



Universidade Federal de Alagoas - UFAL
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - ICBS
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - PPGCS

**FATORES BIOLÓGICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E SOCIOCULTURAIS QUE
CONTRIBUEM PARA O CUIDADO AO NEONATO EXPOSTO A DROGAS NO
PERÍODO PRÉ-NATAL: estudo de métodos mistos multifásico**

RENISE BASTOS FARIAS DIAS

Maceió

2021

RENISE BASTOS FARIAS DIAS

**FATORES BIOLÓGICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E SOCIOCULTURAIS QUE
CONTRIBUEM PARA O CUIDADO AO NEONATO EXPOSTO A DROGAS NO
PERÍODO PRÉ-NATAL: estudo de métodos mistos multifásico**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde. Área de concentração: Epidemiologia e Etiopatogenia das Doenças Humanas.

Orientadora: **Prof.^a Dr.^a Elaine Virgínia Martins de Souza Figueiredo**
Universidade Federal de Alagoas
Campus Arapiraca

Maceió

2021

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

D541f Dias, Renise Bastos Farias.

Fatores biológicos, epidemiológicos e socioculturais que contribuem para o cuidado ao neonato exposto a drogas no período pré-natal : estudo de métodos mistos multifásico / Renise Bastos Farias Dias. – 2021.

197 f. : il., graf., tabs. color.

Orientadora: Elaine Virgínia Martins de Souza Figueiredo.

Tese (doutorado em ciências da saúde) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Maceió, 2021.

Bibliografia: f. 145-172.

Apêndices: f. 173-184.

Anexos: f. 185-197.

1. Efeitos tardios da exposição pré-natal. 2. Perfil de saúde. 3. Atenção à saúde. 4. Comportamento do lactente. 5. Polimorfismo genético. I. Título.

CDU: 613.952

Folha de Aprovação

AUTORA: Renise Bastos Farias Dias

FATORES BIOLÓGICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E SOCIOCULTURAIS QUE CONTRIBUEM PARA O CUIDADO AO NEONATO EXPOSTO A DROGAS NO PERÍODO PRÉ-NATAL: estudo de métodos mistos multifásico

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 16 de novembro de 2021.

Documento assinado digitalmente
gov.br Elaine Virgínia Martins de Souza Figueiredo
Data: 25/11/2021 15:50:52-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof.^a Dr.^a Elaine Virgínia Martins de Souza Figueiredo (orientadora)
Universidade Federal de Alagoas

Banca Examinadora: Titulares:

Documento assinado digitalmente
gov.br Carlos Dornels Freire de Souza
Data: 02/12/2021 13:50:11-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof.^a Dr. Carlos Dornels Freire de Souza
Universidade Federal de Alagoas

Documento assinado digitalmente
gov.br ANA CAROLINA SANTANA VIEIRA
Data: 02/12/2021 15:22:16-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof.^a Dr.^a Ana Carolina Santana Vieira
Universidade Federal de Alagoas

Documento assinado digitalmente
gov.br AMUZZA AYLLA PEREIRA DOS SANTOS
Data: 26/11/2021 11:37:20-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof.^a Dr.^a Amuzza Aylla Pereira dos Santos
Universidade Federal de Alagoas

Documento assinado digitalmente
Elisiane Lorenzini
Data: 02/12/2021 11:29:26-0300
CPF: 899.508.100-78
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof.^a Dr.^a Elisiane Lorenzini
Universidade Federal de Santa Catarina

Suplentes:

Prof.^a Dr.^a Cláudia Silveira Viera
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof.^a Dr.^a Ana Caroline Melo dos Santos
Universidade Regional da Bahia

Dedico esta tese:

A Deus, Amor Maior, que me permitiu chegar até aqui.

À minha família a quem tanto amo, dedico e divido cada conquista.

Aos meus queridos alunos e a todos os profissionais de saúde que buscam inspiração para o cuidado qualificado.

AGRADECIMENTOS

Cheguei ao final do meu doutorado com o coração profundamente agradecido e realizado. Foi uma trajetória feliz e de muitos aprendizados. Sinto-me uma pessoa agraciada por ter percorrido esta caminhada junto a pessoas queridas que foram como alicerces para esta conquista.

Algumas permaneceram comigo desde o início, outras chegaram de repente e me deram ricas contribuições quando eu mais precisava. A todos aqueles que colaboraram de alguma maneira para a realização deste estudo, gostaria de dizer: muito obrigada!

Gratidão sempre a Deus, minha fonte de toda inspiração e à Maria Santíssima, Mãe de Jesus, a quem recorro, respiro e busco forças para enfrentar os desafios diários que preciso vencer como mulher, mãe, profissional e eterna estudante.

Aos meus queridos e amados pais, Gilson e Rose. Painho, obrigada pela presença constante, por toda dedicação e cuidado para comigo. Mainha, obrigada por me inspirar através da sua alegria pela vida e do seu gosto pelos estudos. A senhora me ensina que todos os dias é preciso sorrir, ter fé e, em oração e com Deus no coração, enfrentar as batalhas do dia a dia.

Obrigada ao meu amado esposo, Maurício Júnior, por ser meu parceiro, companheiro de vida, minha alegria e meu equilíbrio do cotidiano. Seu apoio é sustento e seu amor é aconchego da minha alma. Eu te amo!

Meus filhos, Giovanna, Gabriell e Glennda, razão dos meus dias, a minha paz inquieta. Sou grata a vocês pela compreensão e motivação durante todos os dias da minha vida. Que meu prazer em estudar seja inspiração para vocês. Amo-os infinitamente! Deus os abençoe, meus amores!

Gratidão aos meus irmãos, Rodrigo e Ricardo, aos meus cunhados, meu sobrinho, afilhados, ao meu sogro, minha sogra, aos meus compadres... Família! O amor de vocês é alimento e luz para minha caminhada.

Obrigada amigos e colegas! A vocês que estiveram comigo e me ajudaram de forma especial para o meu aprendizado durante o doutorado, Elaine, Larissa, Nirliane, Rita, Marcela Nicácio, Sandra, Rosa Patrícia, Rafaela, Andreivna, Aline, Sabrina e todos os que, direta ou indiretamente, generosamente contribuíram e contribuem para o meu amadurecimento.

Toda gratidão aos meus alunos e ex-alunos do projeto de extensão (2018-2019) e dos projetos de iniciação científica (2020-2022) vinculados à minha pesquisa. Bárbara Fernanda, Heloísa, Thaynara, Hidyana, Viviane, Layanne, Kleviton, Bárbara Leão, Amandas, Beatriz, Erika, Glicya, Ivens, Anderson, Laila, Lilia, Rayssa, Nádia, Dhayanne, Letícia, Natanael e todos os demais que estiveram comigo neste desafio do aprendizado, levarei vocês sempre em meu coração.

Às minhas orientandas de trabalho de conclusão de curso de graduação, a quem confiei dividir os resultados da minha pesquisa de doutorado para somarmos experiências e multiplicarmos aprendizados. Bárbara Fernanda, Thaynara, Aylla, Alice, Francine, Layanne e Viviane, obrigada pelos novos frutos gerados e por me ensinarem que juntas podemos ser mais fortes!

A todos os professores do Curso de Enfermagem da Universidade Federal de Alagoas, *Campus* Arapiraca, por serem parceiros, apoiadores, amigos. Ao colegiado do curso pela aprovação do meu afastamento. Em especial, Josineide, César, Betânia, Rita, Larissa e Nirliane, meus companheiros de disciplinas e eixos de ensino. Formamos uma família e nela compartilhamos lutas e conquistas! Obrigada por tudo!

À Universidade Federal de Alagoas, Reitoria, Direção, servidores e funcionários terceirizados. Obrigada por abrir caminhos! Agradeço, sobretudo, por possibilitar o meu afastamento das atividades de ensino com direito a professor substituto, para que eu pudesse me dedicar inteiramente ao doutorado.

Gratidão aos professores substitutos Andrey e Luana, por todo empenho, dedicação e profissionalismo, pelas ricas contribuições ao Curso e por terem suprido lacunas durante meu afastamento.

Obrigada à Secretaria Municipal de Saúde de Arapiraca, ao Hospital Regional e à Casa de Saúde Nossa Senhora de Fátima, por terem confiado em minha pesquisa e terem aberto as portas das Maternidades e dos serviços de saúde.

Aos profissionais de saúde, por compartilhamos aprendizados, em especial, Dr.^a Mônica, Dr. Cleildo, Psic. Emylia, Enf.^a Niara e Enf.^a Lanna, e todos os demais que estiveram comigo, que me acompanharam no árduo caminho da pesquisa e que abriram os caminhos para a translação do conhecimento.

Às puérperas, neonatos e suas famílias pela confiança na seriedade deste estudo, por terem nos permitido conhecer suas histórias, suas condições de saúde e terem proporcionado aprendizados, a mim e toda a minha equipe de trabalho. Gratidão sempre!

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, à coordenação e aos professores pelos ensinamentos. Ao técnico Jhonatan. Aos colegas de curso, em especial aos meus companheiros de viagem e de aventuras para chegarmos as aulas e voltarmos para casa, Edilson, Abel, Ana Caroline, Bárbara Rayssa, Luana e Maria. Essas lembranças têm gosto de saudades e amizade.

Obrigada a todos os que fazem ou fizeram parte do Laboratório de Biologia Molecular e Expressão Gênica, entre estes Ithallo, Elaine, Aline, Edilson, Ana Caroline e Abel. Em especial à Karol Fireman, pela amizade e apoio ao desenvolvimento da minha pesquisa básica. E à Bárbara Rayssa, excelente profissional e a melhor tutora e companheira de bancada que eu poderia ter. Com vocês aprendi além das minhas expectativas.

Aos professores que compuseram minhas bancas de qualificação e de defesa, serei eternamente grata pela generosidade das contribuições para o enriquecimento do meu trabalho e pela oportunidade de aprender com os senhores, Cláudia Viera, Elisiane Lorenzini, Carlos Dornels, Ana Vieira, Amuzza Santos e Ana Melo, muito obrigada!

Por fim, meus agradecimentos especiais, à minha orientadora, a quem tenho o prazer e o privilégio de compartilhar também de sua amizade. Querida Elaine, como orientanda quero te agradecer por sua seriedade, serenidade e sua capacidade de conduzir as orientações, motivando-me a seguir sempre em frente. Como amiga e colega de trabalho, quero tê-la sempre comigo para continuarmos enfrentando os desafios da pesquisa, da extensão, do ensino e da busca de novas conquistas.

A todos, muito obrigada por tudo!

“Deus sempre abençoa o esforço da busca!”

(“Duas Asas: A fé e a Razão”, de Celina Borges)

RESUMO

DIAS, Renise Bastos Farias. **Fatores biológicos, epidemiológicos e socioculturais que contribuem o cuidado ao neonato exposto a drogas no período pré-natal: estudo de métodos mistos multifásico.** 197 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2021.

O uso de drogas na gravidez pode gerar consequências à mãe, ao feto ou ao neonato. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo geral analisar a integração do conhecimento sobre os aspectos epidemiológicos e socioculturais ao conhecimento sobre os subsistemas biológico e comportamental de neonatos expostos a drogas no período pré-natal para o cuidado neonatal mediato. Trata-se de um estudo multifásico de métodos mistos por triangulação concomitante, ocorrendo em nível interativo, com igual ênfase, além de ter sido realizado estudos prioritários quantitativos seguidos de estudos suplementares qualitativos. O desenvolvimento deste estudo ocorreu em cinco fases que seguiram critérios metodológicos específicos, desenvolvidas entre fevereiro/2019 e julho/2021, em duas maternidades do agreste alagoano, cujos participantes foram 105 díades (mãe usuária de drogas no período pré-natal e neonato). Na primeira fase conduziu-se um estudo qualitativo de natureza exploratória, descritivo, com perspectiva etnográfica realista sobre o cuidado prestado à díade (mãe e neonato). Na segunda fase desenvolveu-se um estudo etnoepidemiológico, transversal, descritivo, de abordagem quanti e qualitativa. Na terceira fase, um estudo observacional, de prevalência, de abordagem quantitativa. A compreensão dos dados das fases 1 e 2 foi apoiada pela Teoria de Leininger e da fase 3 pela Teoria de Jhonson. Na quarta fase conduziu-se um estudo do tipo caso controle, de associação genética por polimorfismos. A quinta fase resultou da mistura dos elementos quantitativos e qualitativos obtidos nas fases anteriores. A partir do estudo da fase 1 foi possível elucidar os pontos-chaves para os estudos subsequentes: a identificação e interpretação do contexto materno e dos sinais neonatais para contribuir para o cuidado mediato ao neonato exposto a drogas no período pré-natal. Os estudos subsequentes proporcionaram conhecer as características da população, sobretudo, a partir da observação dos indicadores de saúde. Entre os principais resultados obtidos, a combinação dos sinais: choro estridente excessivo, espasmos mioclônicos e sucção excessiva, foi considerada um

marcador clínico neonatal importante da exposição pré-natal a drogas. A partir dos resultados da fase quatro foi possível concluir que os SNP -819C/T (IL-10) e -308G/A (TNFA) não apresentaram relação com a susceptibilidade e proteção para disfunções neurocomportamentais em neonatos expostos a drogas no período pré-natal. Assim como três diferentes respostas neurocomportamentais não foram associadas aos alelos do SNP -819C/T (IL-10). Esses resultados puderam indicar caminhos para novos estudos confirmarem ou refutarem a hipótese de que a exposição ao tabaco no pré-natal tem maior razão de chances para desenvolver alterações neurocomportamentais em neonatos. Na fase 5, a integração do conhecimento sociocultural, epidemiológico e do sistema comportamental, permitiu elucidar os elementos que apóiam o cuidado mediato ao neonato exposto a drogas no período pré-natal, além de construir proposições resolutivas integradas que convergiram como contribuição para a qualificação do cuidado. Por fim, três metainferências foram apresentadas. Os resultados trazidos neste estudo incentivam novas reflexões, novos estudos para diagnósticos mais efetivos e a qualificação de melhores práticas do processo de cuidar ao neonato exposto a drogas no período pré-natal, considerando o contexto clínico e sociocultural.

Palavras-chaves: Efeitos tardios da exposição pré-natal. Perfil Epidemiológico. Assistência à Saúde Culturalmente Competente. Comportamento do lactente. Polimorfismo Genético.

ABSTRACT

DIAS, Renise Bastos Farias. **Biological, epidemiological and sociocultural factors that contribute to the care of newborns exposed to drugs in the prenatal period: a multiphase mixed methods study.** 197 f. Thesis (Doctorate in Health Sciences) – Postgraduate Program in Health Sciences, Institute of Biological and Health Sciences, Federal University of Alagoas, Maceió, 2021.

The use of drugs during pregnancy can have consequences for the mother, fetus or newborn. In this context, the present study aimed to analyze the integration knowledge about epidemiological and sociocultural aspects with knowledge about the biological and behavioral subsystems of newborns exposed to drugs in the prenatal period for mediated neonatal care. This is a multiphase study of a concurrent triangulation mixed methods approach. The mixing occurs at an interactive level, with equal emphasis, in addition, also was conducted priority quantitative studies followed by supplementary qualitative studies. The development of this study occurring in five phases that followed specific methodological criteria, developed between February/2019 and July/2021, in two maternity hospitals in Alagoas, whose participants were 105 dyads (mothers who were drug users in the prenatal period and newborns). In the first phase, a qualitative, exploratory, descriptive study was conducted, with a realistic ethnographic perspective on the care provided to the dyad (mother and newborn). In the second phase, an ethnoepidemiological, cross-sectional, descriptive study with a quantitative e qualitative approach was developed. In the third phase, an observational study, prevalence, with a quantitative-qualitative approach. The understanding of data from phases 1 and 2 was supported by Leininger's Theory and phase 3 by Jhonson's Theory. In the fourth phase, a case-control study of genetic association by polymorphisms was conducted. The fifth phase resulted from the mixed of quantitative and qualitative elements obtained in the previous phases. The phase 1 study made it possible to elucidate the key points for subsequent studies: the identification and interpretation of the maternal context and neonatal signs to guide the mediate care of newborns exposed to drugs in the prenatal period. Subsequent studies provided knowledge of the characteristics of the population, above all, based on the observation of health indicators. Among the main results obtained, the combination of signs: excessive strident crying, myoclonic spasms and excessive

sucking was considered an important neonatal clinical marker of prenatal drug exposure. From the results of phase four, it was possible to conclude that the SNP -819C/T (IL-10) and -308G/A (TNFA) were not related to the susceptibility and protection for neurobehavioral dysfunctions in neonates exposed to drugs in the pre- natal. In addition that three different neurobehavioral responses are not associated with -819C/T (IL-10) SNP alleles. These results could indicate paths for further studies to confirm or refute the hypothesis that prenatal exposure to tobacco has a higher odds ratio for developing neurobehavioral alterations in neonates. In phase 5, the integration of sociocultural, epidemiological and behavioral system knowledge allowed for the elucidation of the elements that contribute to the care of newborns exposed to drugs in the prenatal period, in addition to building integrated resolution propositions that converged as a contribution to the qualification of care. Finally, three meta-inferences were presented. The results brought in this study encourage new reflections, new studies for more effective diagnoses and the qualification of best practices in the process of caring for newborns exposed to drugs in the prenatal period, considering the clinical context and sociocultural.

Keywords: Prenatal exposure delayed effects. Health Profile. Culturally Competent Care. Infant behavior. Polymorphism, Genetic.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Itens de avaliação neurocomportamental pelo Método de Dubowitz.....	38
Figura 2- Modelo Sol Nascente da Teoria de Leininger, descrevendo as dimensões da Diversidade e Universalidade do Cuidado Cultural.....	47
Figura 3- Ilustração do modelo do Sistema Comportamental de Dorothy Johnson.....	50
Figura 4- Fluxograma do processo de seleção dos estudos primários adaptado do Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analyses (PRISMA).....	51
Figura 5- Diagrama do desenho do presente estudo de métodos mistos multifásico.....	60
Figura 6- Regiões de saúde de Alagoas.....	63
Figura 7- Ilustração das etapas do processo de KDD.....	71
Figura 8- Tela de mineração de dados do WEKA adotando-se o algoritmo <i>SimpleKMeans</i> para a técnica de agrupamento (<i>Cluster</i>).....	72
Figura 9 - Agrupamento de dados gerado pela ferramenta WEKA dos antecedentes pessoais e familiares de puérperas consumidoras de drogas no período gestacional...	95
Figura 10 - Agrupamento de dados gerado pela ferramenta WEKA sobre o consumo de drogas no período gestacional e desfechos materno-neonatais	97
Figura 11 - Agrupamento de dados clínicos gerado pela ferramenta WEKA de neonatos expostos a drogas no período pré-natal.	109
Figura 12- Agrupamento de dados gerado pela ferramenta WEKA das frequências genotípicas encontradas em neonatos por tipo de droga o qual foram expostos no período pré-natal	123
Figura 13- Agrupamento de dados gerado pela ferramenta WEKA das frequências genotípicas encontradas em grupos estudo e controle de neonatos expostos a drogas no pré-natal.....	124

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Escala de Finnegan adaptada.	37
Quadro 2- Matrizes biológicas maternas e neonatais associadas às drogas e aos métodos de detecção utilizados.....	40
Quadro 3- Quadro-síntese dos estudos publicados entre 2011 e 2021 que apresentaram elementos socioculturais como contribuição para o cuidado mediato ao neonato exposto a drogas no período pré-natal. Arapiraca, 2021.....	52
Quadro 4- Resultados da avaliação <i>post hoc</i> dos dados do estudo, obtidos a partir do software G*Power.	77
Quadro 5 - Principais elementos a serem considerados em neonatos expostos a drogas no período pré-natal organizados por sistema biológico e subsistemas comportamentais, de acordo com o Modelo do Sistema Comportamental de Dorothy Jhonson. Arapiraca, 2021.....	117
Quadro 6- Exibição conjunta dos principais resultados das dimensões socioculturais e dos dados epidemiológicos maternos e neonatais para compreensão do sistema comportamental do neonato exposto a drogas no período pré-natal. Arapiraca, 2021.....	125
Quadro 7- Integração das proposições resolutivas às implicações identificadas no estudo multifásico que convergiram como contribuição para a qualificação do cuidado mediato, em maternidade, ao neonato exposto a drogas no período pré-natal.....	129

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos genes TNFA e IL-10 selecionados para o estudo.....	79
Tabela 2 - Perfil sociodemográfico de mulheres consumidoras de drogas no período gestacional, entrevistadas durante internação em maternidades do agreste alagoano (n=105). Arapiraca, 2021.	90
Tabela 3 - Características do pré-natal, parto e puerpério de mulheres consumidoras de drogas no período gestacional, entrevistadas durante internação em maternidades do agreste alagoano (n=105). Arapiraca, 2021.	91
Tabela 4 - Características de consumo de drogas no período gestacional, entre mulheres entrevistadas durante internação em maternidades do agreste alagoano (n=105). Arapiraca, 2021.	93
Tabela 5 - Antecedentes pessoais e familiares de mulheres consumidoras de drogas no período gestacional, entrevistadas durante internação em maternidades do agreste alagoano (n=105). Arapiraca, 2021.....	94
Tabela 6 - Características neonatais de exposição a drogas no período pré-natal (n=105). Arapiraca, 2021.	103
Tabela 7 - Características ao nascimento de recém-nascidos expostos a drogas no período pré-natal (n=105). Arapiraca, 2021.	104
Tabela 8 - Respostas clínicas e registros de tratamento de neonatos expostos à droga no período pré-natal, por idade no momento da avaliação. Arapiraca, 2021.....	105
Tabela 9 - Média das pontuações obtidas a partir dos itens de avaliação neurocomportamental, pelo Método de Dubowitz, em neonatos expostos a drogas no período pré-natal (n=105). Arapiraca, 2021.....	106
Tabela 10 - Sinais de abstinência observados em neonatos expostos a drogas no período pré-natal (n=105), a partir da avaliação pelo Índice de Finnegan, comparando os que apresentaram alterações neurocomportamentais (grupo alterado) aos que apresentaram respostas neurocomportamentais adequadas (grupo adequado). Arapiraca, 2021.....	108
Tabela 11 - Associação entre o padrão de exposição à droga no período pré-natal e o número de neonatos que manifestaram alterações neurocomportamentais (grupo estudo) ou que apresentaram respostas neurocomportamentais satisfatórias (grupo controle) (n=105). Arapiraca, 2021.....	118

Tabela 12 - Quantidade de neonatos expostos a drogas no período pré-natal que apresentaram alterações em itens de avaliação neurocomportamental pelo Método de Dubowitz (n=105). Arapiraca, 2021.	119
Tabela 13 - Distribuição genotípica e alélica dos SNP -819C/T (<i>IL-10</i>) e -308G/A (<i>TNFA</i>) em neonatos expostos a drogas no período pré-natal, divididos em grupos estudo e controle. Arapiraca, 2021.	121
Tabela 14 - Associação alélica e dos modelos gênicos dos SNP -819C/T (<i>IL-10</i>) e -308 G/A (<i>TNFA</i>) à susceptibilidade ou proteção para disfunções neurocomportamentais em neonatos expostos a drogas no período pré-natal. Arapiraca, 2021	122
Tabela 15 - Associação alélica do SNP -819C/T (<i>IL-10</i>) de neonatos expostos a drogas no período pré-natal com itens alterados na avaliação neurocomportamental. Arapiraca, 2021.....	122

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAPS	Centro de Atenção Psicossocial
cm	Centímetro
COREQ	Critérios consolidados para relatos de pesquisa qualitativa
COVID-19	Corona vírus disease
DNA	Ácido desoxirribonucléico
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
G	Gramma
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
<i>IFN</i>	Interferon
<i>IL</i>	Interleucina
KDD	Descoberta de conhecimento em bancos de dados
LaBMEG	Laboratório de Biologia Molecular e Expressão Gênica
LSD	Dietilamida do ácido lisérgico
mA	Milésimo de ampére
MCV	Volume médio de eritrócitos corpusculares
MG	Miligrama
ml	Mililitro
mM	Milímetro
MMAT	Ferramenta de avaliação de métodos mistos
MSC	Modelo do Sistema Comportamental
N	Frequência absoluta
NaCl	Cloreto de sódio
nM	Nanômetro
OR	Razão de probabilidade
PB	Par de bases
ProCCAExt	Programa Círculos Comunitários de Atividades Extensionistas
PROEX	Pró-Reitoria de Extensão
qPCR	Reação em cadeia de polimerase em tempo real
<i>p-valor</i>	Valor de <i>p</i>
QUAL	Qualitativo
QUAN	Quantitativo
RN	Recém-nascido
RPM	Rotação por minuto
SAF	Síndrome alcoólica fetal
SAN	Síndrome de abstinência neonatal
SDS	Solução de dodecilsulfato de sódio
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Polimorfismo de nucleotídeo simples
SUS	Sistema Único de Saúde

TALE	Termo de assentimento livre e esclarecido
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TDUCC	Teoria da Diversidade e Universalidade do Cuidado Cultural
TE	Tampão constituído da mistura Tris-HCl e EDTA
TES	Tampão constituído da mistura de Tris-HCl, EDTA e SDS
<i>TNF</i>	Fator de necrose tumoral
<i>TNFA</i>	Fator de necrose tumoral alfa
Tris-HCl	Hidroximetilaminometano- ácido clorídrico
UFAL	Universidade Federal de Alagoas
UTIN	Unidade de terapia intensiva neonatal
V	Volt
WEKA	Ambiente Waikato para análise de conhecimento
χ^2	Teste quiquadrado
%	Frequência relativa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
2 OBJETIVOS	27
2.1 Objetivo geral.....	27
2.2 Objetivos específicos	27
3 REFERENCIAL TEÓRICO	28
3.1 Aspectos conceituais, epidemiológicos e socioculturais do abuso de drogas na saúde sexual e reprodutiva da mulher	28
3.2 O abuso de drogas pela gestante e os reflexos na saúde neonatal	31
3.3 Marcadores clínicos e biológicos de avaliação do neonato exposto a drogas no período pré-natal.....	34
3.3.1 Avaliação do neonato exposto a drogas no período pré-natal: parâmetros clínicos	35
3.3.1.1 <i>Avaliação da Síndrome de Abstinência Neonatal por meio da Escala de Finnegan.....</i>	36
3.3.1.2 <i>Avaliação neurocomportamental do neonato exposto a drogas no período pré-natal por meio do Método de Dubowitz.....</i>	38
3.3.2 Avaliação do neonato exposto a drogas no período pré-natal: parâmetros biológicos	39
3.3.3 Possibilidades de tratamento para neonatos expostos a drogas no período pré- natal com sinais de abstinência e alterações neurocomportamentais.....	42
3.4 O papel das moléculas citocinas (<i>IL-10, TNFA</i>) para a compreensão das respostas clínicas e neurocomportamentais em neonatos expostos a drogas	44
3.5 Teoria da Diversidade e Universalidade do Cuidado Cultural de Madeleine Leininger.....	46
3.6 Modelo do Sistema Comportamental de Dorothy E. Johnson.....	48
3.7 As evidências disponíveis que contribuem para compreensão sobre o cuidado clínico mediato e culturalmente congruente ao neonato exposto a drogas no período pré-natal.....	51
3.8 Hipóteses e Pressupostos	57
4 MATERIAIS E MÉTODOS	59
4.1 Delineamento do estudo.....	59

4.2 Campos de estudo	62
4.3 Participantes.....	63
4.4 Detalhamento metodológico de cada fase do estudo.....	65
4.4.1 Fase 1: Estudo qualitativo	65
4.4.1.1 <i>Coleta de dados</i>	67
4.4.1.2 <i>Análise de dados</i>	68
4.4.2 Fase 2: Estudo quanti e qualitativo	68
4.4.2.1 <i>Coleta de dados</i>	70
4.4.2.2 <i>Análise de dados</i>	72
4.4.3 Fase 3: Estudo quati e qualitativo	72
4.4.3.1 <i>Coleta de dados</i>	74
4.4.3.2 <i>Análise de dados</i>	74
4.4.4 Fase 4: Estudo quantitativo	75
4.4.4.1 <i>Coleta de dados</i>	77
4.4.4.2 <i>Análise de dados</i>	79
4.5 Aspectos éticos do estudo multifásico.....	80
5 RESULTADOS	81
5.1 Resultados do estudo qualitativo da Fase 1	81
5.1.1 O início da trajetória.....	81
5.1.2 Padrões observados das dimensões socioculturais das pacientes: as potencialidades e limitações para o cuidado neonatal.....	82
5.1.3 Nós críticos para o cuidado transcultural: contribuindo com o cuidado mediato ao neonato exposto a drogas no período pré-natal	84
5.2 Resultados do estudo quanti e qualitativo da Fase 2	89
5.2.1 Dados quantitativos	89
5.2.2 Dados qualitativos	99
5.3 Resultados do estudo quanti e qualitativo da Fase 3	103
5.3.1 Dados quantitativos	103
5.3.2 Dados qualitativos	112
5.4 Resultados do estudo quantitativo da Fase 4.....	117
5.4.1 Dados da avaliação neurocomportamental dos neonatos.....	118
5.4.2 Frequência genotípica, alélica e associação com polimorfismos.....	120
5.5 Integração dos resultados das fases 1 a 4.....	125

6 DISCUSSÃO	133
7 CONCLUSÃO.....	142
REFERÊNCIAS	145
APÊNDICES	173
Apêndice 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (acima de 18 anos)...	173
Apêndice 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (menores de 18 anos)	175
Apêndice 3 – Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (para menores de 18 anos)	177
Apêndice 4- Formulário de Coleta de Dados.....	179
ANEXOS	185
Anexo 1- Protocolo de coleta e extração de DNA do Laboratório de Biologia Molecular e Expressão Gênica da Universidade Federal de Alagoas	185
Anexo 2- Comprovante de aprovação de Projeto de extensão.....	186
Anexo- 3- Parecer consubstanciado do CEP	187

1 INTRODUÇÃO

Em 2020 cerca de 275 milhões de pessoas usaram drogas no mundo, o que ocasionou a morte de quase meio milhão de pessoas. Além disso, considera-se que 18 milhões de anos de vida foram perdidos, em virtude dos transtornos ocasionados pelo seu consumo, uma vez que a droga é uma substância capaz de modificar a função de organismos vivos e provocar mudanças fisiológicas ou de comportamento. A projeção para 2030 é que o consumo de drogas cresça mundialmente 11%, o que justifica a concentração de esforços para se buscar mudanças nessa realidade (UNODC, 2021; DONNINI; CORDEIRO; LIMA, 2017).

Em virtude dessa dimensão de riscos à saúde e à vida da população mundial, o uso descontrolado de drogas tornou-se um problema de saúde pública, podendo levar ao usuário consequências como aumento da ocorrência de acidentes, violências, transtornos de humor, doenças mentais, depressão do sistema imunológico, doenças infecciosas, exposição a doenças sexualmente transmissíveis, comprometimento do desenvolvimento psicossocial, mortalidade e gravidez na adolescência (BEZERRA; ARAÚJO; DIAS, 2019; MOURA; MONTEIRO; FREITAS, 2016).

Além disso, estudos revelam que entre 5 e 30% de usuárias mulheres consomem algum tipo de droga no período gestacional (ROCHA *et al.*, 2016; MAIA; PEREIRA; MENEZES, 2015; FREIRE; PADILHA; SAUNDERS, 2009), o que pode influenciar direta ou indiretamente no crescimento de seus filhos, provocar surgimento de problemas de saúde mental e comportamental, alterações no desenvolvimento da primeira infância, até mesmo malformações congênitas e drogadição no neonato (CAMPELO *et al.*, 2018; BARBOSA *et al.*, 2018; TAMEZ, 2017).

A exposição *in útero* aos opiáceos, benzodiazepinas, barbitúricos, álcool, tabaco e até mesmo cafeína pode suprimir o sistema imunológico do neonato, provocando alterações neurocomportamentais e outras consequências clínicas neonatais (DUARTE; FORMIGONI, 2017; BENTURA *et al.*, 2009). Sabe-se que o sistema imunológico do neonato está em constante desenvolvimento, enfrentando um conjunto complexo de demandas imunológicas, cuja alteração neste processo, pode causar prejuízos no seu desenvolvimento (MORAES-PINTO; SUANO-SOUZA; ARANDA, 2021).

Desta forma, a exposição fetal à droga pode ocasionar, ainda, baixo peso ao nascimento, restrição do crescimento intrauterino, nascimento pré-termo, sepse,

abortamento, diminuição do perímetro cefálico, diversas lesões orgânicas e alterações neurológicas, além de alterações respiratórias, síndrome de abstinência neonatal (SAN) e síndrome alcoólica fetal (SAF) (BARBOSA *et al.*, 2018; BRASIL, 2016a; FORRAY, 2016).

A identificação precoce dos sinais clínicos e neurocomportamentais alterados provocados pela exposição à droga no período pré-natal, pode contribuir para intervenções de saúde a fim de minimizar os fatores de risco para o desenvolvimento infantil em longo prazo, como distúrbios comportamentais e cognitivos (DIAS; CORREIA; ARAUJO, 2019). Estas associações podem, inclusive, ser confundidas por fatores **biológicos** (genéticos) e **ambientais** (RUISCH *et al.*, 2018).

Em se tratando dos fatores biológicos, vários sistemas são afetados em indivíduos com transtornos mentais e comportamentais, entre estes, o sistema inflamatório. Assim, a exposição às drogas pode influenciar a concentração de marcadores inflamatórios e por este motivo, este sistema também constitui uma fonte natural de biomarcadores potenciais (NOBIS; ZALEWSKI; WASKIEWICZ, 2020).

Nesta perspectiva, estudos sobre os sistemas biológicos podem contribuir para interpretar as diferentes respostas clínicas e comportamentais dos neonatos expostos a drogas no período pré-natal e relacioná-las aos biomarcadores envolvendo, por exemplo, as citocinas *IL-10* e *TNFA*. Tendo em vista a relação destas citocinas com a produção de efeitos fisiológicos e comportamentais de risco para abuso de drogas, evidencia-se o papel dos polimorfismos de nucleotídeos simples (SNP) em diversas moléculas do sistema imune (ALVES *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Os SNP são a classe mais abundante de variação genética, podendo ser utilizados como biomarcadores por serem transmitidos junto a outros genes associados a doenças e por isso uma importante ferramenta no diagnóstico e tratamento de doenças. Assim, a detecção e a análise de polimorfismos genéticos podem auxiliar a compreender a base molecular de vários aspectos biológicos (TURCHETTO-ZOLET *et al.*, 2017).

Partindo para o contexto dos fatores ambientais, compreende-se que as influências familiares e institucionais e demais contextos subjetivos culturais, são capazes de interferir positiva ou negativamente para o desenvolvimento infantil global, torna-se um contributo essencial para interpretar os dados de saúde, e prever o cuidado e o conjunto de ações que o neonato exposto a drogas no período pré-natal requer para o retorno ou manutenção do seu estado de equilíbrio e sua adequada maturação (ARAÚJO *et al.*, 2019).

Assim, a avaliação clínica do neonato exposto a drogas no período pré-natal, torna-se um desafio na rotina de cuidados em saúde, pois, mesmo reconhecendo haver associação da exposição pré-natal às drogas no comportamento e desenvolvimento de recém-nascidos, somente entre 5 e 50% dos neonatos manifestam sinais neurocomportamentais alterados (LIMA *et al.*, 2018; BARBOSA, 2018; SIQUEIRA *et al.*, 2017; SEGRE; REGO; CARDOSO, 2017; BENTURA *et al.*, 2009; CUNHA, 2007).

Embora haja esta discrepância estatística, pode-se perceber que nem todos os neonatos manifestam alterações que facilitem a identificação da exposição à droga e, conseqüentemente, as precoces intervenções. Por este motivo, há necessidade de estudos que busquem compreender os sistemas biológicos e comportamentais, a relação do risco de disfunção neurocomportamental aos biomarcadores e para, além disso, compreender fatores ambientais (familiar e sociocultural) envolvidos na avaliação clínica e no processo de cuidar a estes neonatos.

Nesta perspectiva, foi proposto o estudo que responde à pergunta: “quais os principais fatores biológicos, epidemiológicos e socioculturais que norteiam o cuidado mediato ao neonato exposto a drogas no período pré-natal?”. Compreendendo a magnitude desta questão e a diversidade de dados de saúde, culturais e sociais que envolvem esta problemática, o presente estudo suscitou as seguintes questões relacionadas:

- Quais as principais limitações e potencialidades do cuidado ao neonato exposto a drogas no período pré-natal, à luz da Teoria da Diversidade e Universalidade do Cuidado Cultural de Madeleine Leininger?
- Qual o perfil sociodemográfico, de antecedentes familiares e obstétricos e aspectos socioculturais de puérperas que fizeram uso de drogas no período pré-natal, podem ser associados às respostas clínicas e neurocomportamentais dos neonatos e contribuir para o cuidado?
- Quais fatores socioculturais e epidemiológicos se relacionam aos sinais clínicos e comportamentais de neonatos expostos a drogas no período pré-natal, observados ainda na maternidade e interpretados à luz do Modelo Comportamental de Dorothy Jhonson?
- Diferentes respostas neurocomportamentais entre neonatos expostos a drogas no período pré-natal podem ser justificadas pela correlação com polimorfismos de nucleotídeos simples -819C/T do gene IL-10 e -308G/A do gene TNFA?

Por todo este contexto complexo, em que nem a abordagem qualitativa nem a abordagem quantitativa sozinha são suficientes para a compreensão do problema a ser estudado, justifica-se o desenvolvimento de um estudo de métodos mistos a fim de contribuir para que o conhecimento epidemiológico, sociocultural e dos sistemas biológicos e comportamentais dos neonatos expostos a drogas no período pré-natal, fundamentem o cuidado que pode requerer este paciente desde as primeiras horas de vida.

A escolha do estudo envolvendo métodos mistos se deu em virtude da sua capacidade de integrar dados quantitativos e qualitativos para gerar metainferências e *insights* exclusivos sobre os fenômenos observados, que não é possível obter com a utilização de somente uma abordagem, cujos resultados podem melhorar o cuidado, serviços, sistemas e políticas de saúde (LORENZINI; OELKE; MARCK, 2021).

Para tal, elaborou-se a seguinte pergunta de pesquisa de métodos mistos: “como a integração do conhecimento sobre os aspectos epidemiológicos e socioculturais ao conhecimento sobre os subsistemas biológico e comportamental de neonatos expostos a drogas no período pré-natal converge para contribuir para a qualificação do cuidado neonatal em maternidades?”. Tendo como tese de que a integração do conhecimento epidemiológico, sociocultural e do sistema comportamental elucidada elementos que contribuem para o cuidado mediato ao neonato exposto a drogas no período pré-natal.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar a integração do conhecimento sobre os aspectos epidemiológicos e socioculturais ao conhecimento sobre os subsistemas biológico e comportamental de neonatos expostos a drogas no período pré-natal para o cuidado neonatal mediato.

2.2 Objetivos específicos

- a) Descrever, em uma perspectiva etnográfica em maternidades, as principais limitações e potencialidades do cuidado ao neonato exposto a drogas no período pré-natal, à luz da Teoria da Diversidade e Universalidade do Cuidado Cultural de Madeleine Leininger.
- b) Identificar o perfil sociodemográfico e de antecedentes pessoais, familiares, obstétricos e dos padrões de consumo de drogas por puérperas no período pré-natal, a partir das dimensões socioculturais trazidas na Teoria da Diversidade e Universalidade do Cuidado Cultural de Madeleine Leininger.
- c) Descrever os sinais biológicos e comportamentais, à luz do Modelo Comportamental de Dorothy Johnson, em neonatos expostos a drogas no período pré-natal, manifestados a partir das primeiras horas após o nascimento.
- d) Identificar os principais fatores biológicos, epidemiológicos e socioculturais relacionados às respostas clínicas e neurocomportamentais de neonatos expostos a drogas no período pré-natal.
- e) Verificar a associação dos polimorfismos de nucleotídeos simples -819C/T, do gene *IL-10*, e -308G/A, do gene *TNFA*, ao risco e proteção de disfunções neurocomportamentais entre neonatos expostos a drogas no período pré-natal.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo multifásico de métodos mistos, o qual é compreendido como a combinação de estratégias simultâneas e/ou sequenciais de coleta de dados qualitativos e quantitativos em três ou mais fases ao longo de um período de alguns anos, para facilitar a compreensão dos problemas investigados e nas consequências úteis da pesquisa (FERREIRA *et al.*, 2020; CRESWELL; PLANO CLARK, 2013).

Desta forma, é possível utilizar, por exemplo, os dados qualitativos para explicar dados quantitativos ou mesmo para realizar uma exploração qualitativa antes de iniciar um experimento (CRESWELL; PLANO CLARK, 2013). Assim, o crescente interesse pela pesquisa com métodos mistos na área de ciências da saúde pode ser justificado por representar uma inovação metodológica para abordar questões atuais em saúde (LORENZINI, 2017).

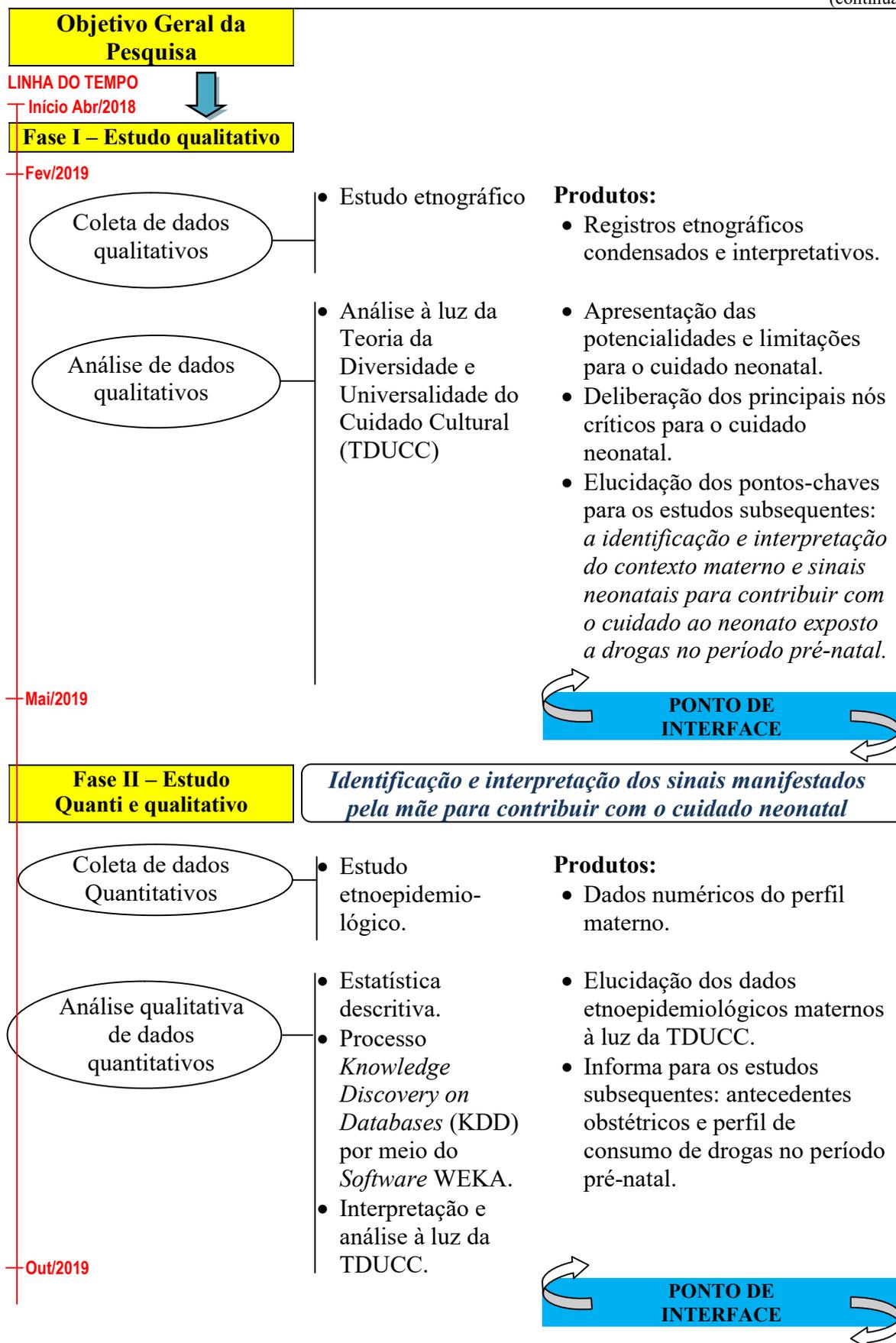
O “Projeto Multifásico”, portanto, é uma das versões de projeto de pesquisa de métodos mistos que se caracteriza por apresentar múltiplos estudos, que seguem uma rígida e inerente metodologia, cada qual com suas questões de pesquisa que contribuem para o objetivo principal do projeto, cujas respostas embasam o estudo subsequente (CRESWELL; PLANO CLARK, 2013).

De acordo com os princípios de um estudo de métodos mistos, descritos por Creswell e Plano Clark (2013), foi realizada a combinação de métodos por meio da abordagem de triangulação concomitante de dados quantitativos e qualitativos, em que a coleta destes elementos ocorre ao mesmo tempo, buscando compreender as diferenças, convergências e combinações entre eles (OLIVEIRA; MAGALHÃES; MISUEMATSUDA, 2018).

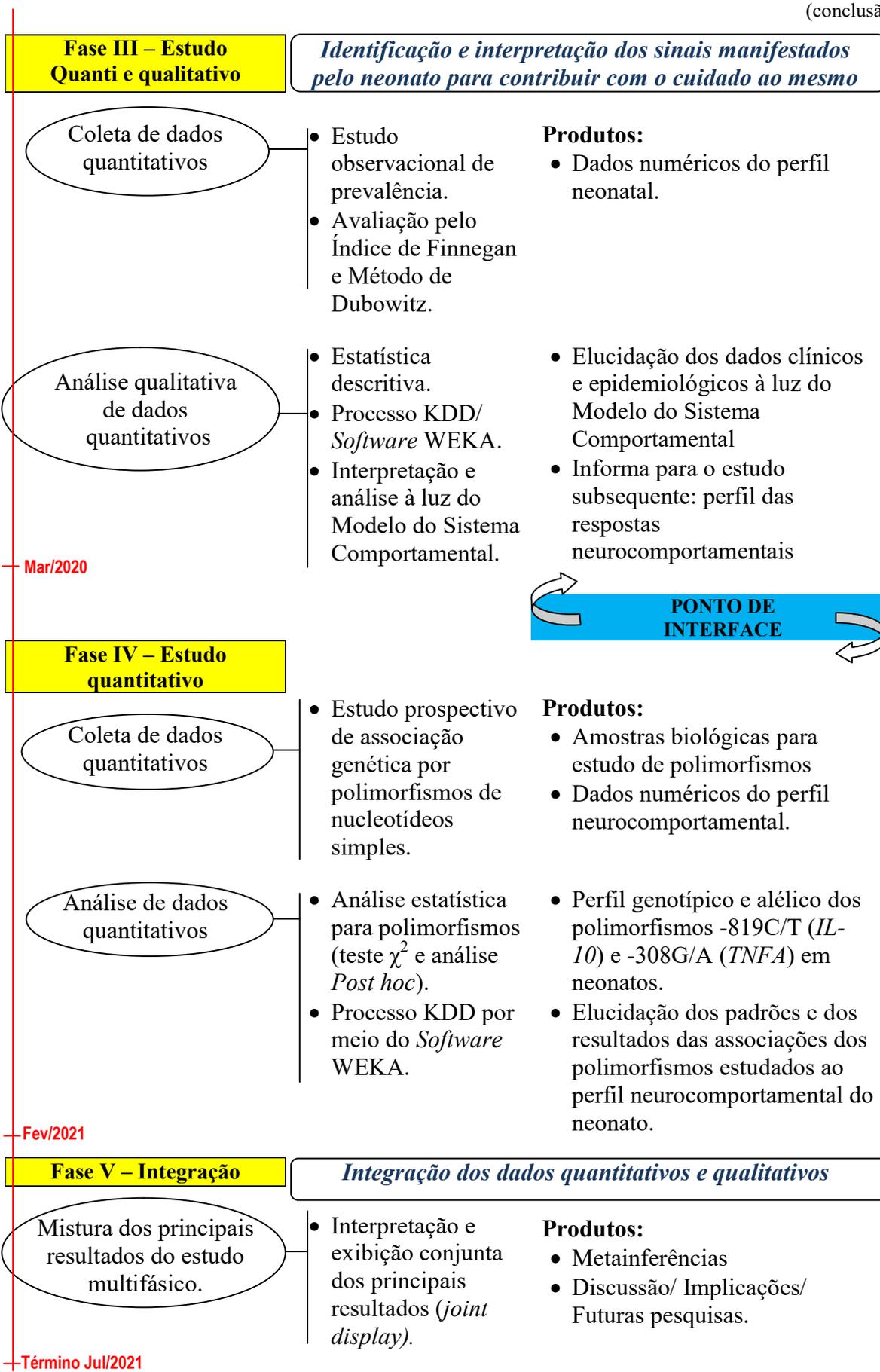
Para a execução deste projeto multifásico, ações foram iniciadas em abril de 2018, seguidas de cinco fases de estudos, desenvolvidas entre fevereiro de 2019 e julho de 2021. Cada estudo apresentou novos elementos que contribuíram para os estudos subsequentes. A última fase foi desenvolvida, atendendo à peculiaridade do estudo de métodos mistos, ou seja, momento em que ocorreu a mistura ou integração dos resultados quantitativos e qualitativos, para gerar as metainferências. O diagrama representando o desenho do estudo está ilustrado na Figura 5.

Figura 5- Diagrama do desenho do presente estudo de métodos mistos mutifásico.

(continua)



(conclusão)



Fonte: Dados da pesquisa.

A triangulação ocorreu em nível interativo, com igual ênfase, além de ter sido usado dentro do projeto maior estudos prioritários quantitativos seguidos de estudos suplementares qualitativos para ajudar a explicar os resultados quantitativos. Desta forma, a pesquisa pode ser representada pela notação: QUAL+QUAN→[QUAN→qual].

Em uma combinação multifásica, a interface ocorreu em uma estrutura objetiva do projeto principal e no nível de interpretação, uma vez que cada fase do estudo forneceu elementos que direcionaram a construção das fases subsequentes com foco no objetivo geral. O ponto de interface é o ponto de integração entre os elementos quantitativos e qualitativos (WU *et al.*, 2019; CRESWELL; PLANO CLARK, 2013).

Nesta perspectiva, a integração foi apresentada de forma descritiva, ocorrendo a interpretação de dados e a exibição conjunta dos resultados, de modo que as interfaces realizadas entre cada fase ajudaram a responder a pergunta de métodos mistos e a alcançar o objetivo geral do estudo multifásico.

A exibição conjunta dos principais resultados, compreendida como *joint display*, é uma forma de facilitar a integração dos elementos qualitativos e quantitativos em estudos de métodos mistos e representá-los por meio visual. As conclusões extraídas do *joint display* são denominadas metainferências. (MCCRUDDEN; MARCHAND; SCHUTZ, 2021; CRESWELL; PLANO CLARK, 2013). O *joint display* e as metainferências estão apresentados na fase 5 deste estudo.

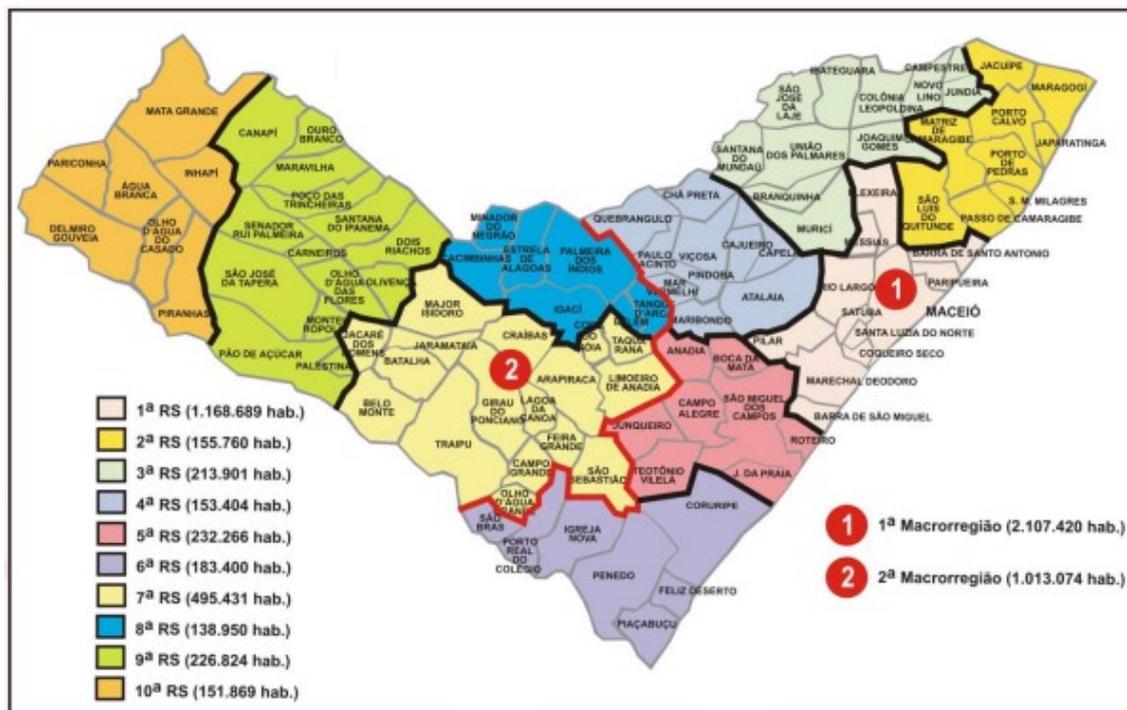
Como ferramenta de apoio para manter o rigor da escrita final deste estudo multifásico, foram aplicados requisitos estabelecidos pelo roteiro *Mixed Methods Appraisal Tool* (MMAT) “versão 2018” (HONG *et al.*, 2018), já adaptado transculturalmente ao contexto brasileiro por Souto *et al.* (2020), em versão anterior, e que possibilita avaliar concomitantemente a qualidade metodológica de estudos com diversos desenhos (qualitativos, quantitativos e mistos).

4.2 Campos de estudo

O estudo foi realizado no município de Arapiraca, localizado no nordeste do Brasil. É a segunda maior cidade de Alagoas, localizada na região agreste, centro do Estado, com uma população estimada de 233.047 habitantes pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística em 2020 (IBGE, 2010). Conforme o Plano Diretor de Regionalização, o Estado é dividido em duas macrorregiões de saúde e 10 regiões de saúde, sendo Arapiraca

pertencente a 7ª região e município sede da 2ª macrorregião junto com mais 19 municípios (SUvisa, 2017) (Figura 6).

Figura 6- Regiões de saúde de Alagoas.



Fonte: SUvisa, 2017.

A Rede Materno-Infantil da 7ª região de saúde de Alagoas compõe 79 leitos distribuídos em 07 instituições de saúde (maternidades ou casas de parto) em 06 municípios (SUvisa, 2017). Duas dessas instituições foram escolhidas como campos de pesquisa por serem referências em atendimento à gestante e ao neonato de alto risco e risco habitual da região pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

As duas maternidades estão sediadas em Arapiraca/AL, dispõem de 58 leitos no alojamento conjunto e de 30 leitos para atendimento no complexo neonatal (unidade de terapia intensiva neonatal e unidade de cuidados intermediários neonatais), tendo uma média de 15 a 20 partos por dia (números obtidos durante o desenvolvimento da pesquisa).

4.3 Participantes

Os participantes deste estudo foram díades compostas por puérperas e seus recém-nascidos, recrutados por ocasião de visitas às Maternidades, em uma amostra por

conveniência. Os critérios de inclusão: puérpera independente da faixa etária e tempo de gestação e seu neonato, cuja mãe tenha declarado o consumo de drogas no período pré-natal, abrangendo cafeína, medicamentos na categoria C, D ou X de risco na gravidez, tabaco, álcool ou outras drogas, ter tido gravidez única e concordado em participar da pesquisa com assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndices 1 e 2) ou Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) (Apêndice 3).

Ainda como critério de inclusão, adotou-se para determinar o consumo de cafeína na gestação, um quadro elaborado baseado em três estudos de referência, adotando-se como parâmetro para esta avaliação, uma dose segura recomendável inferior a 150mg/dia (MATIAS; JERI; RODRIGUES, 2017; BENTURA *et al.*, 2009; BUNKER; MCWILLIAMS, 1979).

Em relação ao consumo de álcool considerou-se o estudo de Hoyme *et al.* (2016) que descreve seis condições, onde pelo menos uma delas deve ser atendida para constituir a exposição pré-natal ao álcool. Para este estudo foram adotadas três dessas seis condições: (1) seis ou mais doses por semana por duas ou mais semanas durante a gravidez; (2) três ou mais drinques por ocasião em duas ou mais ocasiões durante a gravidez; e (3) problemas sociais ou legais relacionados ao álcool na época da gravidez.

Quanto aos critérios de inclusão por uso de medicamentos, aceitaram-se para pesquisa, mulheres que tivessem feito uso de medicamentos na categoria C, D ou X de risco na gravidez, tendo utilizado como parâmetro a Resolução da Diretoria Colegiada do Ministério da Saúde nº 60, de 17 de dezembro de 2010 (BRASIL, 2010). Foram consideradas, ainda, a puérpera usuária habitual de tabaco e outras drogas em qualquer momento da gravidez, em virtude dos riscos deste consumo à mulher e ao feto (LUCCHESI *et al.*, 2016b).

Foram critérios de exclusão puérperas menores de 18 anos sem o acompanhamento de seus responsáveis legais para assinatura do TCLE; sem condições cognitivas e mentais capazes de responder ao questionário; e puérperas cujos neonatos apresentassem alguma limitação para avaliação neurocomportamental, como imobilização em leito, medicação sedativa ou mesmo intubação. Dentre a população elegível, somente 3 díades (puérpera e neonato) não participaram do estudo por recusa materna.

4.4 Detalhamento metodológico de cada fase do estudo

4.4.1 Fase 1: Estudo qualitativo

Trata-se de um estudo qualitativo de natureza exploratória, descritivo, com perspectiva etnográfica realista sobre o cuidado prestado à díade puérpera usuária de álcool ou outras drogas e seu neonato.

Este estudo teve como pergunta norteadora: “quais as principais limitações e potencialidades do cuidado ao neonato exposto a drogas no período pré-natal, à luz da Teoria da Diversidade e Universalidade do Cuidado Cultural de Madeleine Leininger?” E como objetivo: “descrever, em uma perspectiva etnográfica em maternidades, as principais limitações e potencialidades do cuidado ao neonato exposto a drogas no período pré-natal, à luz da Teoria da Diversidade e Universalidade do Cuidado Cultural de Madeleine Leininger”.

A etnografia é uma especialidade da antropologia para compreender padrões das percepções e comportamento na rotina diária dos sujeitos estudados em uma experiência de coparticipação e relação próxima entre o pesquisador e os informantes, desenvolvendo uma relação de confiança para o processo modificador das estruturas sociais (NOBRE; AMORIM; FRANGELLA, 2019).

A etnografia é considerada um método qualitativo de se estudar a cultura de um grupo como também o produto escrito final, que representa o retrato cultural do grupo incorporado às visõesêmica e ética. A abordagemêmica traz visões dos participantes e é essencial para compreender as práticas do grupo cultural de forma intuitiva e empática. A abordagem ética traz as visões do pesquisador e é importante para comparar as práticas. (CRESWELL, 2014; ANGROSINO, 2009).

Neste estudo utilizou-se o tipo de etnografia realista que significa um relato objetivo da situação observada, narrada por uma terceira pessoa (etnógrafo) em uma posição imparcial. A escrita etnográfica tem como característica e desafio uma narração de maneira literária, diferenciando-se da abordagem tradicional da escrita científica (CRESWELL, 2014).

Diante deste contexto, para aproximar a relação com os campos de pesquisa e sujeitos envolvidos, foi desenvolvido um Projeto de extensão aprovado pela Pró-Reitoria de Extensão (PROEX) da Universidade Federal de Alagoas, vinculado ao Programa

Círculos Comunitários de Atividades Extensionistas (ProCCAExt), que propunha relacionar o conhecimento acadêmico-científico-tecnológico às ações coletivas (UFAL, 2018).

O referido Projeto foi aprovado com título: “Drogas na gestação: qualificando o cuidado à gestante toxicodependente e o manejo do neonato com síndrome de abstinência neonatal” (Anexo 2) e foi executado entre abril de 2018 a outubro de 2019. Os objetivos iniciais foram promover a educação em saúde às gestantes, puérperas e suas famílias sobre as consequências das drogas na gestação e dialogar com profissionais de saúde sobre o cuidado ao neonato com SAN.

O projeto de extensão atende às diretrizes da Lei nº 9.394/1996 (BRASIL, 1996), que estabelece que uma das finalidades da educação superior é, conforme descrito em seu Art. 43, “promover a extensão, aberta à participação da população, visando à difusão das conquistas e benefícios resultantes da criação cultural e da pesquisa científica e tecnológica geradas na instituição”.

Para os campos do estudo, esta ação extensionista foi considerada uma contrapartida da equipe de pesquisa para contribuir na qualificação das práticas do serviço na temática estudada. Já para o projeto multifásico, favoreceu a compreensão da rotina do serviço, o diálogo e a parceria entre a Universidade (representada pela pesquisadora e equipe extensionista) e o serviço (representada pelos gestores e profissionais de saúde), assim como foi possível firmar alguns acordos para fortalecer a relação de confiança num contato aberto direto entre o observado (sujeitos da pesquisa) e o observador (pesquisadora e equipe).

As ações extensionistas permitiram, então, planejar a pesquisa com foco no cuidado materno-neonatal, pois durante estas ações facilmente ocorrem interações entre pesquisadores e os *stakeholders* (pessoas interessadas em estabelecer mudanças viáveis, aceitáveis e potencialmente efetivas em um contexto específico) para transformar o conhecimento científico na efetiva aplicação no sistema de saúde, apoiando as tomadas de decisões, de modo interativo e multidirecional (DIAS; FIGUEIREDO, 2020; LORENZINI *et al.*, 2019; BEZERRA *et al.*, 2019; PINA-OLIVEIRA, 2017; CURTIS *et al.*, 2016).

As entradas nesses cenários de pesquisa foram realizadas por uma docente enfermeira pediátrica, pesquisadora em doutoramento, e duas alunas da graduação de enfermagem. As vivências de aproximadamente dois anos nos campos da pesquisa embasaram este estudo etnográfico, que foi iniciado em abril de 2018, a partir do projeto

de extensão, e finalizado em março de 2020 em virtude dos desdobramentos ao longo dos meses que sucederam o início da pandemia de COVID-19 no Brasil, incluindo a Portaria nº 356/GM/MS, de 11/03/2020, e que impediram a continuidade da coleta de dados do presente estudo.

4.4.1.1 Coleta de dados

Para a coleta de dados na fase 1 utilizou-se a técnica da triangulação – observação participante, entrevista e análise de materiais de arquivos. A observação participante consiste na inserção dos pesquisadores ao contexto dos serviços de saúde para observar, entrevistar, compartilhar o cotidiano e explicar os padrões observados da atividade humana (MARIETTO, 2018; CRESWELL, 2014).

Por meio da observação participante tornou-se possível vivenciar junto a 15 profissionais de saúde (três médicos, sete enfermeiros, quatro técnicos de enfermagem e uma psicóloga) o processo de cuidados nos campos de estudo. Além disso, foram entrevistadas 105 puérperas, em um universo de 582 puérperas atendidas nas maternidades e abordadas durante o período da fase 1 deste estudo multifásico, que declararam o consumo de drogas na gestação, o que correspondeu à prevalência de cerca de 20,00% de exposição a drogas.

Para permitir a análise de materiais de arquivo foram coletados dados de fontes primárias, como Declaração de Nascidos Vivos, cartão da gestante, cartão da criança, prontuários da mãe e do recém-nascido, protocolos operacionais padrão e livro de registros de partos existentes nas Maternidades do presente estudo.

Para um estudo etnográfico, uma estrutura geral é sugerida de modo que o pesquisador compile uma descrição do grupo, realize uma análise temática dos padrões observados; e interprete os dados, apresentando um panorama geral de como o sistema observado funciona (CRESWELL, 2014; ANGROSINO, 2009).

A coleta de dados favoreceu registros etnográficos condensados e interpretativos, expressando as reflexões sobre as entrevistas, as práticas e dados observados. Sendo possível alcançar o reconhecimento das limitações e potencialidades para o cuidado prestado a 105 puérperas e seus neonatos expostos a drogas no período pré-natal, e a deliberação dos principais nós críticos para este cuidado. Nós críticos são entendidos aqui como as causas que direcionam a um problema ou limitação das práticas, ou seja,

constituem aspectos que interferem na produção de um ou mais problemas sobre as quais os atores envolvidos tenham condições de atuar com eficácia para superá-los (CAMARGO *et al.*, 2020).

4.4.1.2 *Análise de dados*

As transcrições das percepções e das reflexões foram devolvidas na modalidade escrita a três profissionais de saúde sendo uma psicóloga e dois médicos para apreciação, contribuições na decodificação e interpretação dos dados etnográficos. Após o tempo acordado para as devidas reflexões e contribuições, os retornos foram realizados oralmente ou na modalidade escrita.

A partir dos dados qualitativos emergiram cinco nós críticos principais que foram categorizados em duas temáticas: a identificação e interpretação do contexto materno e a identificação e interpretação dos sinais neonatais para contribuir com o cuidado ao neonato exposto a drogas no período pré-natal. Estes foram considerados os pontos-chaves para as pesquisas subsequentes.

Para a análise dos dados, utilizou-se como referencial a Teoria da Diversidade e Universalidade do Cuidado Cultural (TDUCC), proposta por Madeleine Leininger, para compreender os fatores que repercutem na produção do cuidado transcultural. Esta teoria propõe o cuidado sob a ótica transcultural e holística, considerando todos os sujeitos ativamente envolvidos no processo de cuidar (SOARES *et al.*, 2020).

4.4.2 Fase 2: Estudo quanti e qualitativo

Trata-se de um estudo etnoepidemiológico, transversal, descritivo, de abordagem quanti e qualitativa. Os estudos etnoepidemiológicos são capazes de integrar métodos epidemiológicos e etnográficos, combinando proficientemente abordagens qualitativas e quantitativas, para melhor compreender como o contexto o qual o indivíduo está inserido, impacta na sua saúde e em aspectos sociais (FLEMING *et al.*, 2021).

Para se compreender um estudo etnoepidemiológico, faz-se necessário descrever a epidemiologia como o estudo do processo saúde e doença, a partir do entendimento dos fatores que determinam riscos de doenças, agravos ou eventos em saúde de populações, sendo capaz de propor medidas de proteção, prevenção, promoção ou recuperação de

saúde, que contribuem, inclusive, para a tomada de decisão de gestores em saúde e para a qualidade de vida de indivíduos e coletividades (ROUQUAYROL; SILVA, 2018).

Assim, a partir da etnoepidemiologia é possível produzir conhecimento científico em três tipos, de acordo com Almeida-Filho (2020, p. 2):

- a) estudos de fatores de risco socioculturais e grupos de risco etnodefinidos;
- b) estudos de padrões populares de distribuição e ocorrência de doenças nas populações;
- c) estudos etnográficos de projetos e programas de pesquisa epidemiológica, enfatizando as dimensões socioculturais dos fenômenos saúde-doença como uma totalidade etnoepidemiológica.

Considerou-se, ainda, um estudo transversal, descritivo, uma vez que o mesmo tem como característica a coleta de dados realizada em um único momento com detalhamento dos fenômenos observados de forma organizada (ZANGIROLAMI-RAIMUNDO; ECHEIMBERG; LEONE, 2018).

Utilizou-se de abordagem quanti e qualitativa, por trazer a combinação de dados quantitativos e qualitativos na coleta e análise em um único estudo ou em uma série de estudos. As quantificações constituem indicadores que fortalecem as análises qualitativas, e vice-versa, de modo que as duas abordagens se complementam e se apoiam (SCHNEIDER; FUGII; CORAZZA, 2017; OLIVEIRA, 2015). Desta forma, os dados quantitativos do presente estudo foram categorizados e interpretados à luz da TDUCC e apoiados pelos dados qualitativos obtidos na fase 1 deste estudo.

Neste contexto, buscando a aproximação entre as abordagens de pesquisa quantitativa e qualitativa, a fase 2 deste estudo teve como questão norteadora: “qual o perfil sociodemográfico, de antecedentes familiares e obstétricos e aspectos socioculturais de puérperas que fizeram uso de drogas no período pré-natal, podem ser associados às respostas clínicas e neurocomportamentais dos neonatos e contribuir para o cuidado?”

O objetivo do estudo foi: “identificar o perfil sociodemográfico e de antecedentes pessoais, familiares, obstétricos e dos padrões de consumo de drogas por puérperas no período pré-natal, a partir das dimensões socioculturais trazidas na Teoria da Diversidade e Universalidade do Cuidado Cultural de Madeleine Leininger”.

Diante do alcance de 105 puérperas na fase 1 deste estudo, e pela impossibilidade de aumentar o número populacional, devido às restrições impostas pela pandemia de

COVID-19 ora instalada na região do estudo, avaliou-se a representatividade desta população para análise quantitativa proposta no objetivo da fase 2.

Para isso foi realizado o cálculo amostral a partir da calculadora StatCalc - *Sample Size and Power* para estudos descritivos de inquéritos populacionais do software EPI Info 7, disponibilizado pela CDC, Atlanta, EUA. Optou-se por seguir o estudo aceitando um nível de confiança de 80%, cujo cálculo estimou um tamanho amostral de 102 indivíduos.

Considerou-se para este cálculo, uma população de 3.494 nascidos vivos em Arapiraca no ano de 2019, de acordo com dado público disponibilizado pelo Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde do Ministério da Saúde (BRASIL, 2019); uma prevalência de 20%, considerando a estimativa realizada durante a fase 1 deste estudo, bem como registros na literatura (JARQUE *et al.*, 2021; BARBOSA, 2018; SIQUEIRA *et al.*, 2017; REIS; LOUREIRO, 2015; GOLIN; SOUZA; SARNI, 2009); uma margem considerável de erro de 5%, *design effect* de 1,0 e *cluster* 1.

4.4.2.1 Coleta de dados

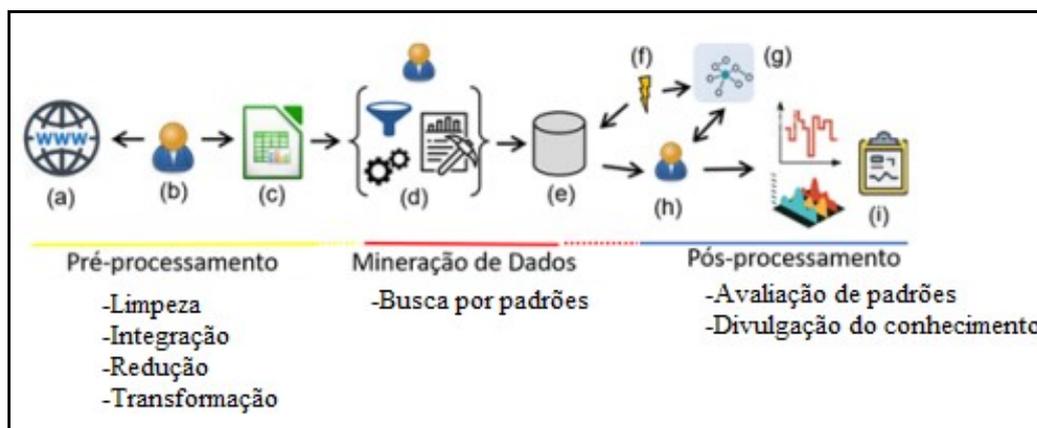
Os dados epidemiológicos, sociodemográficos, clínicos e as características do uso abusivo de drogas pela puérpera durante o período gestacional, foram coletados durante 13 meses (fevereiro de 2019 a março de 2020), a partir de entrevistas por meio de um formulário semi-estruturado (Apêndice 4) aplicado a puérperas, ainda na maternidade, e dados secundários oriundos dos prontuários, cartão da gestante, cartão da criança, declaração de nascidos vivos e dos registros das maternidades.

O formulário foi construído a partir da interpretação dos dados apresentados na revisão da literatura do presente estudo e dos indicadores sociodemográficos e de saúde utilizados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), tendo sido aplicado às mulheres incluídas no estudo. Pré-testes de aplicação do formulário foi realizado durante a fase 1 deste estudo, uma vez que esses recursos permitem avaliar precocemente o processo de coleta de dados para os ajustes necessários (PEREIRA *et al.*, 2019).

As variáveis independentes deste estudo foram: os dados sociodemográficos; dados do pré-parto, parto e puerpério; informações sobre o uso das drogas consumidas na gravidez, incluindo tipo de droga e quantidade; histórico familiar e histórico pessoal e informações complementares.

Os dados quantitativos foram organizados manualmente em uma base de dados em arquivo do *software* Microsoft Office Excel®. Por meio deste foi realizada a análise estatística, com obtenção das frequências absolutas e relativas. Aos dados quantitativos foi aplicado o processo de Descoberta de Conhecimento em Bancos de Dados (KDD), que compreende três etapas principais: pré-processamento, mineração de dados e pós-processamento (SEMAAN *et al.*, 2020; GREGORY; PRETTO, 2016) (Figura 7).

Figura 7- Ilustração das etapas do processo de KDD.

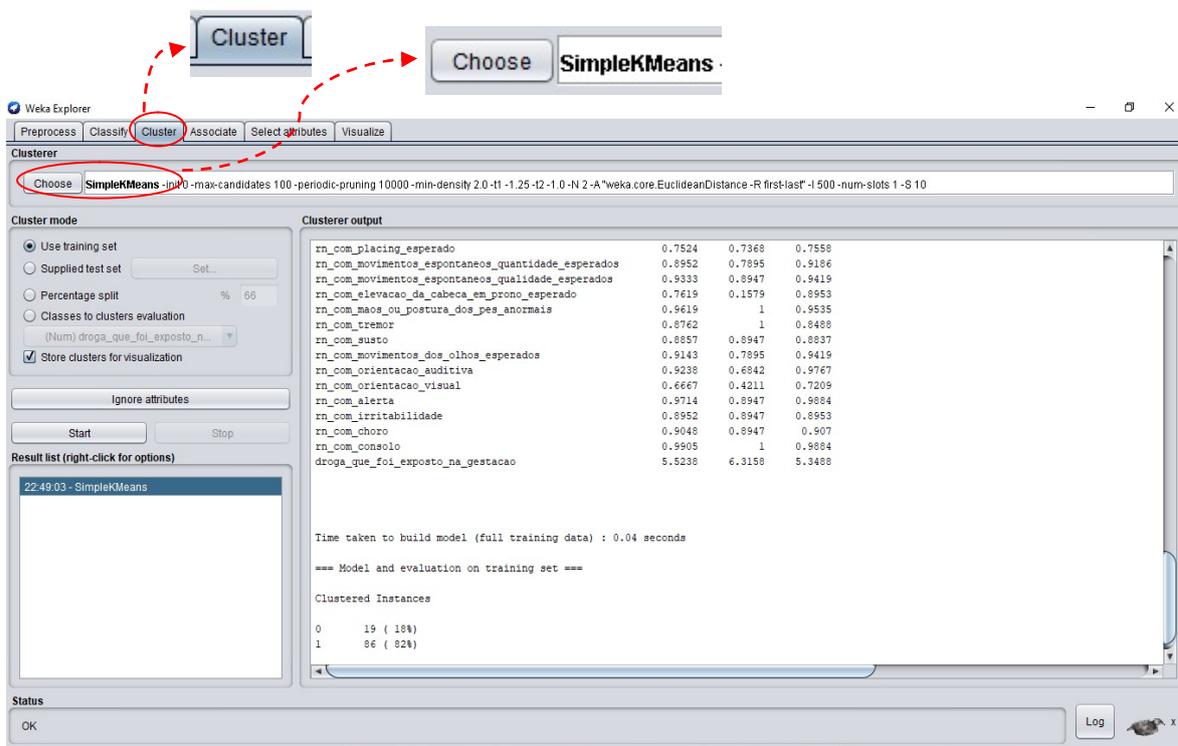


Fonte: Semaan *et al.* (2020), com adaptações.

O processo de KDD ocorreu por meio da ferramenta *Waikato Environment for Knowledge Analysis* (WEKA) “versão 3.8.5”. Trata-se de um programa em Java, multiplataforma, desenvolvido pela Universidade de Waikato, Nova Zelândia e distribuído gratuitamente sob a licença *General Public Licence* (GNU).

Na fase pré-processamento os dados quantitativos foram convertidos em forma bruta e salvos na extensão *Attribute Relation File Format* (.arff), considerado o formato padrão do WEKA. A partir dos atributos selecionados no WEKA Explorer foi possível seguir com a etapa de mineração de dados, adotando-se o algoritmo *SimpleKMeans*, para a técnica de agrupamento (*Cluster*), o que possibilitou a identificação de padrões e informações dos dados e favoreceu a avaliação e apresentação da interpretação dos dados quantitativos (fase pós-processamento) (Figura 8).

Figura 8- Tela de mineração de dados do WEKA adotando-se o algoritmo *SimpleKMeans* para a técnica de agrupamento (*Cluster*).



Fonte: Imagem extraída do software WEKA “versão 3.8.5”.

4.4.2.2 Análise de dados

A análise e discussão dos dados dos perfis das puérperas usuárias de drogas, foi realizada à luz das dimensões da estrutura social e cultural, que correspondem a sete fatores que podem influenciar para o cuidado culturalmente congruente, descritos no nível I do modelo *Sunrise* da Teoria proposta por Madeleine Leininger: a) tecnológicos; b) religiosos e filosóficos; c) de companheirismo e sociais; d) culturais e modos de vida; e) políticos e legais; f) econômicos; e g) educacionais (SCHEK *et al.*, 2020).

4.4.3 Fase 3: Estudo quanti e qualitativo

Trata-se de um estudo epidemiológico, observacional, descritivo, de prevalência, de base individual e de abordagem quanti e qualitativa. São considerados estudos observacionais, descritivos e de prevalência, aqueles cuja proporção de eventos ou características é observada em um determinado momento e apresentados de forma organizada e detalhada. A base individual refere-se aos dados primários finitos

individualizados utilizados como unidades de análises do grupo populacional (MERCHÁN-HAMANN; TAUIL, 2021; PIZZICHINI; PATINO; FERREIRA, 2020; ZANGIROLAMI-RAIMUNDO; ECHEIMBERG; LEONE, 2018).

Foi considerado um estudo quanti e qualitativo uma vez que se atribuiu aos dados quantitativos do estudo epidemiológico, um sentido concreto, ou seja, uma significação a partir de um referencial teórico, ao ser interpretado qualitativamente, porque se entende que a abordagem quantitativa e qualitativa nunca está totalmente dissociada em uma pesquisa (SOUZA; KERBAU, 2017).

Assim, utilizando-se da interpretação qualitativa da contagem de eventos clínicos em grupos de populações com contextos semelhantes, buscou-se responder questões clínicas e orientar a tomada de decisão para o cuidado do paciente (FLETCHER, 2021).

Partindo desta compreensão, a fase 3 deste estudo teve como questão norteadora: “quais fatores socioculturais e epidemiológicos se relacionam aos sinais clínicos e comportamentais de neonatos expostos a drogas no período pré-natal, observados ainda na maternidade, e interpretados à luz do Modelo Comportamental de Dorothy Jhonson?”

Os objetivos do estudo foram: “descrever os sinais biológicos e comportamentais, à luz do Modelo Comportamental de Dorothy Jhonson, em neonatos expostos a drogas no período pré-natal, manifestados a partir das primeiras horas após o nascimento” e “identificar os principais fatores biológicos, epidemiológicos e socioculturais relacionados às respostas clínicas e neurocomportamentais de neonatos expostos a drogas no período pré-natal”.

Esta fase apoiou-se nos resultados do estudo da fase 2, que forneceu informações indispensáveis para o estudo da fase 3 sobre os antecedentes obstétricos (acompanhamento pré-natal, intercorrências obstétricas, tipo de parto) e o perfil de consumo de drogas no período pré-natal de 105 puérperas recrutadas e entrevistadas.

Todos os neonatos das mães participantes da fase 2 (n=105) foram avaliados na fase 3 quanto às respostas neurocomportamentais, tempo de internação, necessidade e tempo de tratamento e dados individuais obtidos ao nascimento: medidas antropométricas, tipo de nascimento, sexo, idade gestacional e resultados de avaliação de Apgar.

4.4.3.1 Coleta de dados

Os dados clínicos e de avaliação neurocomportamental de neonatos expostos a drogas no período pré-natal foram coletados por meio de um instrumento de coleta de dados (Apêndice 4) entre fevereiro de 2019 e março de 2020. Obteve-se, ainda, dados secundários oriundos dos 105 prontuários materno-neonatais disponíveis nas maternidades, cartão da gestante, cartão da criança, declaração de nascidos vivos e dos registros das maternidades.

A pesquisadora principal e duas estudantes de graduação em enfermagem, devidamente capacitadas durante o Projeto de Extensão desenvolvido na Fase 1, aplicaram aos neonatos o Método de Dubowitz (MASSAROLLO, 2021) e o Índice de Finnegan (GOMEZ-POMAR; FINNEGAN, 2018) para avaliação neurocomportamental e de sinais de abstinência. As avaliações neonatais foram registradas em prontuários e os profissionais das maternidades tinham ciência dos resultados. Quando necessário, resultados insatisfatórios foram discutidos com médicos pediatras para confirmação.

As dimensões avaliadas pelo Método de Dubowitz que somaram valores entre 30,5 a 34, corresponderam a um resultado aceitável para a idade. Com valores abaixo de 30,5 foi possível classificar o neonato com desempenho neurocomportamental abaixo dos padrões esperados (MASSAROLLO, 2021). Neste estudo, um item da dimensão reflexos (reflexos tendinosos) não foi avaliado, por dificuldades técnicas e de materiais, resultando em 33 itens avaliados.

4.4.3.2 Análise de dados

Os dados quantitativos foram organizados manualmente em uma base de dados em arquivo do *software* Microsoft Office Excel[®]. Por meio deste foi realizada a análise estatística, com obtenção das frequências absolutas, relativas e médias. Também foi utilizado o *software* BioEstat 5.3 para cálculo do *Odds Ratio* (OR) e *p-valor*. Aceitaram-se os valores de OR com intervalo de confiança de 95%, considerando valores de *p* menores que 0,05 estatisticamente significativos.

Aos dados quantitativos, obtidos por meio da avaliação neurológica de neonatos expostos a drogas no período pré-natal, foi aplicado o processo de Descoberta de

Conhecimento em Bancos de Dados (KDD) por meio da ferramenta *Waikato Environment for Knowledge Analysis* (WEKA) “versão 3.8.5”, conforme descrito na fase 2 deste estudo.

Os dados quantitativos foram analisados conforme proposto para a normalidade pelo Método Dubowitz (MASSAROLLO, 2021) e identificadas as dimensões de maior vulnerabilidade considerando as disfunções relacionadas ao desenvolvimento da criança. Os dados foram categorizados e interpretados à luz do Modelo do Sistema Comportamental (MSC) de Dorothy Johnson.

O MSC facilmente se adapta ao cuidado neonatal, em prol do funcionamento do sistema comportamental eficiente e efetivo para prevenir uma determinada doença. A partir deste Modelo, foi possível compreender o sistema comportamental do neonato a partir de oito subsistemas inter-relacionados: de ligação ou afiliação; de dependência; de ingestão; de eliminação; de sexualidade; de agressão; de realização e de recuperação (CHENG; LUO, 2020).

4.4.4 Fase 4: Estudo quantitativo

Trata-se de um estudo do tipo caso controle, de associação genética por Polimorfismos de Nucleotídeos Simples (SNP). A pesquisa básica foi conduzida para ajudar a compreender os elementos obtidos no estudo da Fase 3, sobretudo as diferentes respostas neurocomportamentais manifestadas por neonatos expostos a drogas no período pré-natal.

Estudos de casos e controles são estudos classificados quanto à relação temporal entre exposição (fator de risco/ fator de proteção) e o desfecho de interesse. São comumente utilizados em investigações de polimorfismos genéticos no campo da Epidemiologia Molecular, a fim de compreender uma relação de causa efeito entre a exposição anterior e um desfecho presente avaliado (FERREIRA, 2011; RÊGO, 2010).

A questão que norteou este estudo foi: “diferentes respostas neurocomportamentais entre neonatos expostos a drogas no período pré-natal podem ser justificadas pela correlação aos polimorfismos de nucleotídeos simples -819C/T do gene *IL-10* e -308G/A do gene *TNF-A*?” Objetivou-se, então, “verificar a associação dos polimorfismos de nucleotídeos simples -819C/T, do gene *IL-10*, e -308G/A, do gene *TNFA*, ao risco e proteção de disfunções neurocomportamentais entre neonatos expostos a drogas no período pré-natal”.

Todos os neonatos incluídos no estudo foram divididos em dois grupos: estudo e controle. Para o grupo estudo foram considerados os neonatos com disfunção neurocomportamental, cujo resultado após a aplicação do Método de Dubowitz foi abaixo 30,5 pontos, portanto exposto ao risco de lesão neurológica. Já os neonatos cuja avaliação foi considerada adequada, ou seja, com resultado acima de 30,5 pontos, compuseram o grupo controle (MASSAROLLO, 2021).

Primeiramente buscou-se avaliar a representatividade da população de 105 neonatos incluídos no estudo da fase 3 para análise estatística das diferentes respostas neurocomportamentais entre os grupos estudo e controle propostas na fase 4. Para isso foi realizado o cálculo amostral a partir da calculadora StatCalc - *Sample Size and Power* para estudos transversais do software EPI Info 7 (CDC, Atlanta, EUA), considerando o interesse em estudos do tipo casos e controles.

Adotou-se o nível de confiança de 95%, *Power* de 80%, *Ratio* de 1,5. A prevalência foi calculada a partir dos registros da literatura e dos parâmetros obtidos na fase 2, assumindo-se para este estudo 65% de probabilidade de exposição ao risco de lesão neurológica para o grupo que manifestou alterações neurocomportamentais e 35% para o grupo não exposto ao mesmo risco, por não manifestarem alterações neurocomportamentais significativas.

Optou-se pelo método de Fleiss com correção estatística, resultando em um total mínimo para esta fase de 102 indivíduos, *Risk ratio* de 1,86 e *Odds ratio* de 3,45. Desta forma, observou-se a representatividade para análise estatística das diferentes respostas neurocomportamentais entre os grupos estudo e controle dos 105 neonatos incluídos na fase 3, com ajustes na divisão do número de indivíduos para cada grupo.

Porém, para o estudo de polimorfismos, compreendendo que poderia ser evitada a análise de todas as amostras biológicas dos 105 neonatos, optou-se por utilizar o software G*Power “versão 3.0” para compreender o poder amostral. O cálculo seguiu os seguintes parâmetros: testes de qui-quadrado (χ^2), teste estatístico de adequação com tabelas de Contingência e tipo de análise *post hoc*. O teste *post hoc* possibilita acurácia para avaliação das diferenças entre os grupos estudados, protegendo contra a inflação de se realizar inferências falso-positivas (NASCIMENTO; SILVA; PRESTES, 2019; CORDEIRO; MELO; FERNANDES, 2018).

Os resultados do $\text{Power} > 0,8$ demonstraram poder estatístico, bem como foi suficiente para se obter o equilíbrio de Hardy-Weinberg (*p-valor*) igual a 1,0. Assim, as

frequências genótípicas e alélicas apresentadas pelos neonatos determinaram que um total de 70 amostras de neonatos para avaliação da Interleucina-10 (*IL-10*) e um total de 48 para avaliação do Fator de Necrose Tumoral Alfa (*TNFA*) seriam suficientes para realizar as análises estatísticas e cumprir, com responsabilidade, a gestão de custos em pesquisas básicas (Quadro 4).

Quadro 4- Resultados da avaliação *post hoc* dos dados do estudo, obtidos a partir do software G*Power.

	-819C/T (<i>IL-10</i>)		-308G/A (<i>TNFA</i>)	
	Genótipo	Alelo	Genótipo	Alelo
n	70	140	48	96
<i>Power</i> (1- β err prob)	0,96	0,80	1,0	0,95

Fonte: Dados da pesquisa.

4.4.4.1 Coleta de dados

Durante o período de coleta de dados clínicos dos neonatos da fase 3 deste estudo, iniciado em fevereiro de 2019, também foram coletadas amostras de células bucais para estudo genético, utilizando-se de *swab* (cotonete) para esfregaço na mucosa bucal do recém-nascido.

As amostras foram armazenadas em microtubos de 2 mililitros (ml) e encaminhadas ao Laboratório de Biologia Molecular e Expressão Gênica (LaBMEG) da Universidade Federal de Alagoas, *Campus Arapiraca*, para armazenamento à temperatura de -20°C.

A etapa laboratorial para extração do ácido desoxirribonucleico (DNA) genômico humano, genotipagem e análise de polimorfismo dos neonatos do estudo, ocorreu entre fevereiro e maio de 2021. Foi seguido o protocolo de coleta e extração de DNA disponível no LaBMEG (Anexo 1).

a) Extração de DNA genômico e eletroforese:

A extração do DNA genômico foi realizada utilizando um protocolo adaptado de Abrão *et al.* (2005) (Anexo 1). Aos microtubos de 2 ml contendo a ponta do *swab* bucal que contém espuma, foram adicionados 600 μ L de TES (Tris HCl 10 mM pH 8.0; EDTA 1 mM; SDS 0,6%) e 7 μ L de proteinase K, posteriormente foi realizado a incubação a 50°C

por 2 horas. Após a incubação, retirou-se a parte do *swab*, e adicionou-se 120 µL de NaCl e centrifugou-se a 14.000 rotações por 1 minuto (rpm).

O sobrenadante foi transferido para um novo microtubo (1,5 ml), adicionou-se 500 µL de etanol absoluto e, em seguida, a amostra foi congelada por no mínimo 24 horas. Em sequência, realizou-se uma nova centrifugação a 14.000 rpm por 1 minuto. O etanol absoluto foi desprezado e adicionou-se 1 ml de etanol 70%, seguido por centrifugação a 14.000 rpm por 1 minuto. O etanol 70% foi descartado e o DNA dissolvido em 60 µl de TE (Tris HCl 10 mM; EDTA 0,1 mM).

Após o processo de extração, todas as amostras foram quantificadas por meio do espectrofotômetro BioPhotometer plus (Eppendorf® AG, Hamburg, Germany) e a razão das absorbâncias nos comprimentos de onda 260 e 280 nm (nanômetro) que estiveram entre 1,7 e 1,9 apresentaram um DNA mais puro. Adiante, as amostras foram estocadas à temperatura de -20°C.

A integridade quantitativa e qualitativa das amostras de DNA genômico foi verificada por meio de eletroforese em gel de agarose a 1% utilizando 450µL de água para injetáveis e 50 µL de amostra do DNA. A migração eletroforética foi realizada a 100V, 60 mA por 60 minutos em cuba horizontal com fonte LPS 1000V (Loccus biotecnologia®, Brasil).

Para referência em relação ao tamanho molecular de DNA foi utilizado um marcador de 100 pb (pares de base) (Invitrogen® Corporation, USA). As bandas foram visualizadas utilizando luz ultravioleta após coloração do gel com brometo de etídio (mg/ml) e documentadas através do sistema de captura de imagem (Loccus Biotecnologia®, São Paulo, Brasil).

b) Genotipagem:

Para descrição no estudo de polimorfismos genéticos foram escolhidos duas citocinas: o Fator de Necrose Tumoral Alfa (*TNFA*), que é considerada uma das principais citocinas presentes no corpo humano e está relacionada aos processos inflamatórios e imunes e a Interleucina 10 (*IL-10*), considerada uma potente citocina antiinflamatória, que assume um importante papel na prevenção de patologias inflamatórias e autoimunes (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019).

A partir de consulta ao banco de dados dbSNP *Short Genetic Variations*¹, foi possível obter as características dos polimorfismos de nucleotídeos simples (SNP) a serem estudados dos genes *TNFA* (-308G/A) e *IL-10* (-819C/T), cuja identificação foi determinada pela técnica de reação de cadeia da polimerase em tempo real (qPCR), por meio do método de discriminação alélica utilizando o ensaio TaqMan (*Applied Biosystem*[®], Califórnia, USA) (Tabela 1).

Tabela 1 - Características dos genes *TNFA* e *IL-10* selecionados para o estudo.

Gene	Sequência de referência	Nucleotídeo substituído	Tipo de alteração	Global MAF*
<i>TNFA</i>	rs1800629	G/A	Transcricional	0,09
<i>IL-10</i>	rs1800871	C/T	Transcricional	0,43

Fonte: Dados da pesquisa.

*Legenda: MAF (do inglês, *minor allele frequency*).

Para amplificação das amostras de DNA através de qPCR, preparou-se uma placa com 96 poços, onde cada poço continha 5 µL de solução TaqMan *Genotyping Master Mix* (*Applied Biosystems*[®], Califórnia, USA); 0,125 µL de sonda referente ao SNP alvo e 4,875 µL de cada amostra, cujo volume final resultasse em 10 µL. Em todas as placas foram utilizados um controle negativo (reação sem a amostra do DNA) e um controle positivo (amostra de DNA com um perfil genotípico previamente identificado).

Por meio do equipamento ABI *StepOne plus* da *Applied Biosystems*[®] foram realizadas as reações sob as seguintes condições: 95°C por 10 min, seguido de 40 ciclos de 92°C por 15s e 60°C por 1 min. Este equipamento acompanha um *software* que fornece um relatório com os resultados das reações, apresentando as curvas de amplificação da discriminação alélica de cada indivíduo.

4.4.4.2 Análise de dados

Os dados quantitativos obtidos a partir desse relatório foram organizados manualmente em uma base de dados em arquivo do *software* Microsoft Office Excel[®]. Por meio deste foi realizada a análise estatística, com obtenção das frequências absolutas e relativas. Aos dados quantitativos foi aplicado o processo de Descoberta de Conhecimento

¹ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>

em Bancos de Dados (KDD) por meio da ferramenta *Waikato Environment for Knowledge Analysis* (WEKA) “versão 3.8.5”, conforme descrito na fase 2 deste estudo.

A análise estatística específica para polimorfismo foi realizada pelo Teste Qui-quadrado (χ^2) no programa SNPstats, disponível *on-line*, por meio deste também foi analisado o Equilíbrio de Hardy-Weinberg da população em estudo. Também foi utilizado o *software* BioEstat “versão 5.3” para cálculo do *Odds Ratio* (OR) e *p-valor*. Aceitaram-se os valores de OR com intervalo de confiança de 95%, considerando valores de *p* menores que 0,05 estatisticamente significativos.

As análises das associações entre as frequências genotípicas e alélicas (obtidas nesta fase 4) e o perfil clínico e de exposição às drogas dos neonatos em relação ao desfecho alterações neurocomportamentais dos neonatos (dados obtidos na fase 3), foram realizadas pelo Microsoft Office Excel[®] e por meio dos agrupamentos realizados pela ferramenta WEKA.

4.5 Aspectos éticos do estudo multifásico

A pesquisa teve a anuência das direções das Maternidades do estudo e da Secretaria Municipal de Saúde de Arapiraca e seguiu as normas e diretrizes de pesquisa com seres humanos, segundo a Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, sendo aprovada a versão inicial sob Parecer CEP/UFAL nº 3.009.258/2018, seguida da aprovação da versão adendo 1 sob Parecer nº 4.028.842/2019 (Anexo 3).

As puérperas foram convidadas para participarem voluntariamente da pesquisa, bem como foram informadas sobre todas as etapas da pesquisa, com a possibilidade de desistência a qualquer momento, quando lhe aprover. A aceitação do convite foi formalizada com a assinatura por parte das participantes e dos pesquisadores do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para maiores de 18 anos (Apêndice 1) em duas vias e, quando necessário, a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para os responsáveis por menores de 18 anos (Apêndice 2) e do Termo de Assentimento Livre e Esclarecido para menores de 18 anos (Apêndice 3).

A confidencialidade dos participantes da pesquisa está e será mantida, e em nenhum momento, ou por quaisquer meios, existirá a possibilidade de divulgação pública dos resultados de modo a permitir a identificação dos mesmos.