td>Endereço: WASHINGTON LUIZ KM 235</td> <td>CEP: 13.565-905</td> </tr> <tr> <td>Bairro: JARDIM GUANABARA</td> <td></td> </tr> <tr> <td>UF: SP</td> <td>Município: SAO CARLOS</td> </tr> <tr> <td>Telefone: (16)3351-9685</td> <td>E-mail: cephumanos@ufscar.br</td> </tr> </table>			Endereço: WASHINGTON LUIZ KM 235	CEP: 13.565-905	Bairro: JARDIM GUANABARA		UF: SP	Município: SAO CARLOS	Telefone: (16)3351-9685	E-mail: cephumanos@ufscar.br
Endereço: WASHINGTON LUIZ KM 235	CEP: 13.565-905									
Bairro: JARDIM GUANABARA										
UF: SP	Município: SAO CARLOS									
Telefone: (16)3351-9685	E-mail: cephumanos@ufscar.br									
Página 01 de 04										



UFSCAR - UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SÃO CARLOS



Continuação do Parecer: 5.261.942

Determinar a produção diária total da -amilase e do cortisol salivar a partir da Área sob a Curva;
Comparar os ritmos circadianos e a produção diária da -amilase e do cortisol salivar entre cuidadores de CRIANES e cuidadores de crianças não classificadas como CRIANES.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Quanto aos riscos previstos destacam-se: limitação do pesquisador em assegurar total confidencialidade devido ao potencial risco de violação dos dados no ambiente virtual; constrangimento e desconforto ao responder as perguntas do formulário e ao coletar as amostras de saliva e, risco de contaminação pelo Coronavírus. Para evitar o contágio, a pesquisadora irá utilizar equipamentos de proteção individual (EPIs) como máscara, avental e gorro durante toda a coleta de dados e permanecerá com dispenser de álcool em gel 70% para higienização das mãos; a coleta da saliva será feita pela própria participante sob supervisão da pesquisadora e acontecerá em local amplo e ventilado garantindo distanciamento mínimo de 1,5 metro entre participante e a pesquisadora; o Tablet utilizado para aplicação dos instrumentos será higienizado com solução alcóolica antes e após o uso e, se necessário, a pesquisadora disponibilizará máscara descartável ao participante. Todavia, será reforçado no TCLE que a participação é livre e a desistência a qualquer momento é garantida. Ainda, o pesquisador se colocará à disposição para amparar e confortar o participante, caso seja necessário.

Benefícios:

Esta pesquisa não proporciona benefícios imediatos ao participante, contudo, sua participação irá possibilitar a ampliação do conhecimento a respeito do estresse entre cuidadores de crianças com necessidades especiais de saúde e, a partir destes resultados, novas estratégias de atenção ao cuidador poderão ser incorporadas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de uma pesquisa que deve seguir os preceitos éticos estabelecidos pela Resolução CNS nº 466/2012 suas complementares.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações"

Endereço: WASHINGTON LUIZ KM 235

Bairro: JARDIM GUANABARA

CEP: 13.565-905

UF: SP

Município: SAO CARLOS

Telefone: (16)3351-9685

E-mail: cephumanos@ufscar.br



UFSCAR - UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SÃO CARLOS



Continuação do Parecer: 5.261.942

Recomendações:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações"

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências e o projeto foi considerado APROVADO.

Pendências anteriores:

- 1- Atendida
- 2- Atendida
- 3- Atendida
- 4a- Atendida
- 4b- Atendida

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de ética em pesquisa - CEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e 510 de 2016, manifesta-se por considerar "Aprovado" o projeto. A responsabilidade do pesquisador é indelegável e indeclinável e compreende os aspectos éticos e legais, cabendo-lhe, após aprovação deste Comitê de Ética em Pesquisa: II - conduzir o processo de Consentimento e de Assentimento Livre e Esclarecido; III - apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento; IV - manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período mínimo de 5 (cinco) anos após o término da pesquisa; V - apresentar no relatório final que o projeto foi desenvolvido conforme delineado, justificando, quando ocorridas, a sua mudança ou interrupção. Este relatório final deverá ser protocolado via notificação na Plataforma Brasil. OBSERVAÇÃO: Nos documentos encaminhados por Notificação NÃO DEVE constar alteração no conteúdo do projeto. Caso o projeto tenha sofrido alterações, o pesquisador deverá submeter uma "EMENDA".

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1862575.pdf	11/02/2022 10:15:02		Aceito
Cronograma	cronograma_CEP_fev_2022.pdf	11/02/2022 10:14:27	Aline Cristiane Cavicchioli Okido	Aceito
Outros	carta_resposta.pdf	11/02/2022 10:12:17	Aline Cristiane Cavicchioli Okido	Aceito

Endereço: WASHINGTON LUIZ KM 235

Bairro: JARDIM GUANABARA



CEP: 13.565-905

UF: SP

Município: SAO CARLOS

Telefone: (16)3351-9685

E-mail: cephumanos@ufscar.br

		UFSCAR - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS											
Continuação do Parecer: 5.261.942													
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Revisto_11_fev_2022.pdf	11/02/2022 10:07:59	Aline Cristiane Cavicchioli Okido	Aceito									
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_VERSAO_10_FEV.pdf	11/02/2022 10:07:28	Aline Cristiane Cavicchioli Okido	Aceito									
Outros	SMEduc.pdf	14/12/2021 16:35:44	Jaqueline Brosso Zonta	Aceito									
Orçamento	orcamento_detalhado.pdf	25/11/2021 10:26:10	Aline Cristiane Cavicchioli Okido	Aceito									
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Carta_anuencia_HU.pdf	25/11/2021 09:43:08	Aline Cristiane Cavicchioli Okido	Aceito									
Outros	parecer_NEVS.pdf	24/11/2021 14:09:33	Jaqueline Brosso Zonta	Aceito									
Declaração de Instituição e Infraestrutura	SMS.pdf	24/11/2021 14:07:40	Jaqueline Brosso Zonta	Aceito									
Folha de Rosto	folhaDeRosto.pdf	24/11/2021 14:05:16	Jaqueline Brosso Zonta	Aceito									
<p>Situação do Parecer: Aprovado</p> <p>Necessita Apreciação da CONEP: Não</p> <p style="text-align: center;">SAO CARLOS, 24 de Fevereiro de 2022</p> <hr style="width: 30%; margin: auto;"/> <p style="text-align: center;">Assinado por: Adriana Sanches Garcia de Araújo (Coordenador(a))</p>													
<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>Endereço: WASHINGTON LUIZ KM 235</td> <td>CEP: 13.565-905</td> </tr> <tr> <td>Bairro: JARDIM GUANABARA</td> <td></td> </tr> <tr> <td>UF: SP</td> <td>Município: SAO CARLOS</td> </tr> <tr> <td>Telefone: (16)3351-9685</td> <td>E-mail: cephumanos@ufscar.br</td> </tr> </table>						Endereço: WASHINGTON LUIZ KM 235	CEP: 13.565-905	Bairro: JARDIM GUANABARA		UF: SP	Município: SAO CARLOS	Telefone: (16)3351-9685	E-mail: cephumanos@ufscar.br
Endereço: WASHINGTON LUIZ KM 235	CEP: 13.565-905												
Bairro: JARDIM GUANABARA													
UF: SP	Município: SAO CARLOS												
Telefone: (16)3351-9685	E-mail: cephumanos@ufscar.br												
Página 04 de 04													

ANEXO 3

Laudo do resultado de cortisol salivar emitido pelo laboratório contratado com sigilo de pesquisa

Paciente: 13852590 - P1 / PROJETO ALINE OKIDO	Plano: PROJETO - ALINE OKIDO
Pedido: 10524511	Dt.Nasc./Sexo: 28/05/1987/ FEMININO
Solicitante: SOLICITANTE NÃO INFORMADO CRM-SP-1	Cadastro: 07/03/2022
Origem: ██████████	Emissão: 22/03/2022 23:01
Clínica: PROJETO ALINE OKIDO	


Pág. 1 de 1

Coletado em (08/03/2022 08:00) Liberado em (12/03/2022 10:39)

CORTISOL SALIVAR - AMOSTRA MANHÃ Valor de referência

Resultado: 0,410 µg/dL Entre 6:00 e 10:00 horas: Inferior a 0,736 ug/dL

Método.: ELETROQUIMIOLUMINESCÊNCIA
Material: SALIVA - AMOSTRA MANHÃ

Liberado por INTEGRAÇÃO DIAGNOSTICOS DO BRASIL - DB -

Coletado em (08/03/2022 20:00) Liberado em (12/03/2022 11:30)

CORTISOL SALIVAR - AMOSTRA NOITE Valor de referência

Resultado: Inferior a 0,054 µg/dL Entre 23:30 e 00:30 horas: Inferior a 0,274 ug/dL

Método.: ELETROQUIMIOLUMINESCÊNCIA
Material: SALIVA - AMOSTRA NOITE

Liberado por INTEGRAÇÃO DIAGNOSTICOS DO BRASIL - DB -

Coletado em (08/03/2022 08:30) Liberado em (12/03/2022 11:30)

CORTISOL SALIVAR - AMOSTRA 11 HORAS Valor de referência

Resultado: 0,240 µg/dL Não há valores de referência definidos para este horário, ficando a critério médico a interpretação

Método.: ELETROQUIMIOLUMINESCÊNCIA
Material: SALIVA - AMOSTRA 11 HORAS

Liberado por INTEGRAÇÃO DIAGNOSTICOS DO BRASIL - DB -

Coletado em (08/03/2022 12:00) Liberado em (12/03/2022 11:30)

CORTISOL SALIVAR - AMOSTRA TARDE Valor de referência

Resultado: 0,150 µg/dL Entre 16:00 e 20:00 horas: Inferior a 0,252 ug/dL

Método.: ELETROQUIMIOLUMINESCÊNCIA
Material: SALIVA - AMOSTRA TARDE

Liberado por INTEGRAÇÃO DIAGNOSTICOS DO BRASIL - DB -

Apêndices

APÊNDICE A

Folder de recrutamento dos participantes “casos”



**Pesquisa UFSCar**
CUIDADORES DE CRIANÇAS

Se você mora em São Carlos e possui uma criança que necessite de cuidados especiais de saúde (ex: Diabetes, Asma, Síndrome de Down, Autismo, Paralisia Cerebral, entre outros)

Venha participar da pesquisa que irá analisar o seu nível de estresse a partir de amostras de saliva.

 **Sua participação é muito importante!**

Para maiores informações converse com a doutoranda Jaqueline Zonta pelo WhatsApp

Clique no link 

 Obrigada! 

APÊNDICE B

Folder de recrutamento dos participantes “*controles*”.




Pesquisa UFSCar
CUIDADORES DE CRIANÇAS

Se você mora em São Carlos e é Mãe ou cuidador de Criança.

Venha participar da pesquisa que irá analisar o seu nível de estresse a partir de amostras de saliva.

 **GRUPO CONTROLE** 

O grupo controle é para mães/cuidadores de crianças que **NÃO** necessitam de cuidados especiais de saúde.


 **Sua participação é muito importante!**

A participação é considerada a idade da mãe/cuidador e da criança.

 **Entre em contato para maiores informações.**

APÊNDICE C

Texto padrão enviado aos interessados na pesquisa



CONVITE

"A pesquisa é meu doutorado e é desenvolvida com mães e/ou cuidadores de crianças com até 12 anos de idade incompletos.

O objetivo é avaliar o seu nível de estresse através de coletas de saliva e o preenchimento de alguns questionários.

Para a coleta, nós agendamos um dia e vamos até você. Somos uma equipe de pesquisa, desta forma como eu também trabalho a coleta poderá ser feita por mim ou por outra integrante do grupo. Somos todos da UFSCar. A coleta de saliva é realizada em 1 único dia, porém 4x no dia. As 08h, 08:30h, 12h e 20h.

Através dela avaliamos o cortisol e a amilase que são marcadores do estresse.

Ainda no período entre 8h e 08:30h você responderá os questionários sobre: caracterização apoio social, escala de estresse e religião".

APÊNDICE D

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa: Ritmos circadianos de α -amilase e cortisol salivar de cuidadores de crianças com necessidades especiais de saúde: estudo caso-controle.

Meu nome é Jaqueline Brosso Zonta, sou enfermeira e doutoranda do Programa de Pós Graduação em Enfermagem da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar. Gostaria de convidá-lo (a) para participar de uma pesquisa cujo objetivo é caracterizar o ritmo circadiano da α -amilase e do cortisol salivar dos cuidadores de crianças com necessidades especiais de saúde e de cuidadores de crianças saudáveis. Em outras palavras, o objetivo deste estudo é avaliar o nível de estresse dos cuidadores a partir de um exame laboratorial com amostras de saliva. A minha orientadora é a professora Aline Cristiane Cavicchioli Okido.

Se concordar em participar, iremos agendar uma data para ir até a sua residência. No dia agendado, a pesquisadora chegará às 8 horas para coleta da primeira amostra de saliva e a segunda amostra será coletada 30 minutos após. Neste intervalo, você responderá um formulário com questões sobre você e sua família bem como, com questões sobre estresse, apoio social e religiosidade/espiritualidade. Às 12 horas a pesquisadora retornará para coleta da terceira amostra de saliva e às 20 horas para a coleta da quarta e última amostra. Com relação ao tempo, estima-se 45 minutos no primeiro encontro e 10 minutos nos demais.

Sua participação é voluntária, isto é, você tem a liberdade de se recusar a participar da pesquisa bem como, a qualquer momento poderá deixar de participar sem nenhuma penalização ou prejuízo. Caso desista de participar durante o preenchimento do formulário, basta fechar a página do navegador que seus dados não serão gravados. Se decidir desistir após término de toda a coleta de dados, você poderá comunicar a pesquisadora sobre sua decisão e seus dados serão removidos e as amostras de saliva serão descartadas.

Os resultados desse estudo serão apresentados em congressos e publicados em revistas científicas, no entanto, seu nome não aparecerá (anonimato/sigilo). Para assegurar o sigilo e a confidencialidade das informações será realizado *download* das respostas do formulário para um dispositivo eletrônico local (pen drive ou HD externo) que permanecerá sob responsabilidade das pesquisadoras, sendo excluído todo e qualquer registro salvo na plataforma virtual, ambiente compartilhado ou “nuvem”.

Esta pesquisa não proporciona benefícios imediatos a você e sua criança, contudo, sua participação irá possibilitar a ampliação do conhecimento a respeito do estresse entre cuidadores de crianças com necessidades especiais de saúde e, a partir destes resultados, novas estratégias de atenção ao cuidador poderão ser incorporadas. Quanto aos riscos previstos destacam-se: limitação do

pesquisador em assegurar total confidencialidade devido ao potencial risco de violação dos dados no ambiente virtual; constrangimento e desconforto ao responder as perguntas do formulário e ao coletar as amostras de saliva. Todavia, reforço que sua participação é livre e a desistência a qualquer momento é garantida. Além disso, me coloco a disposição para lhe amparar e confortar caso seja necessário.

Você não terá nenhum custo ou compensação financeira ao participar do estudo. Também não haverá remuneração financeira ou benefícios diretos pela sua participação. É garantido ao participante da pesquisa seu direito à indenização conforme as leis vigentes no país caso ocorra dano decorrente de sua participação na pesquisa, por parte do pesquisador e das instituições envolvidas nas diferentes fases da pesquisa.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da UFSCar que funciona na Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos, localizada na Rodovia Washington Luiz, Km. 235 - Caixa Postal 676 - CEP 13.565-905 - São Carlos - SP – Brasil. Fone (16) 3351-9685. Endereço eletrônico: cephumanos@ufscar.br

Você receberá uma via assinada deste termo, rubricada em todas as páginas por você e pelo pesquisador. Você poderá tirar dúvidas sobre o projeto e sobre sua participação a qualquer momento. Caso deseje entrar em contato, estarei à disposição pelo e-mail jaquelinezonta@gmail.com ou pelo telefone (16) 99203-9137.

Local e data: São Carlos, de ____ de 20__.

Jaqueline Brosso Zonta

Doutoranda do Programa de Pós Graduação em
Enfermagem- UFSCar

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Eu _____ declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação e concordo em participar do projeto de pesquisa “Ritmos circadianos de α -amilase e cortisol salivar de cuidadores de crianças com necessidades especiais de saúde: estudo caso-controle”. Estou ciente que minha identidade será mantida em sigilo e que em qualquer momento, tenho a liberdade de retirar o consentimento sem qualquer prejuízo. Recebi via assinada deste termo e tive a oportunidade de discuti-lo com a pesquisadora.

Assinatura do participante

APÊNDICE E

Recomendações de preparo e para coleta



Pesquisa UFSCar
CUIDADORES DE CRIANÇAS

COLETA CORTISOL E AMILASE SALIVAR

RECOMENDAÇÕES 1 HORA ANTES DA COLETA

- Não ingerir alimentos ou qualquer bebida (inclusive café);
- Não escovar os dentes ou usar enxaguatório bucal;
- Não fumar ou exercitar-se;

ATENÇÃO

Não consumir bebida alcoólica nas 24 horas anteriores a coleta.





Instruções de coleta

Passo 1 e 2

Abra o tubo de coleta e retire o algodão

1



2



Passo 3

Coloque o algodão na boca e mastigue cuidadosamente por cerca de 2 minutos estimulando a salivação.

3



Passo 4

Retorne o algodão molhado com a saliva para o tubo de coleta.

4



Passo 5

Pegue a fita descartável e coloque embaixo da língua por 1 minuto. Após, insira no monitor para leitura.



APÊNDICE F

Ficha para anotação dos valores da α -amilase

<u>NÍVEIS DE AMILASE</u>	
<u>Pesquisa UFSCar - Cuidadores de Crianças</u>	
<u>CÓDIGO DO PARTICIPANTE:</u>	<input type="text"/>
08:00h _____ kiU/L	08:30h _____ kiU/L
12:00h _____ kiU/L	20:00h _____ kiU/L

APÊNDICE G

Instrumento de caracterização

IDENTIFICAÇÃO GERAL

Data da coleta:
Nome da mãe:
Nome da criança:
Endereço:
Telefone:
E-mail:

INFORMAÇÕES MÃE/CRIANES

Data de nascimento mãe:	
Qual a cor da sua pele/ sua raça?	<input type="checkbox"/> branco <input type="checkbox"/> preta <input type="checkbox"/> parda <input type="checkbox"/> amarelo
Qual sua escolaridade?	<input type="checkbox"/> Fundamental incompleto <input type="checkbox"/> Fundamental completo <input type="checkbox"/> Médio incompleto <input type="checkbox"/> Médio completo <input type="checkbox"/> Superior
Qual a sua situação conjugal atual?	<input type="checkbox"/> com companheiro <input type="checkbox"/> sem companheiro
Qual a sua ocupação?	<input type="checkbox"/> Autônomo <input type="checkbox"/> Trabalhador com carteira assinada <input type="checkbox"/> Trabalhador informal <input type="checkbox"/> Do lar/aposentado <input type="checkbox"/> Desempregado
Qual sua renda familiar?	
Quantas pessoas residem na sua casa?	
Nos últimos 30 dias aconteceu algum evento estressante?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Se SIM, qual foi?	
Data de nascimento da criança:	
Sexo da criança:	<input type="checkbox"/> feminino <input type="checkbox"/> masculino
Quais demandas de cuidado a criança requer?	<input type="checkbox"/> Cuidado de desenvolvimento <input type="checkbox"/> Cuidado habitual modificado <input type="checkbox"/> Cuidado medicamentoso <input type="checkbox"/> Cuidado tecnológico <input type="checkbox"/> Cuidado misto
No último a criança precisou ser hospitalizada?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Se Sim, quantas vezes e por quais motivos?	

Fim
