



INMA 14-16 YEARS

PROTOCOLO DE SEGUIMIENTO

Contenido

1. Introducción	4
1.1 Objetivos	5
2. Metodología	6
2.1 Perspectiva general	6
2.2 Organización del trabajo de campo	8
2.3 Documentación para los voluntarios y sus familias	11
2.3.1 Cuestionarios Padres	11
A. Entrevista telefónica	11
B. Cuestionarios padres General	11
C. CBCL	12
2.3.2. Cuestionarios Adolescentes	12
A. Cuestionario adolescente General	12
B. Cuestionario frecuencia alimentaria	12
C. Cuestionario Expo Enfants	12
D. Cuestionario sobre el desarrollo Puberal	13
2.4. Exploración clínica	13
2.5 Pruebas de neurodesarrollo	14
2.6 Factores psicosociales	14
2.7 Actividad física y patrones de sueño con GENEActiv	15
2.8 Diario del sueño y actividad física	15
2.9 Otros dispositivos para Adoloescntes (ATHLETE)	15
2.9.1 Dispositivo Smartphone	15
2.9.2. Dispositivo Actigraph	16
2.9.3. Tubos para determinación de NO2	16
3. Poder estadístico	16
4. Cuestiones éticas	16
4.1 Consentimiento informado	17
4.2 Almacenamiento de los datos	17
4.3. Recogida de muestras biológicas al finalizar los 8 días de semana de monitorización (Instituto o Domicilio)	19
4.3.1 Muestras de orina	19
4.3.2 Muestras de heces	20

4.3.3 Muestras de pelo	20
4.3.4 Muestras de sangre	20
5. Anexos, qué contiene cada uno de ellos	20
5.1. Anexo 1. Consentimientos informados para padres y adolescentes	20
5.2. Anexo 2. Cuestionario Padres/familia	20
5.3. Anexo 3. Cuestionario Adolescente	21
5.4. Anexo 4: Protocolo para examen clínico y Formularios de registros de la visita clínica para el Trabajador de Campo	21
5.5. Anexo 5: Dispositivos electrónicos usados en la visita (INMA y ATHLETE) y Formularios de Registro para los Trabajadores de Campo y Instrucciones para los voluntarios.	21
5.6. Anexo 6. Protocolo Recogida muestras biológicas, procesamiento en el laboratorio y Formularios asociados	21
Colaboradores y patrocinadores	22

1. Introducción

El estudio de cohorte de nacimiento **INMA-Sabadell** se inició el año 2004. Se invitó a participar en el estudio a todas aquellas mujeres atendidas en el CAP II Sant Fèlix de Sabadell entre Julio de 2004 y Julio de 2006, que se encontrasen entre la 4ª y la 6ª semana de gestación y que tuvieran la intención de dar a luz en el Hospital de Sabadell. Los criterios de inclusión fueron los siguientes: tener 16 años o más; que se tratase de un embarazo único; no haber seguido ningún programa de reproducción asistida y no padecer ninguna enfermedad crónica en el momento de la concepción. Un total de 657 mujeres fueron incluidas en el estudio a las cuales se les realizó un seguimiento cada trimestre del embarazo hasta el momento de dar a luz. Además, un total de 150 mujeres y sus recién nacidos fueron reclutados en el momento del parto (estudio NewGeneris). Posteriormente, los niños y niñas han sido evaluados en diferentes edades (6 y 18 meses, 2,5, 4, 7, 9-10 y 11-12 años) (Figura 1). En el seguimiento anterior, 11-12 años, participaron en el estudio un total de 512 familias y, se espera que la participación en este próximo seguimiento (14-16 años) sea de alrededor de 500 participantes.

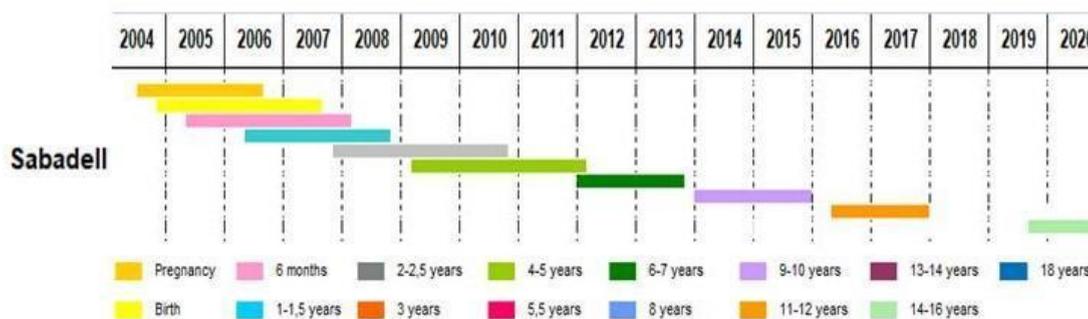


Figura 1

Esquema de los diferentes seguimientos del cohorte INMA-Sabadell.

El seguimiento, que se iniciará en Septiembre de 2020, será llevado a cabo como parte de los siguientes proyectos:

- **OBERON** (Una estrategia integradora de sistemas de prueba para la identificación de disruptores endocrinos relacionados con trastornos metabólicos)
- **UrbaMet** (Entorno Urbano y Salud Cardiometaabólica desde el Nacimiento hasta la Adolescencia)
- **INMA-Ado-Respi** (Efecto de la exposición a múltiples disruptores endocrinos sobre la función pulmonar y el asma desde la infancia hasta la adolescencia).
- **INMA-Ado-Microbiota** (Relación entre la exposición a disruptores endocrinos, microbiota y neurodesarrollo hasta la adolescencia)
- **INMA-Ado-Sueño**: (Campos electromagnéticos de radiofrecuencia, ruido y trastornos del sueño en la adolescencia)
- **OMEGA_Brain** (Ácidos grasos, polución atmosférica y desarrollo neuropsicológico)
- **ENDOLUNG** (Disruptores endocrinos y función pulmonar y asma a lo largo de la infancia)

- **ANSES ELFES** (Estudio longitudinal sobre los posibles efectos de las radiofrecuencias en los trastornos del sueño en niños)
- **ATHLETE** (The Exposome from Evidence to Translation)

1.1 Objetivos

Los principales objetivos del nuevo seguimiento son:

- Evaluar el efecto de la exposición de múltiples disruptores endocrinos sobre la salud cardio-metabólica y respiratoria hasta la adolescencia.
- Evaluar la relación entre la exposición a disruptores endocrinos, la microbiota y el neurodesarrollo hasta la adolescencia.
- Evaluar la asociación entre la exposición a campos de frecuencia electromagnética y ruido ambiental con los trastornos del sueño en la adolescencia.
- Conocer cómo el entorno urbano afecta a la salud cardio metabólica desde la infancia hasta la adolescencia.
- Evaluar de forma sistemática los efectos de una amplia gama de factores de riesgo ambientales a nivel comunitario e individual (conocido como el exposoma) sobre la salud mental, cardio metabólica y respiratoria, así como los mecanismos biológicos asociados, durante las primeras 2 décadas de vida.

En este listado se encuentran detallados los objetivos específicos de los diferentes estudios para el próximo seguimiento:

- 1) Caracterizar la exposición a diferentes disruptores endocrinos en adolescentes teniendo en cuenta el sexo.
- 2) Estudiar la posible asociación entre la exposición pre y postnatal a disruptores endocrinos y los efectos sobre la salud cardiometabólica, la función pulmonar, el asma y el neurodesarrollo hasta la adolescencia.
- 3) Realizar una evaluación exhaustiva de los efectos metabólicos incluyendo análisis de perfiles lipídicos, de enzimas hepáticas, glucosa e insulina.
- 4) Desarrollar un modelo predictivo que permita agrupar a los disruptores endocrinos según sus modos de acción ligados a la salud respiratoria.
- 5) Describir las trayectorias de función pulmonar y los fenotipos de asma (alérgico/no alérgico) en la adolescencia, a través de cuestionarios, espirometría y la prueba broncodilatadora.
- 6) Caracterizar la composición, diversidad, dinámica temporal y capacidades funcionales de la microbiota intestinal, evaluada en la preadolescencia y adolescencia.
- 7) Examinar si la exposición prenatal individual o simultánea a una amplia gama de disruptores endocrinos afecta a la microbiota placentaria y/o intestinal evaluada en la preadolescencia y adolescencia.
- 8) Estudiar si el efecto estimado de la exposición a disruptores endocrinos sobre el neurodesarrollo se debe, en parte, a una alteración de la microbiota placentaria y/o intestinal (posible mediación).
- 9) Estudiar la asociación entre los campos electromagnéticos de radiofrecuencia, el ruido y los trastornos del sueño en adolescentes.

- 10) Caracterizar la exposición total a campos electromagnéticos de radiofrecuencia y el uso de los dispositivos inalámbricos de telecomunicación en diferentes ventanas temporales relevantes para el sueño.
- 11) Caracterizar la exposición residencial al ruido en diferentes ventanas temporales relevantes para el sueño y analizar los trastornos del sueño derivados.
- 12) Estudiar la asociación entre la exposición total a campos electromagnéticos de radiofrecuencia en diferentes ventanas temporales y trastornos del sueño.
- 13) Separar la contribución de la exposición a campos electromagnéticos de radiofrecuencia de los dispositivos inalámbricos de telecomunicación del uso de los mismos en su relación con los trastornos del sueño.
- 14) Evaluar el papel de los trastornos de conducta y el deterioro cognitivo en las asociaciones estudiadas.
- 15) Medir los fenotipos cardiometabólicos en adolescentes a los 14-15 años de edad y crear trayectorias cardiometabólicas desde el nacimiento hasta la adolescencia;
- 16) Evaluar los efectos del entorno urbano (entorno construido, espacios verdes, entorno social y entorno alimentario) sobre los fenotipos y las trayectorias cardiometabólicas.
- 17) Evaluar el papel mediador de los estilos de vida y el comportamiento (actividad física, dieta, sueño y formas de desplazamiento) y las exposiciones ambientales (contaminación ambiental y ruido) en la asociación entre el entorno urbano y los fenotipos y las trayectorias cardiometabólicas;
- 18) Evaluar el papel del estrés como mecanismo biológico en la asociación entre el entorno urbano y los fenotipos y las trayectorias cardiometabólicas.

2. Metodología

2.1 Perspectiva general

Todas y todos los participantes que vivan en el área de estudio (Sabadell y sus extrarradios) puedan ser localizados y acepten participar serán incluidos en el próximo seguimiento de INMA-Sabadell. No se aplicará ningún criterio de exclusión.

El conjunto del próximo seguimiento contiene (se indica entre paréntesis si es un “mínimo” INMA o “opcional”; en este último caso se indica el proyecto al cual está asociado):

- Cuestionarios:
 - Familia (Madre y/o padre y/o tutor/a sobre él/ella y sobre el/la hijo/a: casa, economía familiar (mínimo) - 45 minutos. Incluye cuestionario CBCL (10-15 minutos). Versión papel y/o aplicativo
 - Adolescente (varios cuestionarios: general, pubertad, FFA y Expo Enfants) Versión papel y/o aplicativo online- 45-60'
- Corta entrevista, por teléfono a uno de los padres sobre el historial de residencia (2 minutos) (mínimo)
- Exploración clínica del adolescente:
 - medidas antropométricas (mínimo)

- bioimpedancia (mínimo)
- presión arterial (mínimo)
- espirometría (mínimo)
- test de neurodesarrollo (N-back, Cups Task y Raven) (45-50 minutos) (mínimo)
- Determinación de la velocidad de ondas del pulso (opcional - Urbamet)
- Fotografía de la retina (opcional - ANSES)

- Recogida de muestras biológicas:
 - pelo del adolescente durante la visita clínica (mínimo)
 - orina (12 muestras de los 6 días previos a la extracción sangre MAÑANA Y NOCHE) (mínimo)
 - heces para INMA (1 muestra en 1 tubo de recogida) para ATHLETE (1 muestra en 2 tubos de recogida) el día ANTEPENÚLTIMO a la visita (opcional INMA-Ado-Microbiota y ATHLETE)
 - Sangre en ayunas, 8 días después de empezar la semana de monitorización (opcional - OBERON y ATHLETE)

- Determinaciones en casa/adolescente:
 - Recogida de información objetiva sobre el sueño y actividad física utilizando el GeneActiv y complementada con el diario de sueño que los/las adolescentes deberán rellenar durante la semana de monitorización antes de la recogida de muestras biológicas y dispositivos – 8 días (opcional - INMA-Ado-Sueño y ANSES ELFES)
 - Determinación de NO₂ con un medidor personal en la mochila del adolescente durante la semana de monitorización. Si rehusa llevarlo consigo, ponerlo en el comedor (opcional - ATHLETE)
 - Determinación y comprobación de la actividad física del adolescente a través de la aplicación ExpoApp3 en un dispositivo móvil durante los 8 días de monitorización (opcional - ATHLETE) y en una submuestra de voluntarios a través del Dispositivo Actigraph (opcional - ATHLETE)

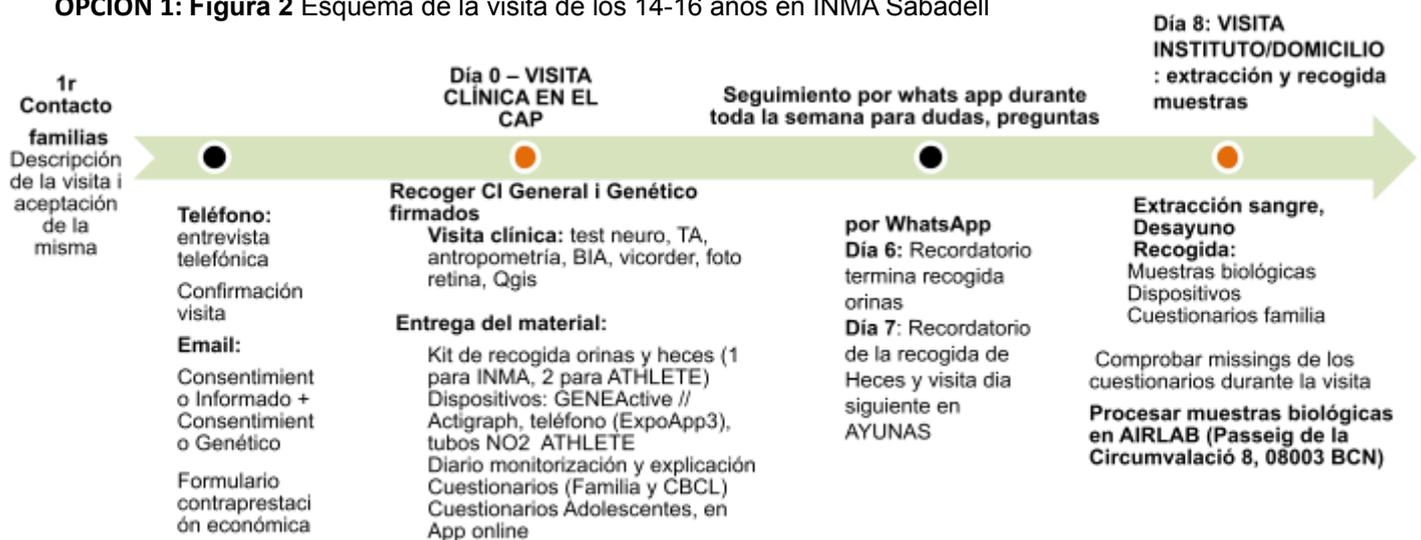
- Ruta con el software qGIS (online)
 - recogida de información sobre las rutas de ida y vuelta que hace el voluntario para ir de su domicilio al Centro Educativo y los puntos localizados dónde está más de 2 horas a la semana (opcional) Duración en la visita: 15-20'

Los tiempos proporcionados arriba son estimaciones. Los/las adolescentes serán evaluados en el CAP o Centro de Salud para la visita clínica y en sus respectivos institutos, en su domicilio o en el centro de salud (CAP), para la extracción de sangre en ayunas siempre que sea posible y bajo la supervisión de una enfermera/ trabajador de campo cualificado.

La participación en el estudio no comportará ningún tipo de coste para las familias.

2.2 Organización del trabajo de campo

OPCIÓN 1: Figura 2 Esquema de la visita de los 14-16 años en INMA Sabadell



OPCIÓN 2: Figura 3 Esquema de la visita de los 14-16 años en INMA Sabadell

TODO EN UNA SOLA VISITA



Antes de la visita:

- Se realizará una llamada a las familias con el objetivo de establecer el primer contacto e informarles sobre el nuevo seguimiento de INMA correspondiente a los 14-16 años. Se enviarán por email el Formulario de Compensación Económica (Anexo 1d) y los consentimientos informados General y Genético (Anexo 1a y 1b/1c). En caso que algunas familias expresen dificultades para imprimir el consentimiento informado y los demás documentos existen varias opciones: se les puede hacer llegar por correo convencional o llevarlo directamente al instituto o a su domicilio para que lo tengan con anterioridad al día de la visita o firmarlo in situ en el mismo lugar de la visita clínica por los tutores y por el adolescente. Se deberá contactar con las familias para poder explicar la visita con detalle y buscar la complicidad de los padres y del adolescente. Se les remarca que: la 1ª visita es en el CAP y la 2ª (a ser posible) en el Instituto o en el Domicilio, aunque si existe dificultad para programar la visita, se le puede ofrecer la Opción 2 (enviar material por mensajería) y visita clínica en el CAP..
- Necesitamos una semana de monitorización (8 días) con orinas, dispositivos, muestra/s de heces y un diario de monitorización.
- El análisis (muy importante) será en ayunas.
- Preguntar a los padres/tutores si hay posibilidad de contactar con los voluntarios directamente por WhatsApp. En el caso que los tutores no dieran autorización, se debe contactar siempre a través de ellos.

El día antes de la visita:

Se deberá contactar con las familias el día antes para confirmar la visita del día siguiente y **realizar un pequeño cuestionario** (e historial de residencia) (ver apartado **Anexo 2a_Cuestionario_telefonico(CAST)**) y recordarles que:

El día de la visita en el CAP: recogida de los consentimientos informados (Consentimiento General, Consentimiento del Adolescente y Consentimiento Genético) junto con el formulario de Contraprestación Económica. Comprobar que estén firmados y correctamente completados (DNI y firma).

- 1) **Explicación al adolescente de qué consistirá la visita.**
- 2) **LA VISITA:** El adolescente deberá venir con ROPA CÓMODA. La visita clínica tendrá una duración aproximada de 2 horas. Se puede realizar tanto por la mañana como por la tarde.
 - Test de neurodesarrollo completados por el/ la adolescente (ver apartado 2.5)
 - Exploración clínica. La exploración va a incluir las siguientes pruebas: pruebas neurológicas, medidas antropométricas, determinación de la bioimpedancia, determinación de la velocidad de las ondas de pulso, fotografía ocular, determinación de la presión arterial y una prueba de espirometría*.

- Ruta qGIS
- Recogida muestra de pelo
- Recogida de los aparatos: GeneActiv (para todos) y en caso de voluntario ATHLETE además tubos N02, Actigraph y Smartphone/ ExpoApp3
- Análisis de sangre en el Instituto, en el domicilio, en el CAP coincidiendo con el día 8 de empezar la semana de monitorización.

***Es importante que la espirometría se realice después de medir la presión arterial para que no interfiera en los resultados. La distribución del tiempo de la visita es flexible. OBSERVACIÓN, EN EL PERÍODO COVID19 NO SE REALIZA ESPIROMETRÍA.**

3) Después de la visita se les hará entrega y explicación de:

- Doce recipientes para recoger las muestras de orina y una nevera de transporte con un acumulador de frío para mantener la temperatura de las muestras durante el traslado del domicilio al CAP o al Instituto. Además, se les hará entrega de las instrucciones de recogida y el **diario semanal de monitorización Anexo 5d. Diario_semanal_INMA_(CAST)** que los/las adolescentes tendrán que rellenar cada día al levantarse y al acostarse, junto con una detallada explicación de cómo se debe rellenar este diario (ver apartado 2.8).
- Recipiente(s) para la muestra de heces, instrucciones y el cuestionario correspondiente (**Anexo 5d. Diario_semanal_INMA_(CAST)**)
- **El acelerómetro GENEActiv** que tendrán que llevar en su muñeca durante los 8 días para medir la actividad física y los patrones de sueño (ver apartado 2.7). **El dispositivo Actigraph y el móvil Smartphone con el aplicativo ExpoApp3** e instrucciones de cómo deben colocarlo en el cinturón elástico desde el día 1 de su semana de monitorización (ATHLETE)
- **El tubo de NO2** que tendrán que llevar colgado en la mochila durante una semana (medidas Outdoor ATHLETE) o en su defecto (si el voluntario se niega a llevarlo) dejarlo en el comedor del domicilio (medidas Indoor)
- Los cuestionarios **CBCL** y el **General** para la familia imprimidos en papel en el caso que no se respondan a través de una aplicación que se puede enviar con un link a los padres..
- **NOTA IMPORTANTE:** en caso que se escoja la OPCIÓN 2, después que el voluntario reciba en su casa el paquete con el kit de monitorización, un trabajador de campo deberá llamarle a través de una videollamada, para explicarle el funcionamiento de los dispositivos, la recogida de muestras biológicas y su aceptación en la extracción de sangre y la visita clínica.

Los trabajadores de campo estarán en contacto durante la semana de monitorización con los adolescentes vía WhatsApp por si tienen dudas, problemas con los dispositivos y/o muestras biológicas y **ENTRE 1 Y 3 DÍAS ANTES DE LA EXTRACCIÓN DE SANGRE**, se les recordará que para el día de la visita clínica deben traer:

- Los cuestionarios completados (en papel o aplicación).
- **Las muestras de orina** (2 de cada día, mañana y noche, durante 6 días) y el día y la hora de su recogida.

- La/s **muestra/s de heces** y la carta de Bristol rellena
- El **acelerómetro GENEActiv** y el **diario de sueño** completado de toda la semana de monitorización.
- El **Actigraph** y el **móvil ExpoApp3** si han aceptado llevarlo (ATHLETE)
- El **tubo** para medición de **NO2** (ATHLETE)
- El/la adolescente deberá venir **en AYUNAS** de al menos 8 horas, para realizar la extracción de sangre.

El día de la extracción de sangre (V+8):

- 1) Las enfermeras deberán recoger las muestras de orina y de heces, y comprobar que los cuestionarios estén completados. Así como conservar la cadena de frío hasta el procesamiento de las muestras.
- 2) Recoger todos los **dispositivos** (GeneActiv, Actigraph, Smartphone y tubo NO2) **que se le hayan entregado al voluntario y el diario completado.**
- 3) Extracción de sangre (ver **Anexo 6a_SOP_Muestras biológicas**) ya sea en el Instituto, en el domicilio o en el CAP.
- 4) En el caso que la extracción de sangre se realice en el Instituto, deberá hacerse de manera individual para darle la máxima atención posible al voluntario/a. Después de la extracción se dejarán 15 minutos para que los/las adolescentes puedan desayunar e ir al baño.
- 5) Procesamiento de las muestras de sangre, orina y heces en el laboratorio de **AIRLAB, Psg de la Circumval·lació 8, 08003 (Barcelona)**. La muestra de sangre no debe superar las 6 horas entre la extracción y su procesamiento. La muestra de heces debe mantenerse congelada en todo momento.

2.3 Documentación para los voluntarios y sus familias

Se les hará entrega a las familias de un total de 2 cuestionarios en papel (padres) y un total de 4 (adolescentes) el día de la visita en el CAP en papel o mediante una aplicación, que tendrán que ser completados en casa. Dichos cuestionarios, en caso de ser en formato papel, se deberán entregar rellenos el día de la extracción de sangre al trabajador de campo y en caso de ser mediante aplicación, deberán estar completados como tarde, el día de la extracción de sangre.

2.3.1. Cuestionario Padres:

A) Entrevista por teléfono con las familias (versión papel y aplicativo) Anexo 2a_Cuestionario_telefonico(CAST).doc

Las enfermeras realizarán un pequeño cuestionario telefónico (2 minutos) el día del primer contacto con la familia.. Puede ser contestado tanto por la madre como por el padre o el tutor/a legal del adolescente. El cuestionario incluye preguntas sobre:

- Historial de domicilio de la familia (desde el anterior seguimiento);
- Aceptación para la comunicación con el adolescente vía WhatsApp

B) Cuestionario Padres General (versión papel y aplicativo) Anexo 2b_Cuestionario_General_PADRES_14-16a(CAST).doc

En este caso, el cuestionario puede ser completado tanto por el padre, la madre o tutor/a legal del/de la chico/a pero se recomienda que sea la persona que convive mayoritariamente con el adolescente. Tiene una duración de aproximadamente unos 40-45 minutos e incluye preguntas sobre los siguientes campos:

- Información general
- Información sobre el chico / la chica
- Enfermedades crónicas
- Asma y alergias
- Uso de medicamentos
- Hábitos de sueño
- Actividad física
- Información sobre los padres:
 - Sobre la madre del adolescente: Estado civil y trabajo, sentimientos, historial familiar y propio de enfermedades crónicas, estilo de vida, peso.
 - Sobre el padre: Estado civil y trabajo, Antecedentes cardio-metabólicos, Estilo de vida, Peso
- Economía familiar
- Características de la vivienda

Se utilizarán las versiones en validadas de los cuestionarios en castellano.

C) Cuestionario CBCL para padres (Problemas conductuales y emocionales del niño) (versión papel y aplicativo) Anexo 2c. CBCL (CAST)

El/la adolescente deberá completar los cuestionarios divididos en diferentes bloques.

2.3.2. Cuestionarios adolescentes:

A) Cuestionario General (versión papel y aplicativo) Anexo 3a_Cuestionario_GENERAL_Adolescente (CAST)

Incluye preguntas sobre el estado de salud y bienestar general, actividad física y sedentaria, hábitos de dieta, entorno alimentario, estudios y trabajo y relación con la comunidad sobre el acceso a espacios verdes, los hábitos de sueño, la relación personal que mantiene con los padres y el consumo de tabaco. (45-50 minutos)

Se recomienda ayudar a los voluntarios en aquellas preguntas de difícil resolución (espacios verdes o tiempo al aire libre) si el cuestionario se completa en versión papel o darles pautas para poder preguntar a los trabajadores de campo en el caso que se les mande en aplicativo.

B) Cuestionario frecuencia alimentaria (versión papel y aplicativo) Anexo 3b_

FFA_adolescente (CAST)

Incluye preguntas sobre la frecuencia de consumo de los alimentos del participante. (15-20 minutos)

C) Cuestionario Expo Enfants (versión aplicativo) Anexo 3c_ Cuestionario_EXPOENFANTS(CAT)

Incluye preguntas sobre la exposición a radiación electromagnética y el uso de distintos dispositivos móviles y nuevas tecnologías. (15 minutos)

D) Cuestionario sobre el desarrollo puberal (versión papel y aplicativo) Anexo

3d_Cuestionario_Pubertad(CAST)

Incluye preguntas sobre maduración puberal y desarrollo de los órganos sexuales, así como preguntas sobre la menstruación en chicas. (3 minutos)

2.4 Exploración clínica

La exploración clínica tendrá lugar en el CAP. Se realizará en la consulta médica y bajo la supervisión de un trabajador de campo/ enfermera formada y completamente capacitada (mirar Anexo 4_SOP visita clínica y formularios para los protocolos de todas las determinaciones).

La exploración clínica va a incluir en el siguiente orden:

Posición sentada:

- Pruebas de neurología (40-45')
- Relajarse en posición sentada (5')
- Tensión Arterial (6')
- Fotografía ocular (5')
- Se pide permiso, explicación y recogida de pelo

De pie:

- Sacarse la ropa que pese jersey, pantalones/falda) y zapatos (2')
- Medidas antropométricas (5')

Posición decúbito supino:

- Relajarse en posición decúbito supino (5')
- Bioimpedancia (2')
- Determinar la Velocidad de ondas de pulso (10')

Vestirse de nuevo (1')

Posición sentada:

- Ruta domicilio-Instituto a través del aplicativo qGIS (10-20')
- Se puede hacer una parte de los cuestionarios del adolescente (pubertad, FFA, Expo Enfants o Cuestionario General) según el tiempo que se dedique a la visita

Por motivos Covid, acompañamos a otra sala/ consulta, Posición sentada:

- Espirometría (10')

Toda la exploración clínica será realizada por enfermeras formadas y entrenadas y los resultados se recogerán en la hoja de resultados de la exploración clínica (Anexo 6_SOP muestras y formularios de registro visita y laboratorio).

2.5 Pruebas neurodesarrollo

Se evaluarán una variedad de resultados neuroconductuales que incluyen varios dominios funcionales y fenotipos clínicos sensibles a las exposiciones ambientales (ver Figura 1). Estos resultados se evaluarán a partir del uso de pruebas y cuestionarios estandarizados internacionalmente.

Las pruebas de neurodesarrollo se realizarán durante la visita clínica, en un espacio adecuado (consultar Anexo 4a_SOP_visita_clinica_14-16a) tranquilo y con las mínimas interrupciones posibles. Asimismo, se utilizarán auriculares con tal de reducir el posible ruido ambiental.

Los/las adolescentes realizarán las pruebas utilizando portátiles y acompañados siempre de un/a técnico que, antes de empezar cada prueba, les realizará una breve explicación estándar. Al empezar cada prueba, se deberán seguir las instrucciones del software correspondiente y, al finalizar cada prueba, los datos se guardarán automáticamente en los ordenadores. Diariamente se realizará una copia de seguridad en un disco duro externo. Los trabajadores de campo recogerán y apuntarán en la hoja de recogida de los datos de la exploración clínica las condiciones en las que se realizarán las pruebas (temperatura, tiempo, ruido...) Ver Anexo 4c_Registro_neuro_14-16a(CAST)

Se evaluarán los tres principales dominios funcionales de los/las adolescentes mediante 3 pruebas utilizando un ordenador (tiempo aproximado 45-50 minutos):

1. **Memoria de trabajo:**
 - Prueba N-BACK (prueba con ordenador) (8-10 minutos).
2. **Función ejecutiva caliente:** la cognición caliente utiliza la influencia emocional en la toma de decisiones.
 - Cups Task (Roulette Version) (prueba con ordenador) (8-10 minutos)
3. **Razonamiento visual:** como un indicador del rendimiento perceptivo del cociente intelectual.
 - Raven's Coloured Progressive Matrices Test (prueba en ordenador) (máximo 30 minutos).

2.6 Factores psicosociales

Nuestra hipótesis se basa en que la exposición a factores causantes de estrés psicosocial durante los primeros años de vida puede conllevar un aumento de los marcadores inflamatorios y, por consiguiente, inducir cambios subclínicos en los fenotipos de función cardiovascular. En consecuencia, estos factores pueden jugar un papel clínicamente relevante en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares a lo largo de la vida, de forma

independiente y/o interactuando con otras exposiciones que inducen los mismos efectos (ej. $PM_{2.5}$) (Figura 3).

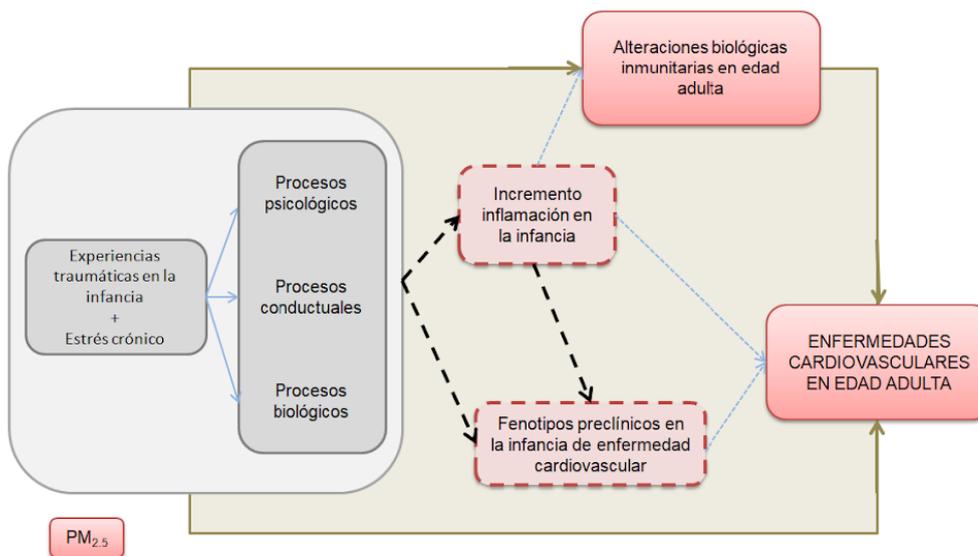


Figura 3: Exposición a factores estresantes durante la infancia y enfermedades cardiovasculares. Modelo conceptual con las posibles vías comunes entre el estrés psicosocial y contaminantes (en este caso $PM_{2.5}$). Las flechas negras representan la hipótesis que queremos verificar (Modificado de *Slopen et al. 2012*)

El objetivo es determinar la exposición a diferentes factores psicosociales utilizando cuestionarios validados que deberán completar los tutores para luego estimar una puntuación de estrés acumulado. También se recogerá una muestra del pelo para determinar los niveles de cortisol. Se trata de un método relativamente barato, innovador y no invasivo para evaluar la respuesta fisiológica al estrés crónico (de semanas a meses), en consecuencia, apropiado para la investigación epidemiológica.

2.7 Actividad física y patrones de sueño con GENEActiv

Se trata de un reloj de muñeca, resistente al agua, que recoge información objetiva sobre el sueño y datos sobre la actividad física (Anexo 5a). En una submuestra de voluntarios (parte the ATHLETE) se realizará la validación de la actividad física mediante un Actigraph.

2.8 Diario del sueño y actividad física

Durante los 8 días de la semana de monitorización, los/las adolescentes tendrán que completar el diario del sueño y actividad física diariamente, contestando el cuestionario correspondiente por la mañana al despertarse y antes de ir a dormir (Anexo 5d)

2.9 Otros dispositivos para adolescentes (ATHLETE) [Anexo 5_SOP_dispositivos electronicos_registros_14-16a](#)

2.9.1. Dispositivo Smartphone/ExpoApp3 ([Anexo 5c_SOP_App_ExpoApp3_ATHLETE\(ENG\)](#)), E

Es una aplicación para Smartphones, diseñada para obtener la geolocalización del voluntario y su actividad física. La información obtenida por ExpoApp3 ayudará a generar datos del entorno construido (por ejemplo, contaminación del aire, espacios verdes). La ExpoApp3 se instalará en un móvil de ISGlobal, el cuál se colocará en un cinturón elástico para que los adolescentes lo puedan llevar cómodamente durante el día, durante los 8 días que dura la semana de monitorización.

2.9.2. Dispositivo Actigraph, Anexo 5a. SOP_dispositivos electronicos_registros_14-16a

Uno de los objetivos del estudio ATHLETE es medir los niveles de actividad física personal de los participantes mediante el uso del wGT3X-BT.. Estos dispositivos proporcionan mediciones objetivas de la actividad física humana y se utilizan en muchos entornos clínicos y de investigación.

2.9.3. Tubos NO2. Anexo 5a. SOP_dispositivos electronicos_registros_14-16a

Se utilizarán para medir la exposición personal al NO₂. El tubo de difusión de se colocará en la parte exterior de la mochila del adolescente. En caso de que el adolescente no quiera llevar el tubo difusor en la mochila, puede colocarse en el comedor. Para comparar las medidas personales y las de interior, dé dos tubos a una submuestra de niños (1 de cada 6 niños): se debe colocar un tubo en la mochila y otra en el comedor durante toda la semana de monitorización.

3. Poder estadístico

Con tal de mejorar el poder estadístico del estudio, la mayoría de outcomes serán analizados de forma continua en vez de categórica. Teniendo en cuenta el tamaño muestral (N=512), obtendríamos un 80% de poder estadístico para detectar un incremento del 0.3 en el z-score (media 1, SD 1.5).

4. Cuestiones éticas

Cuestiones éticas y riesgos para la salud en el presente estudio:

- a) Al requerir la participación de sujetos menores de edad, de acuerdo con la Ley Española de Investigación Biomédica, el consentimiento tendrá que ser concedido por los padres o tutores legales. Sin embargo, se pedirá que sea firmado a su vez por los adolescentes con el objetivo de involucrarlos en el estudio y asumiendo que tienen una edad suficiente como para expresar la opinión de no querer participar en él;
- b) Recogida de información sobre dieta y otros hábitos;
- c) Cuestionarios para recoger información sobre factores psicosociales;
- d) Recogida de muestras biológicas indoloras: un mechón de pelo, una muestra de heces en 1 ó 2 tubos de recolección y 12 muestras de orina. Son técnicas no invasivas y no presentan ningún riesgo para la salud.

- e) Extracción de sangre (18mL). Se recoge siempre el mínimo necesario y es realizada en su totalidad por una enfermera completamente capacitada y formada.

4.1 Consentimiento informado (Anexo 1)

Los consentimientos informados (General Anexo_1b.Consentimiento_general_INMA y Genético Anexo 1a_. Consentimiento_Genetic) serán solicitados antes del comienzo de la visita del nuevo seguimiento. Una vez recogidos, se guardarán en el archivo personal del sujeto y una copia de estos será entregada a cada sujeto o representante legal autorizado.

Como se propone a los voluntarios algunos dispositivos opcionales para ATHLETE, existe un Consentimiento General Anex 1c.Consentimiento_general_ATHLETE que especifica cada uno de los dispositivos que se le ofrecen al adolescente.

Las muestras de pelo, heces, orina y sangre pueden ser destruidas en caso de que el representante legal autorizado haga una petición conforme no quiere que se utilicen las muestras biológicas para futuras investigaciones posteriores a este estudio. Las muestras serán destruidas de la forma apropiada después del tiempo determinado.

Los representantes legales autorizados del sujeto de estudio tendrán siempre la opción de cambiar de opinión y retirarse del estudio en cualquier momento a lo largo del transcurso de éste y sea cual sea la razón, sin ser, en ningún caso, penalizados ni perder beneficios. En la hoja informativa del consentimiento informado se encuentra información detallada sobre la posibilidad de que los participantes del estudio soliciten la eliminación de los datos codificados.

4.2 Almacenamiento de los datos

Se implementarán las medidas adecuadas para garantizar la protección y confidencialidad de los datos personales, de conformidad con el Reglamento (UE) 2016/679 sobre la Protección de las Personas Físicas con Respecto al Procesamiento de Datos Personales y sobre la Libre Circulación de Dichos Datos, y la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y Garantía de los Derechos Digitales. Las normas nacionales sobre protección de datos personales se implementarán para garantizar los más altos estándares en la gestión de datos personales.

Los siguientes principios se aplicarán al procesar datos personales: legalidad, imparcialidad y transparencia; limitación del propósito de tratamiento; minimización de datos (se obtendrán los datos necesarios y proporcionados para el objetivo de investigación); exactitud; limitación de almacenamiento e integridad y confidencialidad.

Procedimientos generales que se incluirán en el protocolo de investigación para salvaguardar la privacidad de los sujetos del estudio:

- Se obtendrá el consentimiento por escrito de todos los participantes en el estudio para utilizar sus datos personales. Los formularios de consentimiento incluyen una cláusula específica sobre protección de

datos personales que informa a los participantes del estudio sobre cómo se tratarán y almacenarán sus datos, el propósito de la investigación, el contacto de DPO y sus derechos.

- La pseudonimización se implementará como un estándar general, lo que significa que todo el material obtenido en el marco del proyecto se identificará a través de un código, el nombre y / u otros datos personales que permitan la identificación del participante nunca serán indicados. Este identificador único vinculará todos los datos básicos requeridos para el estudio. El archivo que vincula los números de estudio del centro con los identificadores personales se mantendrá en un archivo protegido con contraseña y con acceso limitado. Siempre que sea posible, se aplicará la anonimización de los datos.
- Todos los archivos que contienen datos personales se almacenarán en archivos cifrados y con contraseña. El acceso a estos archivos estará limitado al personal autorizado del proyecto;
- En el caso de seguimiento de participantes mediante técnicas de geolocalización, los datos de geolocalización se almacenarán por separado de los otros datos del participante (salud, etc.).
- Solo los investigadores vinculados al proyecto tendrán acceso a datos personales.
- Los datos personales no serán transferidos, excepto en los casos considerados por la ley.
- Los resultados del estudio informados se referirán a los análisis de datos agregados. Ningún nombre de persona se asociará con ningún informe publicado o no publicado de este estudio.
- Todo el personal del proyecto recibirá capacitación sobre la importancia de la confidencialidad de los registros individuales y se requerirá que firme un acuerdo de confidencialidad.

El proyecto se llevará a cabo de acuerdo con las normas legales y éticas internacionales y nacionales, incluyendo:

The Nuremberg Code (1946) addressing volunteer consent and proper acting;

The Revised Declaration of Helsinki in its last version of 2013

The convention for the protection of human rights and dignity of human being with regard to the application of biology and medicine called the "Convention on Human Rights and Biomedicine" (Council of Europe, 1997) and, the additional protocol on the prohibition of cloning human beings (1998); and its additional protocol on biomedical research (2005)

Recommendation CM/Rec (2016)6 on research on biological materials of human origin was adopted by the Committee of Ministers of the Council of Europe

The Spanish Law on Biomedical Research (14/2007, of 3rd July) which regulates biomedical research in Spain

Regulation (EU) 2016/679 of the European Parliament and of the Council of 27 April 2016 on the protection of natural persons with regard to the processing of personal data and on the free movement of such data.

The Spanish Law of Personal Data Protection and Digital Rights Guarantee (3/2018, of 5th December)

Code of practice on secondary use of medical data in scientific research projects, 2014.

UN Convention on the Rights of the Child (1990);

Opinions of the European Group on Ethics in Science and New Technologies (as from 1998).

<https://ec.europa.eu/research/ege/index.cfm?pg=reports>

Universal Declaration on the human genome and human rights adapted by UNESCO (1997);
The Royal Decree that establishes the basic requirements for the authorisation and functioning of biobanks with biomedical research purpose and for the processing of human samples and regulating the functioning and organisation of the National Register of Biobanks for Biomedical Research (1716/2011, of 18th November).

Functional Magnetic Resonance Imaging. Understanding the technique and addressing its ethical concerns with a future perspective. European Commission, 2013

The recommendations of the Ethics Dumping. Case studies from North-South research collaborations, 2018.

The New Brunswick Declaration: A Declaration on Research Ethics, Integrity and Governance resulting from the 1st Ethics Rupture Summit, Fredericton, New Brunswick, Canada (2013)

The Respect Code focused in socio-economic research (<http://www.respectproject.org>)

The Code of Ethics of the Spanish Sociological Association provides guidelines for social research, which are the same as the guidelines in the Code of Ethics of the International Sociological Association (<http://www.isa-sociology.org/en/about-isa/code-of-ethics/>).

Ten principles of Citizen Science of the European Citizen Science Association (https://ecsa.citizen-science.net/sites/default/files/ecsa_ten_principles_of_citizen_science.pdf)

ISGlobal- Campus Mar está vinculado al Comité de Ética de PS-Mar (creado y acreditado por primera vez el 11 de noviembre de 1993 por la Dirección General de Recursos de Salud del Departamento de Salud del Gobierno de Cataluña, de conformidad con la Orden del 26 de octubre de 1992. De acuerdo con la nueva legislación española, el comité ha sido acreditado como Comité de Ética en Investigación de Medicamentos en febrero de 2018). El CEIm PS-Mar evalúa todos los protocolos de investigación en humanos realizados por investigadores de ISGlobal-Campus Mar. De acuerdo con las reglamentaciones españolas, nuestro Comité de ética local hace seguimiento de la implementación del estudio dando su aprobación a todos los protocolos (incluida la Hoja de información del participante y el Formulario de consentimiento) que se desarrollen en el proyecto. Todos los investigadores de ISGlobal están regulados por el Código de Buenas Prácticas Científicas del PRBB.

4.3 Recogida de muestras biológicas al finalizar los 8 días de semana de monitorización (Instituto o Domicilio)

Los protocolos que deberán seguir los trabajadores de campo para recoger las muestras, etiquetarlas y procesarlas (pelo, sangre, orina y heces) se encuentran en el **Anexo 6 (SOP Recogida de muestras biológicas y laboratorio)**

4.3.1 Muestras de orina

Se recogerán muestras de orina para la posterior determinación de los niveles de ftalatos (disruptores endocrinos) y otras sustancias químicas. Las instrucciones para su correcta recogida, se entregarán a las

familias dentro del Diario semanal de monitorización que se les entrega a los voluntarios ([Anexo 5d_Diario_semanal_INMA](#) página 25 o [Anexo 5d_Diario_semanal_ATHLETE](#) página 27) En el caso que el adolescente no haya querido recoger ninguna muestra de orina durante la semana de monitorización, se le pedirá recoger una muestra el mismo día de la recogida del resto de material (ver [Anexo 6_SOP_Muestras biologicas](#))

4.3.2 Muestras de heces

Se recogerán muestras de heces con el objetivo de analizar la composición de la microbiota intestinal. Las instrucciones para su correcta recogida que se entregará a las familias se encuentra en el [Anexo 5d_Diario_semanal_INMA](#) página 26 o [Anexo 5d_Diario_semanal_ATHLETE](#) página 28, junto con la Carta de Bristol que se debe completar (página 18 en el Diario semanal). Un tubo de muestra para INMA y dos tubos de recogida para ATHLETE.

4.3.3 Muestras de pelo

Se recogerá mechón de pelo el día de la visita clínica. Se guardarán en una bolsa de cierre de cremallera debidamente identificados, para la posterior determinación del cortisol.

4.3.4 Muestras de sangre

Las muestras de sangre en ayunas se utilizarán para determinar los niveles de glucosa, insulina y otros metabolitos.

El protocolo para TODAS LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS (pelo, orina, sangre y heces) se encuentra en el documento [Anexo 6_SOP_Muestras biologicas](#) junto con el protocolo para su correcto transporte, procesamiento y almacenaje.

5. Anexos: qué contiene cada uno de ellos (ver documentos Anexos)

5.1. Anexo 1. Consentimientos informados para padres y adolescentes

1. Anexo 1a Consentimiento Genético
2. Anexo 1b. Consentimiento General INMA
3. Anexo 1c. Consentimiento General ATHLETE
4. Anexo 1b. Consentimiento /Formulario de compensación económica

5.2. Anexo 2. Cuestionario Padres/familia

1. Anexo 2a. Entrevista telefónica

2. Anexo 2b Cuestionario General
3. Anexo 2c. CBCL

5.3. Anexo 3. Cuestionario Adolescente

1. Anexo 3a Cuestionario General
2. Anexo 3b Cuestionario Frecuencia Alimentaria
3. Anexo 3c Cuestionario Expo Enfants sobre ondas electromagnéticas
4. Anexo 3d Cuestionario Pubertad

5.4. Anexo 4: Protocolo para examen clínico y Formularios de registros de la visita clínica para el Trabajador de Campo

1. Anexo 4a SOP para la visita clínica
2. Anexo 4b Formulario de Registro de Antropometría
3. Anexo 4c Formulario de Registro de Pruebas de neurodesarrollo
4. Anexo 4d Formulario de Registro de Espirometría
5. Anexo 4e Formulario de Registro de Carnet de Salud

5.5. Anexo 5: Dispositivos electrónicos usados en la visita (INMA y ATHLETE) y Formularios de Registro para los Trabajadores de Campo y Instrucciones para los voluntarios.

1. Anexo 5a: SOP del Estudio sueño y actividad física, y el uso del dispositivo GeneActiv.
2. Anexo 5a: SOP para otros dispositivos usados en esta visita
3. Anexo 5b: Hoja de registro y control de monitorización de los distintos dispositivos Anexo 5b_Registro_monitorizacion_INMA(CAT).docx o bien Anexo 5b_Registro_monitorizacion_ATHLETE(CAT) según el tipo de dispositivos aceptados por el voluntario
4. Anexo 5c: SOP de la Aplicación ExpoApp3 (ATHLETE)
5. Instrucciones para el participante ubicadas en Anexo 5d Diario semanal de monitorización_INMA o Anexo 5d Diario semanal de monitorización_ATHLETE según el tipo de dispositivos aceptados por el voluntario

5.6. Anexo 6. Protocolo Recogida muestras biológicas, procesamiento en el laboratorio y Formularios asociados

1. Anexo 6a: SOP muestras biológicas
2. Anexo 6b: Formulario de registro de Extracción de sangre (visita y laboratorio)
3. Anexo 6c: Formulario de registro de Orinas (semana de monitorización y laboratorio) Este formulario está incluido en el Anexo 5d. Diario_semanal_ATHLETE_(CAST) página 25-27.

Col·laboradors:



Finançadors:

Este estudio ha sido financiado por el proyecto del Instituto de Salud Carlos III FEDER, (PI16/00362)



Omega-Brain

Este estudio ha sido financiado por el proyecto del Instituto de Salud Carlos III FEDER, (PI17/01340)



INMA-Ado-Sleep

Este estudio ha sido financiado por el proyecto del Instituto de Salud Carlos III FEDER, (PI17/00662)



INMA-Ado-Microbiota

Este estudio ha sido financiado por el proyecto del Instituto de Salud Carlos III FEDER, (CP16/00120)



Endolung

Este estudio ha sido financiado por el proyecto del Instituto de Salud Carlos III FEDER, (PI17/01194)



INMA-Ado-Respi

Este estudio ha sido financiado por el proyecto del Instituto de Salud Carlos III FEDER, (PI16/00547)



URBAMET

Nº 2019/2 RF/04



ANSES-Expo-enfants

PNREST Anses, 2019/1/233



ANSES-Expo-teen

Advancing Tools for Human Early Lifecourse Exposome Research and Translation



"This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 874583"

