

**Måndag 14 mars 2016**

**”Survivor bias” och ”competing risks”: hur påverkar de dina analyser?**

**Lokal:** Jubileumsaulan, Jan Waldenströms gata 5, belägen på sjukhusområdet SUS i Malmö, nära Triangelns station, Malmö.

Tid	Ämne	Talare
12.30-13.00	Registrering och posteruppsättning (utanför Jubileumsaulan)	
13.00-13.10	Välkomna	Emily Sonestedt, Ulrika Ericson
13.10-13.40	Debatt: Observation vs. experiment	Moderator: Anna Winkvist Observation: Emily Sonestedt Experiment: Rikard Landberg
13.40-14.10	Introduktion till ”survivor bias”	Isabel Drake, Lunds universitet
14.10-14.15	Bensträckare	
14.15-15.00	Competing risks: vilka är de och hur påverkar de analyserna av din studie?	Sandra Eloranta, Karolinska institutet
15.00-15.30	Kaffe och smörgås + posterutställning	
15.30-16.15	Competings risks: exempel från Me-Can kohorten	Christel Häggström, Umeå universitet
16.15-16.20	Bensträckare	
16.20-17.00	Doktorandpresentation: Statistiska metoder för att undersöka etiologisk heterogenitet – exempel-applikation på molekylära subtyper av kolorektalcancer	Robin Myte, doktorand, Umeå universitet Diskutant: Pär-Ola Bendahl, Lunds universitet
<b>Incheckning på Teaterhotellet, Fersens väg 20 (<a href="http://www.teaterhotellet.se">www.teaterhotellet.se</a>)</b>		
18.15	Skåneguiden ger oss en guidad tur från hotellet till Rådhuset	
19.30	Middag på Rådhuset med Malmö stad som värd	

## Opportunities for microbiome research in epidemiological studies (organized together with EpiHealth)

Lokal: Jubileumsaulan, Jan Waldenströms gata 5, belägen på sjukhusområdet SUS i Malmö, nära Triangelns station, Malmö.

8.00-8.30	Coffee and registration	
8.30-8.40	Welcome	Emily Sonestedt, Assoc. professor, Lund University, Sweden
8.40-9.00	Guidelines for reporting of nutritional epidemiology (STROBE-nut)	Elisabet Wirfält, Professor, Lund University, Sweden
9.00-9.45	Introduction to microbiota	Petia Kovatcheva-Datchary, PhD, University of Gothenburg, Sweden
09.45-10.15	Coffee and sandwich	
10.15-11.00	PhD presentation: Diet and gut microbiota in the Malmö Offspring Study	Louise Brunkwall, PhD student, MPH, Lund University, Sweden Discussion leader: Johanna Lampe
11.00-11.45	Diet-microbiota-health interactions in older persons: the ELDERMET study	Paul O'Toole, Professor, University College Cork, Ireland
11.45-12.45	Lunch (included)	
12.45-13.30	Diet-gut microbiome interactions in humans: effects on exposure to plant bioactives	Johanna Lampe, Professor, University of Washington, Seattle, USA
13.30-14.15	Gut microbiota development during infancy	Tine Rask Licht, Professor, National Food Institute, Technical University of Denmark
14.15-14.45	Coffee and cake	
14.45-15.45	Discussion/debate	Moderator: Marju Orho-Melander, Professor, Lund University, Sweden



NEON: The Network in  
Epidemiology and Nutrition



## Introduktion till överlevnadsbias (survivor bias)

**Isabel Drake** MSc, MPH, PhD

*Diabetes och kardiovaskulär sjukdom – genetisk epidemiologi*  
*Institutionen för Kliniska Vetenskaper i Malmö, Lunds universitet*

Selektionsbias är ett välkänt begrepp inom epidemiologi och påverkar tillförlitligheten av våra studier. Selektionsbias uppstår när urvalet av försökspersoner/deltagare i en studie har ett samband med de variabler man mäter. Valet av studiebias bestäms både vid rekryteringen av deltagare samt under processen att behålla dem i studien. Överlevnadsbias ("survivor bias") kan betraktas som ett särskilt fall av selektionsbias. Jag kommer att presentera hur överlevnadsbias kan uppstå i observationsstudier och hur det kan påverka resultaten av din studie. Exempel från litteraturen på de närliggande begreppen "immortal time bias" och "prevalent user bias" kommer också att presenteras. Särskild vikt kommer att ligga på hur censurering av konkurrerande risker ("competing risks") i överlevnadsanalys under vissa omständigheter kan ge upphov till överlevnadsbias.

## Competing risks - Vad är det och hur påverkar de analyserna av din studie?

Sandra Eloranta, statistiker

*Enheten för klinisk epidemiologi, Institutionen för medicin, Karolinska Institutet, Solna*

Competing risks, eller konkurrerande risker, är ett begrepp som allt oftare ses förekomma i epidemiologiska studier vilka analyserats med hjälp av överlevnadsanalys. I takt med att statistiska metoder för competing risks har börjat användas mer frekvent i den vetenskapliga litteraturen så har även antalet förfrågningar (t.ex. från reviewers) om analyser som tar hand om competing risks ökat och (möjligen som en följd av detta) även antalet artiklar som syftar till att reda ut begreppen kring dessa metoder.

I den här föreläsningen kommer jag att ge en kortfattad introduktion till ämnet och beskriva:

- Vad är competing risks?
- På vilket sätt kan de (möjligen) orsaka problem vid användning av klassiska metoder för överlevnadsanalys?
- För vilken typ av vetenskapliga frågeställningar behöver särskilda statistiska metoder för att hantera competing risks användas?
- Vad är skillnaden i tolkning av de statistiska analyserna beroende på om data har analyserats med traditionella metoder för överlevnadsanalys (t.ex. Cox regression eller Kaplan-Meier), jämfört med statistiska metoder speciellt framtagna för att mäta överlevnad då competing risks förekommer (t.ex. Fine-Gray regression, orsaksspecifik kumulativ incidens)?

Föreläsningen kommer att fokusera på att ge en ökad förståelse för de koncept som förekommer inom denna teori och inte på den matematiska teori som ligger till grund för de teorier som beskrivs.

### **Nyckelreferens som ligger till grund för föreläsningen**

Kragh Andersen P, Geskus R, de Witte T and Putter H: *Competing risks in epidemiology: possibilities and pitfalls* International Journal of Epidemiology 2012;41:861–870

**Om presentatören:** Sandra Eloranta arbetar sedan 10 år tillbaka som biostatistiker på Karolinska Institutet. Hennes avhandlingsarbete handlade om att utveckla och tillämpa statistiska metoder för att skatta cancerpatientöverlevnad med hjälp av registerdata. Som en del av detta arbete ingick att integrera statistiska metoder för competing risks med relativ överlevnadsteori och beskriva hur sådana resultat kan användas inom riskkommunikation.

## Competing risk: exempel från Me-Can kohorten

Christel Häggström

Umeå Universitet

I alla studier är forskare intresserade av att studera risk för ett visst utfall av intresse, men det är viktigt att komma ihåg att studiepopulationen också är "at risk" av andra utfall, och att en del av dessa kan konkurrera med huvudutfallet. Till exempel i studier av en specifik dödsorsak är alla andra dödsorsaker konkurrerande utfall, eller i studier av en specifik förstalinjesbehandling till en sjukdom är alla andra förstalinjesbehandlingar konkurrerande utfall. Risken för dessa konkurrerande utfall (competing risks) är definierade av ett event som hindrar eller grundläggande ändrar sannolikheten att få utfallet av intresse[1]. Huruvida dessa konkurrerande risker tas med i den statistiska analysen eller inte är av stor betydelse när det kommer till att tolka resultatet.

Jag kommer att prata om studier inom det Metabola Syndromet och Cancer projektet (Me-Can) [2], en prospektiv europeisk kohortstudie av över en halv miljon individer. Vi har publicerat data på metabola faktorer och risk för prostatacancer baserat på nästan 290,000 med "vanlig" överlevnadsanalys, och med competing risk analys [3 4]. Vidare kommer jag fokusera på sambandet mellan hypertoni (högt blodtryck) och risk för prostatacancer med Me-Can för att illustrera skillnaden mellan resultat från "vanlig" överlevnadsanalys och analyser med competing risk analys. I detta exempel har vi beräknat den absoluta (kumulativa) risken för prostatacancer med "vanliga" metoder (Kaplan-Meier failure estimat) och competing risk analys (kumulativ incidens). Dessa två metoder ger olika resultat, men båda metoderna är korrekta – de är svar till två olika forskningsfrågor. Om det finns tid kommer jag även visa preliminära resultat för absolut risk från en studie om diabetesmedicin och risk för prostatacancer.

Sammanfattningsvis, denna presentation kommer belysa skillnader i tolkning i absolut risk mellan "vanliga" metoder för överlevnadsanalys och metoder med hänsyn till konkurrerande risker (competing risk analys), och ta upp orsaker till varför resultaten från dessa metoder kan skilja sig åt.

### Referenser

1. Gooley TA, Leisenring W, Crowley J, et al. Estimation of failure probabilities in the presence of competing risks: new representations of old estimators. *Stat Med* 1999;**18**(6):695-706
2. Stocks T, Borena W, Strohmaier S, et al. Cohort profile: The metabolic syndrome and cancer project (Me-Can). *Int J Epidemiol* 2009;**39**(3):660-7
3. Haggstrom C, Stocks T, Nagel G, et al. Prostate cancer, prostate cancer death, and death from other causes, among men with metabolic aberrations. *Epidemiology* 2014;**25**(6):823-28
4. Haggstrom C, Stocks T, Ulmert D, et al. Prospective study on metabolic factors and risk of prostate cancer. *Cancer* 2012;**118**(24):6199-206

## Statistiska metoder för att undersöka etiologisk heterogenitet: Exempelapplikation på molekyllära subtyper av kolorektalcancer

Robin Myte

*Institutionen för Strålningsvetenskaper – Onkologi, Umeå Universitet*

Cancers uppkomst, behandling och prognos har traditionellt behandlats huvudsakligen utifrån det organsystem där tumören uppstår, men på senare tid har allt mer uppmärksamhet riktats mot heterogeniteten mellan tumörer med avseende på molekyllära egenskaper. För kolorektal cancer (CRC) utnyttjas detta redan idag i behandling och prognos, men endast lite forskning har berört frågan om även etiologin skiljer sig åt mellan olika subtyper (1). Min presentation syftar till att demonstrera statistiska metoder för att undersöka etiologisk heterogenitet genom en exempelapplikation på molekyllära subtyper av CRC.

Vi studerar ett antal faktorer kopplade till energi- och enkolsmetabolism i relation till CRC och molekyllära subtyper av CRC i den prospektiva, populationsbaserade kohorten Northern Swedish Health and Disease Study (NSHDS). För att undersöka ifall potentiella riskfaktorer association skiljer sig åt mellan subtyper använder vi regressionsmodeller baserade på competing risks-metodik (2). För de frågeställningar som inkluderar flera interrelaterade variabler väljer vi först ut de med oberoende association till subtypspecifik risk genom att estimerar Bayesianska nätverk med hjälp av structural learning algoritmer och bootstrapping (3).

Preliminära resultat för studier av enkolsmetabolism i ett nested case-control material (420 CRC-fall med dubbla matchade kontroller) visar att vissa variabler, däribland plasma riboflavin och genvarianten *CTH* 1346G>T, verkar skiljas sig åt i sin association till CRC över subtyper approximerade av mutationer i onkogenerna *KRAS* och *BRAF*.

De demonstrerade metoderna kan användas i alla liknande frågeställningar där heterogenitet i associationen till något utfall studeras, t.ex. risken för cancer-subtyper eller andra tillstånd, så länge subtyperna- av intresse är ömsesidigt uteslutande.

### Referenser

1. Ogino S, Chan AT, Fuchs CS, Giovannucci E. Molecular pathological epidemiology of colorectal neoplasia: an emerging transdisciplinary and interdisciplinary field. *Gut* 2011;60(3):397-411.
2. Wang M, Spiegelman D, Kuchiba A, Lochhead P, Kim S, Chan AT, et al. Statistical methods for studying disease subtype heterogeneity. *Statistics in Medicine* 2016;35(5):782-800.
3. Scutari M, Nagarajan R. Identifying significant edges in graphical models of molecular networks. *Artificial Intelligence in Medicine* 2013;57(3):207-17.

## Guidelines for reporting of nutritional epidemiology (STROBE-nut)

Elisabet Wirfält, Professor Emerita

*Lund University, Sweden*

### What is the STROBE Statement?

STROBE stands for an international, collaborative initiative of epidemiologists, methodologists, statisticians, researchers and journal editors involved in the conduct and dissemination of observational studies, with the common aim of **STrengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology**.

<http://www.strobe-statement.org/>

### What is the STROBE-nut?

In **2013 NEON members** started discussions on creating **an extension** of the original STROBE statement focusing on **nutritional epidemiology**.

In 2014 in **collaboration with international researchers** started, which led to the creation of a **STROBE-nut checklist** - That is guidelines for the reporting of observational studies in nutritional epidemiology.

In 2016 a **descriptive paper** about the STROBE-nut checklist was submitted for publication.

A **second paper** is currently under development that further will **explain and elaborate** the recommendations presented in the STROBE-nut checklist.

<http://www.strobe-nut.org/>

## **Introduction to gut microbiota**

*(with emphasis on diet-microbiota interactions)*

**Petia Kovatcheva-Datchary, PhD**

*Wallenberg Laboratory, Department of Molecular and Clinical Medicine, University of Gothenburg*

The human microbiota is the collection of microbes that live on and in our body with the largest and most diverse cluster of microorganisms inhabiting the gut, termed the gut microbiota. The abundance, composition, and function of microbes vary along the length of the gut and are affected by many factors, including intestinal transit rate, luminal environment, and nutrient availability. The gut microbiota has co-evolved with the host, which provides the microbes with a stable environment considering food and temperature, whereas the microbes provide the host with functions ranging from production of nutrients, digestion of complex dietary compounds to defense against pathogens, and maintaining the immune system. The establishment of the gut microbiota is a gradual and dynamic process, determined by factors as delivery mode, maternal microbiota type of feeding, illness and antibiotic therapy, and environmental hygiene. The gut microbiota was referred as our “forgotten organ”, but the field has developed over the past decade and it has become evident that the microbiota contributes to health and disease of the host. Microbes in the gut play an important role in human metabolism and health, by interacting with host diet. However we still poorly understand the relationship between diet and gut microbiota structure and operations, and how functional attributes associated with gut microbes influence host metabolism.

To further explore the diet-microbiota interactions in the mammalian gut with emphasis on metabolic interactions we tested a test meal enriched in indigestible carbohydrates and we observe improvement of glucose tolerance overnight, in healthy subjects with normal body mass indices. To further investigate whether the improved glucose tolerance from the test meal is associated with altered gut microbiota, we performed 16S rRNA based pyrosequencing and metagenomics analysis of the fecal samples from selected subjects that showed biggest improvement of glucose tolerance and compare to subjects with lowest. Our data showed the importance of the initial gut microbiota composition in the final respond from the diet, and revealed a key taxon from the gut microbiota associated with the improved glucose metabolism. We further validated our findings with colonization studies in germ-free mice.



## Dietary intakes and gut microbiota composition in a Swedish population

Louise Brunkwall, Ulrika Ericson, Olena Prykhodko, Sophie Hellstrand, Peter Almgren, Emily Sonestedt, Frida Fåk and Marju Orho-Melander

Lund University

**Background:** Today we know that genetics and a number of environmental factors affect the human gut microbiota and diet seem to be one of the most important factors. Additionally, lean and obese individuals differ in their bacterial constitution where lean individuals have a more diverse microbiota and many studies observed a higher level of *Bacteroidetes* and a lower level of *Firmicutes* at phylum level. However, this knowledge is mostly derived from small and controlled studies, which limits the generalizability. Therefore, we aim at investigating some of the food components that has been observed in controlled microbiota studies in a population based cohort: fiber, wholegrain, fruit, vegetables and meat.

**Material and Method:** Malmö Offspring Study is a prospective cohort study with ongoing collection since 2013. All participants visited the clinic at two occasions. At the first visit anthropometric measurements were taken, blood was drawn and instructions on how to register diet and collect the feces and urine samples were given to the participants via short videos. The feces samples are collected and frozen at home and delivered to the clinic where it is then transported to the bio bank and frozen at -80C. DNA is extracted and amplified with PCR, then the V1-V3 region of the 16S rRNA gene is amplified and sequenced by next generation sequencing on a HighSeq instrument (Illumina), by GATC. Sequencing data was analyzed using an open-source bioinformatics pipeline, Quantitative Insights into Microbial Ecology (QIIME). Olena Prykhodko in Frida Fåks laboratory carries out this work. A 4-day webbased dietary record (Riksmaten, 2010) was used to assess diet. All analysis was carried out in STATA. At phylum level associations were analyzed with linear regression adjusted for age and sex, additionally we did a non-parametric trend analysis (nptrend command in STATA). Due to the large number of bacteria at genus level that we wanted to test and the skewedness in the data we started by running a spearman analysis with all bacteria, BMI, waist, waist/hip ratio and the food groups. From this analysis we extracted the bacteria that had a correlation with the food groups. Further those bacteria were logarithmically transformed and the foods categorized into tertiles. We then performed linear regression in three steps; unadjusted, adjusted for age and sex and additional adjustments for BMI. Additionally we performed principal components analysis with a varimax rotation. To extract the number of components we observed the screeplot. The factors were then used in a linear regression analysis.

**Results:** At phylum level we observed BMI, waist and waist/hip ratio to significantly associate with a decreased abundance of *Bacteroidetes* and an increased abundance of *Firmicutes*. No associations were observed between the food groups and bacteria at phylum level. Further, we analyzed correlations between the anthropometric measurements, food groups and bacteria at genus level. Except for the association between 3 bacteria and BMI (*Rikenellaceae*, *Dorea* and *Lachnospiraceae\_unclassified at genus level*) no correlation remained significant after correction for multiple testing, with FDR. For the nominally significant correlations we additionally analyzed the associations with a linear regression adjusted in steps, with the bacteria logarithmically transformed. We then observed associations between waist, waist/hip ratio, wholegrain, fruit and fiber with specific bacteria. In an attempted to reduce the number of bacteria we applied principal components analysis with a varimax rotation. From the screeplot we extracted 3 factors. The first factor was significantly associated with BMI, waist and waist/hip ratio, while factor 2 was significantly associated with vegetable intake.

**Conclusions:** In these first preliminary analyses we were able to observe associations between bacteria anthropometric measurements and food components in a Swedish population based study.

## Diet-microbiota-health interactions in older persons: the ELDERMET study

Paul W. O'Toole, Ph.D.

*School of Microbiology and APC Microbiome Institute, University College Cork, Ireland*

### Introduction

We previously showed that the fecal microbiota composition of 500 subjects in the ELDERMET cohort differed significantly between individuals; correlated with habitual diet; was directly proportional in diversity to the Healthy Food Diversity index. Gradients in microbiota composition correlated with gradients in several health parameters, after adjustment for possible confounders. Subjects in long-term residential care had the lowest microbiota diversity.

### Methods/design

We used 16S microbiota profiling to determine faecal microbiota composition, and shotgun metagenome sequencing to determine microbiome function. We followed ca. 250 subjects over 3 time points, time-zero, 3 months and 6 months. We adapted an iterative bi-clustering algorithm (iBBiG) originally developed for analysing microarray data.

### Results

We now show by analysis of microbiota composition over 6 months that a low initial microbiota diversity level is associated with greater composition shift during 6 month follow-up. Residence in a long-term care facility was not required for a low-diversity microbiota, because subjects living in their own homes and consuming a low-diversity diet also acquired a low diversity microbiota. These individuals had lower scores for a number of health parameters. Shotgun metagenome sequencing in 223 subjects indicated that the low diversity microbiota of frailer subjects harboured significantly lower gene counts than the microbiome of subjects consuming a high Healthy Food Diversity index diet, especially for carbohydrate fermentation, amino acid metabolism, and nucleotide metabolism. We also noted differential abundance of sub-groups of a recently discovered order of archaeal methanogens. Application of iBBiG to microbiota composition data from 732 faecal samples from 371 ELDERMET cohort subjects identified distinctive microbiota configurations associated with ageing in both community and long-stay residential care elderly subjects.

We also collaborated with Dr. Claire Steves and Prof. Tim Spector of King's College London to replicate some of the signatures for less healthy aging including frailty in subjects from the TwinsUK cohort.

A major disease of aging is colorectal cancer which typically affects up to 6% of citizens of western countries. We identified discrete microbiota subtypes associated with resected colorectal cancer tumour tissue that were different to the microbiota of healthy control tissue. Interestingly, the microbiota associated with polyps was intermediate in composition between that of tumours and healthy tissue. Some of the microbiota sub-structure was similar to diet-driven enterotypes.

### Conclusions

These data provide a framework for analysing microbiota-health associations, distinguishing correlation from causation, and developing microbiota-based health surveillance for older adults.

## **Diet-Gut Microbiome Interactions in Humans: Effects on Exposure to Plant Bioactives**

**Johanna W Lampe**

*Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, USA*

Plant-food bioactives constitute a diversity of chemical structures that are metabolized to varying degree by gut bacterial enzymes. The interaction between dietary intake and the gut microbiome may influence chronic disease risk. In humans, wide ranges in circulating levels of plant-food bioactives and their metabolites among individuals in response to a standard dose of a phytochemical suggest large interindividual variation in the gut microbial capacity to metabolize the parent compounds. Several classes of phytochemicals—the glucosinolates, isoflavones, and lignans—have been extensively studied for their potential role in chronic disease prevention. Our research on diet and the gut microbiome have focused on several aspects of phytochemical metabolism. In the context of dietary interventions, differences in gut microbial metabolism can substantially affect circulating levels of the bioactive metabolites and biomarkers of cancer risk. Gut microbial metabolism of the soy isoflavone daidzein may serve as a marker linking the gut microbiome and risk of obesity. Further, diversity and composition of the gut microbial community are associated with increased human exposure to enterolignans. Overall, the gut microbiome plays an important role in exposure to bioactives from plant foods and therefore possibly disease risk. Understanding the impact of diet-microbial community interactions may help to guide future prevention strategies.

## Gut microbiota development during infancy

Tine Rask Licht, Professor

*DTU Food, Denmark*

The first years of life are paramount in establishing our endogenous gut microbiota, which is known to be affected by diet and has repeatedly been linked with obesity and allergies. However, while the period immediately after birth is well studied, and the effect of breast-feeding is well documented, only little is known about which factors affect child microbiota development during the period of transition from breastfeeding to an adult-type diet.

The lecture will be based on studies of fecal microbiotas obtained from the so-called SKOT cohorts, which are followed by Copenhagen University. SKOT is short for the Danish “Smårbørns KOst og Trivsel” (<http://skot.ku.dk/>), which is a research project with the aim to investigate possible interactions between dietary intake, growth, cognitive development, overweight and markers of lifestyle related diseases in children aged 9-36 months.

In these cohorts, we have addressed the development of the individual microbiotas between the sample points at 9, 18 and 36 months (Bergström et al., 2014). Additionally, since very few previous studies have addressed the influence of maternal obesity on infant gut microbiota, which may occur either through vertically transmitted microbes or through the dietary habits of the family, we compared gut microbiotas of infants born either to a random sample of healthy mothers (n=114), or to obese mothers (n=113), and found that early microbiota composition at 9 months was driven by transition to complementary diet rather than by maternal obesity (Laursen et al., 2016). Also, we found that presence of older siblings in the household was associated with increased gut microbial diversity and richness during early childhood (Laursen et al., 2015), which contributes to the substantiation of the hygiene hypothesis suggesting that lack of microbial exposure in early life increases the risk of development of allergic diseases.

In a longer perspective, expansion of our understanding of factors influencing the development and establishment of the child gut microbiota will provide us with the knowledge to tailor a beneficial progression of our intestinal microbial community.

### References

1. Bergström, A., Skov, T.H., Bahl, M.I., Roager, H.M., Christensen, L.B., Ejlerskov, K.T., Mølgaard, C., Michaelsen, K.F., Licht, T.R., 2014. Establishment of intestinal microbiota during early life: a longitudinal, explorative study of a large cohort of Danish infants. *Appl. Environ. Microbiol.* 80, 2889–900. doi:10.1128/AEM.00342-14
2. Laursen, M.F., Andersen, L.B.B., Michaelsen, K.F., Mølgaard, C., Trolle, E., Bahl, M.I., Licht, T.R., 2016. Infant Gut Microbiota Development Is Driven by Transition to Family Foods Independent of Maternal Obesity. *mSphere* 1, e00069–15. doi:10.1128/mSphere.00069-15
3. Laursen, M.F., Zachariassen, G., Bahl, M.I., Bergström, A., Høst, A., Michaelsen, K.F., Licht, T.R., 2015. Having older siblings is associated with gut microbiota development during early childhood. *BMC Microbiol.* 15, 154. doi:10.1186/s12866-015-0477-6

## **Food patterns, inflammation markers and risk of post-menopausal breast cancer; a nested case-control study from the Malmö Diet and Cancer (MDC) cohort**

**Joana A. Dias\***, Isabel Drake, Ulrika Ericson, Bo Gullberg, Bo Hedblad, Gunnar Engström, Signe Borgquist, Jan Nilsson, Gunilla N. Fredrikson, Elisabet Wirfält

*\*Diabetes och Kardiovaskulärsjukdom – Genetisk Epidemiologi, Institutionen för kliniska vetenskaper i Malmö, Lunds universitet, Sverige*

### **Background and aim**

Dietary patterns derived with reduced rank regression (RRR) are linear combinations of food group intakes that explain the maximum variation in a set of response variables (RV). The aim was to assess if food patterns (FP) associated with inflammation markers were associated with invasive post-menopausal breast cancer risk.

### **Methods**

We performed a nested case-control study within the MDC consisted of women aged 55-73 years, free from cancer at baseline (1991-96). The RV were three inflammation markers (oxidized-LDL, IL-1 $\beta$ , and TNF- $\alpha$ ) analysed in plasma samples of 446 cases (diagnosed with invasive breast cancer until December 31<sup>st</sup> 2010) and 910 controls (2 per case, matched on age and date of measurement). A modified diet-history method of high relative validity collected dietary information at baseline.

We derived FP (from 41 food groups) associated with the three RV using RRR. We calculated the odds ratios (OR) for breast cancer risk comparing the higher FP tertiles to the lowest using multivariable unconditional logistic regression. Adjustments were performed for the matching variables, smoking, BMI, WHR, parity, MHT, alcohol, PA and education.

### **Results**

Three derived FP explained 3.4% of the total variation in the RV. The first FP explained 1.9% of the variation. Food pattern 3 was characterized by high consumption of soft and light margarines, cottage cheese, fatty fish, lean meats, coffee and water, and low consumption of all ready to eat powders, fibre-rich bread and sweets. The highest tertile of this FP was associated with increased breast cancer risk compared to the lowest (p-trend=0.04), but associations were attenuated with adjustments.

### **Conclusion**

We identified three dietary patterns associated with inflammation markers (ox-LDL, IL-1 $\beta$ , and TNF- $\alpha$ ). Food pattern 3 was associated with increased breast cancer risk.

## Web-Based Self-Reported Height, Weight, and Body Mass Index among Swedish Adolescents: A Validation Study

Sandra Ekström<sup>1</sup>, MSc; Inger Kull<sup>1,2,3</sup>, RN, PhD; Sara Nilsson<sup>4</sup>, MSc; **Anna Bergström<sup>1</sup>**, PhD

<sup>1</sup>*Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden*

<sup>2</sup>*Department of Clinical Science and Education, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden*

<sup>3</sup>*Sachs' Children's Hospital, South General Hospital Stockholm, Stockholm, Sweden*

<sup>4</sup>*Center for Occupational and Environmental Medicine, Stockholm County Council, Stockholm, Sweden*

Web-based questionnaires are increasingly used in epidemiological studies, for example for obtaining information on height and weight. Despite this, the validity has rarely been evaluated. The aim of our study was to validate self-reported height, weight, and corresponding body mass index (BMI) among Swedish adolescents aged approximately 16 years. A secondary aim was to investigate possible prediction factors for validity of self-reported BMI.

The study included 1698 adolescents from the population-based cohort BAMSE. Height and weight were collected through a Web-based questionnaire and subsequently measured using standard procedures. Differences between reported and measured height, weight, and corresponding BMI were compared by t tests and agreement was evaluated by Pearson correlation and Bland-Altman plots. Multivariable linear regression analysis was used to investigate whether lifestyle and demographic factors predicted validity of self-reported BMI.

-

On average, weight was underestimated by 1.1 kg and height was overestimated by 0.5 cm, leading to an underestimation of BMI by 0.5 kg/m<sup>2</sup>. Correlation coefficients were 0.98 for height, 0.97 for weight, and 0.94 for BMI, and highly significant. Females underestimated weight to a higher extent than males and overweight and obese participants underestimated weight to a higher extent than normal-weight participants, which resulted in higher underestimation of BMI. Underweight participants, on the contrary, overestimated weight and correspondingly BMI. Overall, a high proportion of participants were classified into the correct BMI category; however, among overweight and obese participants, only 60.2% and 46% were correctly classified, respectively. In the multivariable prediction model, only gender and BMI status significantly predicted discrepancy between reported and measured BMI.

In summary, web-collected BMI may be used as a valid, quick, and cost-effective alternative to measured BMI among Swedish adolescents. The accuracy of self-reported BMI declines with increasing BMI and self-reported BMI should not be used to estimate the prevalence of overweight or obesity.

### Reference

Ekström S, Kull I, Nilsson S, Bergström A. Web-based self-reported height, weight, and body mass index among Swedish adolescents: a validation study. *J Med Internet Res*. 2015 Mar 18;17(3):e73.

## IRIS-studien: När är det lättast att med motiverande samtal främja viktnedgång efter förlossning hos kvinnor med övervikt?

Helena Bjeremo<sup>1,2</sup>, Andrea Friedl<sup>1</sup>, Annamaria Åhlin<sup>1</sup>, Ann-Louise Sirén<sup>1</sup>, Finn Rasmussen<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Enheten för barns och ungdomars hälsa, Centrum för epidemiologi och samhällsmedicin, Stockholms läns landsting

<sup>2</sup>Institutionen för folkhälsovetenskap, Karolinska Institutet

Nästan var tredje kvinna som skrivs in i mödrahälsovården i Stockholms län har övervikt eller fetma. Befintlig övervikt eller fetma vid graviditetsstart och en kraftig viktuppgång under graviditet medför ökade risker för både kvinnan och barnet. Dessutom är graviditet i sig en riskfaktor för övervikt och fetma hos kvinnor i barnafödande ålder.

IRIS-studien är en pågående randomiserad kontrollerad interventionsstudie. Syftet är att studera om, och i så fall när, motiverande samtal (MI) är effektivt för att förhindra kraftig viktuppgång under graviditet och främja viktnedgång efter förlossning hos kvinnor med övervikt eller fetma. MI-samtalen fokuserar på mat- och rörelsevanor. Deltagarna får utifrån sina egna förutsättningar och mål möjlighet att samtala kring sina mat- och rörelsevanor. De får även möjlighet till återkoppling på sina vanor.

Deltagarna rekryteras innan graviditetsvecka 14 och lottas till en av fyra grupper: i) fyra MI-samtal under graviditeten, ii) fyra MI-samtal under första året efter förlossning, iii) två MI-samtal under graviditeten och två MI-samtal under första året efter förlossning, och iv) kontrollgrupp som får sedvanligt omhändertagande. Primärt utfall är vikt ett år efter förlossning. Andra mått är kostregistrering under fyra dagar och rörelsemätning under sju dagar.

Deltagarna rekryteras främst via barnmorskor vid inskrivningssamtalet men även via studiens hemsida ([www.irisstudien.se](http://www.irisstudien.se)) och via affischer och broschyrer i barnmorskemottagningarnas väntrum. Målet är att rekrytera totalt 270 kvinnor. Inklusionskriterier är bland annat förstföderska eller omföderska med ett barn sen tidigare och BMI mellan 27,0 och 34,9 kg/m<sup>2</sup>.

Målet med IRIS-studien är att utveckla och utvärdera en effektiv metod som kan användas inom mödrahälsovården för att motverka kraftig viktuppgång under graviditet och för att främja viktnedgång efter förlossning hos kvinnor med övervikt eller fetma.

## Kostinflammationsindex och risk för hjärtinfarkt i norra Sverige

Stina Bodén<sup>1</sup>, Maria Wennberg<sup>2</sup>, Lena Maria Nilsson<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Strålningsvetenskaper, Onkologi, Umeå Universitet

<sup>2</sup>Folkhälsa och Klinisk Medicin, Näringsforskning, Umeå Universitet

<sup>3</sup>Arcum, Umeå Universitet

Kostens betydelse för inflammation och flertalet folksjukdomar, däribland hjärtkärlsjukdom, har i studier undersökts med hjälp av ett litteratur- och populationsbaserat kostinflammationsindex. Resultaten från flertalet studier visar att det finns ett samband mellan detta kostinflammationsindex och hjärtkärlsjukdom. Syftet med vår studie var att undersöka sambandet mellan kostinflammationsindex och hjärtinfarkt hos individer i norra Sverige. Bakgrundsfakta från studiepersonerna med bland annat kostdata samlades in i norra Sveriges hälsoundersökningar (Northern Sweden Health and Disease Study, NSHDS) mellan 1991-1999. Studiedesignen var en prospektiv fall-kontrollstudie där 296 individer som efter datainsamlingen fått en första akut hjärtinfarkt ingick. Dessa matchades till 605 kontroller, som inte fick en hjärtinfarkt under uppföljningstiden, för ålder, kön och datum för hälsoundersökningen. Medianåldern var 57 år respektive 59 år för fall och kontroller och 81.8 % respektive 82.8 % var män.

Data från en validerad kostfrekvensenkät användes för att räkna fram sammanlagda kostinflammationsindex-poäng för varje individ, där negativa värden står för anti-inflammatorisk och positiva värden står för pro-inflammatorisk. Trettio olika kostmarkörer ingick i vårt kostinflammationsindex där mättat fett hade den högsta poängen och därmed den mest pro-inflammatoriska effekten enligt det litteratur-baserade indexet. I vårt framräknade av kostinflammationsindex hade fiber den lägsta poängen och därmed den mest anti-inflammatoriska effekten. Femton kostmarkörer från det ursprungliga indexet exkluderades då dessa inte efterfrågades i kostenkäten. Multipel logistisk regression användes för att räkna fram oddskvoter (OR) tillsammans med 95 % konfidensintervall (95 % CI) och individerna delades in i kvartiler utifrån deras kostinflammationsindex-poäng där lägsta kvartilen (individerna med den mest anti-inflammatoriska kosten) var referensgrupp. I en multivariabel modell justerades OR för rökning, blodfetter (ApoB/ApoA1), systoliskt blodtryck, diabetes och utbildning. Energijustering genomfördes med hjälp av residualmetoden.

De preliminära resultaten från denna studie visar att risken för hjärtinfarkt var högre hos individer med högre kostinflammatoriska poäng (kvartil 2-4) jämfört med kvartil 1 men mellan kvartil 2-4 sågs ingen linjär trend. Individerna i kvartil 2-4 hade 59 % högre risk för hjärtinfarkt jämfört med kvartil 1 [OR 1.59 (1.08-2.33)]. Efter justeringar för andra riskfaktorer för hjärtkärlsjukdom var OR för kvartil 2-4 i relation till kvartil 1: 1.56 (0.99-2.47). Slutsatsen från dessa preliminära data är att en anti-inflammatorisk kost är förknippad med en lägre risk för hjärtinfarkt i norra Sverige.

Notering: Data från fler individer kommer att analyseras och resultaten att sammanställas i en vetenskaplig artikel framöver.



## Pre-diagnostic enterolactone concentrations and mortality among Danish men diagnosed with prostate cancer

Anne Kirstine Eriksen<sup>1</sup>, Cecilie Kyrø<sup>1</sup>, Natalja Nørskov<sup>2</sup>, Jane Christensen<sup>1</sup>, Anne Katrine Bolvig<sup>2</sup>, Anne Tjønneland<sup>1</sup>, Kim Overvad<sup>3</sup>, Rikard Landberg<sup>4</sup> and Anja Olsen<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Unit of Diet, Genes and Environment, Danish Cancer Society Research Center, Strandboulevarden 49, 2100 Copenhagen, Denmark*

<sup>2</sup> *Department of Animal Science, Aarhus University, Blichers Allé 20, 8830 Tjele, Denmark*

<sup>3</sup> *Department of Public Health, Section for Epidemiology, Aarhus University, Bartholins Allé 2, 8000 Aarhus C, Denmark*

<sup>4</sup> *Department of Food Science, Swedish University of Agricultural Sciences, Almas Allé 5, 750 07 Uppsala, Sweden*

Prostate cancer is the most common cancer and the second most common cause of cancer-related death among Northern European men. Currently, there is a lack of knowledge about what men with prostate cancer can do to improve their prognosis. Lignans are plant compounds found in seeds, whole grains, nuts, and in some fruits and vegetables. In Denmark, whole-grain rye is the main source of lignans. Facilitated by the microbiota, plant lignans are converted to enterolignans (mainly enterolactone), and thereafter absorbed through the colonic barrier. Intervention trials have indicated that diets rich in whole-grain rye, and thereby lignans, may have beneficial effects on disease progression in prostate cancer patients. Therefore, the objective of this study was to investigate the association between pre-diagnostic enterolactone concentrations and later mortality among men diagnosed with prostate cancer.

In this study, the association between pre-diagnostic plasma enterolactone concentrations and all-cause mortality as well as prostate cancer-specific mortality was investigated in 1431 incident prostate cancer cases from the Danish "Diet, Cancer and Health" cohort study. These men were followed from diagnosis until death (n=460, due to prostate cancer n=301), or end of study follow-up (December 31, 2013). Enterolactone levels were analysed in plasma using an LC-MS/MS method, and information on vital status and cause of death was obtained through registries. Cox proportional hazards models with follow-up time as underlying time, stratified by 5-year intervals and adjusted for lifestyle factors, were used to estimate hazard ratios. High concentrations of enterolactone were associated with lower all-cause mortality, but the association was no longer statistically significant after adjusting for smoking, BMI and physical activity. No association was found with prostate cancer-specific mortality. High enterolactone concentrations were therefore not associated with improved survival in a population of Danish men diagnosed with prostate cancer.

### Funding source

Innovation Fund Denmark and Danish Cancer Society

## **Kostvanor som i större utsträckning stämmer överens med de svenska näringsrekommendationerna associerar med lägre risk att utveckla blodfettsrubbing över 16-års uppföljningstid**

**Sophie Hellstrand**<sup>1</sup>; Isabel Drake<sup>1</sup>; Christina-Alexandra Schulz<sup>1</sup>; Ulrika Ericson<sup>1</sup>; Joana Hlebowicz<sup>4</sup>, Bo Gullberg<sup>2</sup>; Bo Hedblad<sup>3</sup>; Gunnar Engström<sup>3</sup>; Marju Orho-Melander<sup>1</sup>; Emily Sonestedt<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Diabetes och Kardiovaskulärsjukdom – Genetisk Epidemiologi*, <sup>2</sup>*Nutritionsepidemiologi*, <sup>3</sup>*Kardiovaskulär Epidemiologi*, och *Experimentell Kardiovaskulär forskning*, Institutionen för kliniska vetenskaper i Malmö, Lunds universitet, Sverige

Kost med hög kvalitet som väl stämmer överens med de svenska näringsrekommendationerna associerar med minskad risk för dödlighet och hjärt-kärlsjukdom i Malmö Kost-Cancer kohorten. Syftet bakom denna studie är att undersöka förändring av blodfetter under 16-års uppföljningstid för att försöka förklara detta skyddande samband. Eftersom genetisk variation skulle kunna påverka responsen av olika matvanor, vill vi även undersöka om ett "genetiskt risk score" bestående av 80 validerade fett-associerade varianter kan påverka detta samband. I denna studie inkluderades 3,145 individer från den populations-baserade Malmö Kost-Cancer studien. Alla deltagarna hade fasteprover av blodfetter (triglycerider, HDL-kolesterol och LDL-kolesterol) både vid baslinjen (1992-1994) och efter 16-års uppföljningstid. Kostdata samlades in med en modifierad kost-historisk metod vid baslinjen. Ett kostindex skapades baserat på följsamheten av det rekommenderade intaget av mättat- och fleromättat fett, socker, fibrer, frukt och grönsaker, samt fisk och skaldjur.

Våra resultat visar att deltagare med kostvanor som i större utsträckning stämde överens med de svenska näringsrekommendationerna hade högre nivåer av det "goda" HDL-kolesterolet vid studiens start. Vi såg även att risken för att få höga triglycerider och LDL-kolesterol över 16-års uppföljningstid var lägre hos deltagare som i större utsträckning följde kostrekommendationerna. När vi tittade separat på de sex olika kostkomponenter som ingår i kostindexet såg vi att deltagare som hade lägre intag av socker (sackaros) hade lägre nivåer av triglycerider och högre HDL-kolesterol vid studiens start jämfört med deltagare med högre intag av socker. Efter 16-års uppföljningstid kunde vi fortfarande se en statistisk skillnad på HDL-kolesterolnivåerna mellan deltagarna som vid studiens start hade ett sockerintag inom det rekommenderade intaget och de som inte var inom den rekommenderade nivån. Denna iakttagelse kan indikera att kostvanorna är förhållandevis stabila i denna population. Vidare fann vi att en låg kostkvalité visade samband med minskade HDL-kolesterolnivåer under uppföljningen enbart hos personer med låg genetisk risk för blodfettsrubbing. Detta resultat kan tolkas som att för individer med låg genetisk risk, spelar kostkvalitén större roll för HDL-kolesterolnivåerna jämfört med individer med hög genetisk risk. Sammanfattningsvis tyder våra resultat på att individer med kostvanor som stämmer väl överens med de svenska näringsrekommendationerna har lägre risk att utveckla blodfettrubbing över 16-års uppföljningstid. Däremot fann vi inga tydliga samband för att genetisk risk för blodfettsrubbing modifierar sambandet mellan kostkvalité och förändring av blodfetter.

## **Polyphenols and breast cancer survival – results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort**

**Kyrø C\***, Zamora-Ros R, Scalbert A, Tjønneland A, Dossus L, Johansen C, Bidstrup PE, Weiderpass E, Christensen J, Ward H, Aune D, Riboli E, His M, Clavel-Chapelon F, Baglietto L, Katzke V, Kuhn T, Boeing H, Floegel A, Overvad K, Lasheras C, Travier N, Sanchez MJ, Amiano P, Chirlaque MD, Ardanaz E, Khaw KT, Wareham N, Perez-Cornago A, Trichopoulou A, Lagiou P, Vasilopoulou E, Masala G, Grioni S, Berrino F, Tumino R, Sacerdote C, Mattiello A, Bueno-de-Mesquita HB, Peeters PH, van Gils C, Borgquist S, Butt S, Zeleniuch-Jacquotte A, Sund M, Hjartaker A, Skeie G, Olsen A, Romieu I.

*\*Danish Cancer Society Research Center, Copenhagen, Denmark. Ceciliek@cancer.dk*

The most common cancer among women in Europe is breast cancer. The prognosis of the disease is good, and there are a large number of persons surviving the disease. These cancer survivors are highly motivated to initiate dietary changes, but not much is known about the influence of diet on prognosis. However, foods containing dietary fiber, and soy products have been suggested to have a beneficial effect on survival after breast cancer. These foods are rich in polyphenols, secondary plant metabolites, which have bioactive effects e.g. anti-oxidative activity and estrogen-like structure.

The aim was to investigate the association between pre-diagnostic intakes of polyphenol classes (flavonoids, lignans, phenolic acids, stilbenes, and other polyphenols) in relation to breast cancer survival (all-cause and breast cancer-specific mortality). Pre-diagnostic usual diet was assessed using dietary questionnaires, and polyphenol intakes were estimated using the Phenol-Explorer database. We followed 11,782 breast cancer cases from time of diagnosis until death, end of follow-up or last day of contact. During follow-up of a median of 6 years, 1482 women died (753 from breast cancer). We related polyphenol intake to all-cause and breast cancer-specific mortality using Cox proportional hazards models with time since diagnosis as underlying time.

Significant associations were found only for the polyphenol class lignans. Among post-menopausal women, a significant lower breast cancer mortality with high pre-diagnostic lignan intake was found. For pre-menopausal women, a higher all-cause mortality was found. The higher mortality found for pre-menopausal women may be due to insufficient statistical strength or because of a different biological effect of phytoestrogens. Biological evidence supports a role of lignans in breast cancer development and prognosis. After ingestion, lignans are converted to enterolignans (mainly enterolactone) by the colonic microbiota. Enterolactone may hold both estrogenic and anti-estrogenic properties, as well as other anti-carcinogenic properties independently of binding to the estrogen-receptor.

In conclusion, we found that higher pre-diagnostic lignan intake was associated with a better survival of post-menopausal women diagnosed with breast cancer, and, in contrast, the opposite was seen for pre-menopausal women. The role of phytoestrogens in breast cancer survival is complex, and menopausal status is important to take into account.

### **Funding source**

Innovation Fund Denmark and Danish Cancer Society

## Risk- och nyttovärdering av livsmedel i Sverige – utveckling av arbetsprocedur vid Livsmedelsverket

**Irene Mattisson**, Lilianne Abramsson, Christer Andersson, Wulf Becker, Per Ola Darnerud, Hanna Eneroth, Anders Glynn, Mats Lindblad, Roland Lindqvist, Leonardo Merino, Salomon Sand, Nils-Gunnar Ilbäck.

*Livsmedelsverket, Uppsala*

Hittills har utvärderingar av risker och nyttor, som utförts av experter vid livsmedelsmyndigheter eller av internationella organisationer som WHO och FAO, i huvudsak varit separata processer där risker har haft den största betydelsen för livsmedelslagstiftningen. Livsmedel, och även samma livsmedelsingrediens, kan vara förenad med både gynnsamma och skadliga hälsoeffekter. Därför behöver både potentiella risker och nyttor vägas samman genom att risker och nyttor uttrycks enligt samma måttstock.

I Sverige är Risk-och Nyttovärderingsavdelningen vid Livsmedelsverket ansvarig för risk- och nyttovärderingar inom livsmedelssektorn och man har där sammanfört vetenskapliga discipliner inom toxikologi, nutrition och mikrobiologi. Vid avdelningen initierades ett projekt med det övergripande målet att utveckla en generell procedur för risk-nyttovärderingar för att praktiskt kunna användas vid Livsmedelsverket. Som ett första steg genomfördes en översikt och utvärdering av tillgängliga metoder för risk-nyttovärderingar som används av nationella och internationella organ. I vår översikt av litteraturen fann vi att den dominerande metoden för risknyttovärderingar var en stegvis utvärdering i olika nivåer. Integrerade risk-nyttovärderingar har utförts inom flera discipliner som medicin, miljö-hälsa, livsmedelsmikrobiologi, livsmedel och nutrition, ekonomi och marknadsföring-ekonomi. Likheter och skillnader inom områdena för risk-nyttovärderingar identifierades. Hittills har man inte enats internationellt om generella principer eller metoder för risk-nyttovärderingar inom livsmedelsområdet.

I projektet användes arbetsflödet som föreslagits av den Europeiska myndigheten för livsmedelssäkerhet (European Food Safety Authority, EFSA) som utgångspunkt för att ta fram en för procedur för risk-nyttovärderingar vid Livsmedelsverket. En stegvis utvärdering i olika nivåer bör vara den procedur som ska användas vid alla risk-nyttovärderingar. Detta beror på att, förutom typen av fråga/problem, är det tillgången och typen av data som bestämmer tillvägagångssättet, alltså om bedömningen kan och behöver vara kvalitativ och/eller kvantitativ. Fördelen med en stegvis procedur är att den är konceptuellt lätt att använda för utvärderaren och främjar transparens i processen. Den föreslagna proceduren för risk-nyttovärderingar omfattar 3 steg, från kvalitativa skattningar av risker och nyttor var för sig, till kvantitativa skattningar av risker och nyttor enligt samma måttstock.

Proceduren tillämpades i en pilotstudie som omfattade en bedömning av om mängden nitrit och salt kan minskas i processat kött (charkprodukter) i kombination med en minskad maximal lagringstemperatur. De potentiella nyttorna för populationen av ett minskat intag av nitrit och salt jämfört med risken att drabbas av *Clostridium botulinum* och *Listeria monocytogenes* infektioner bedömdes.

**Referens:** "A review of Risk and Benefit Assessment procedures - development of a procedure applicable for practical use at NFA", Rapport 14/2014 [www.livsmedelsverket.se](http://www.livsmedelsverket.se)

## **Påverkan på BMI och välbefinnande hos barn och partners till kvinnor som genomgått gastric bypasskirurgi**

**Fanny Sellberg**, Daniel Berglind, Mikaela Willmer, Per Tynelius, Erik Näslund, Ata Ghaderi, Finn Rasmussen-

*Tillhörighet: Institutionen för folkhälsovetenskap, Karolinska Institutet*

I Sverige opererades ca: 6800 personer för svår fetma år 2014. Kirurgi anses vara den mest effektiva och enda långsiktiga behandlingen för fetma. Det saknas idag kunskap om fetmakirurgins påverkan på familjen till den opererade. Vi har gjort en studie med syfte att undersöka vikt och välbefinnande hos barn och partners till kvinnor som genomgår gastric bypasskirurgi (82 % av all form av fetmakirurgi 2014).

Vi rekryterade 69 kvinnor med minst ett barn i åldern 7-14 år från väntelistan för gastric bypasskirurgi från 5 sjukhus i Sverige. 38 kvinnor, deras 14 partners samt 46 barn deltog från start till studiens slut, 3-4 år efter operationen. Vi besökte familjerna i deras hem och mätte längd, vikt, midjemått samt fysisk aktivitet och stillasittande med accelerometer. Alla studiedeltagare fick även svara på ett antal frågeformulär som bland annat mätte kvinnornas och deras partners ätbeteende, depression, ångest, sömn, och för partners även kroppsuppfattning. Hos barnen mättes självkänsla, självbild och ätbeteende.

Tre till 4 år efter operation hade kvinnorna i genomsnitt minskat sitt BMI med 11.5 kg/m<sup>2</sup>, från BMI 39 till BMI 27.5. Partners till kvinnorna minskade i genomsnittligt sitt BMI från 31 till 30 under samma tidsperiod. Tre till 4 år efter kvinnans operation hade även barnen ändrat sitt BMI, antalet barn med fetma hade ökat från 5 till 10st men antalet överviktiga barn hade minskat från 20 till 15st. Sammanlagt hade 7 barn en positiv förändring från övervikt eller fetma medan 10 barn hade en negativ förändring. Eftersom vi inte hade någon kontrollgrupp kan vi inte veta hur BMI och vikt hade förändrats utan mammans operation, men det verkar som att en kvinnas gastric bypassoperation kan ha en påverkan på vikt hos flera i familjen.

Barnens självkänsla (oro över kropp och vikt, mätt med the Body Esteem Scale) och självbild (mätt med the Beck Self-Concept Inventory) minskade från innan mammans operation till 3-4 år efter operation. Detta kan bero på mammans operation men även delvis förklaras med en vanlig minskning i denna skala som brukar ses med ökad ålder hos barn. Ätbeteende verkade oförändrat.

Resultaten kan tänkas ha betydelse för kvinnan i valet att genomgå kirurgi, men bör undersökas närmare innan säkrare slutsatser kan dras.

## Ny webmetod för matvanor- Riksmaten Flex

Jessica Petrelius Sipinen, Eva Warensjö Lemming, Marianne Arnemo, Ninna Lundberg-Hallén, Ulla-Kaisa Koivisto Hursti, Anna Karin Lindroos

*Livsmedelsverket, Uppsala*

Idag saknas information om vad ungdomar i Sverige äter och därför ska undersökningen Riksmaten Ungdom göras läsåret 2016/2017. Riksmaten Flex (Flex) är en metod framtagen av Livsmedelsverket för att göra matvaneundersökningar bland barn och ungdomar på ett kostnadseffektivt och enkelt sätt. Det är en webbaserad metod där deltagaren kan registrera sina måltider på en responsiv hemsida, dvs. den fungerar på dator, platta och smarttelefon. På hemsidan kan deltagaren även fylla i enkäter angående sig själv och familjen, matvanor, skola och fritid mm. I Flex rapporteras intaget antingen dagen före (24-timmars recall) eller under samma dag (matdagbok). Till sin hjälp har man portionsbilder och portionsangivelser för ca 850 generella livsmedel, vilka är baserade på tidigare undersökningar, försäljningsstatistik och ungdomars smakpreferenser. I pilotundersökningen inför Riksmaten Ungdom har Flex testats och validerats bland drygt 230 deltagare från hela landet, vilket innefattar såväl storstadsregioner som mindre orter ute på landsbygden. Deltagarna har registrerat sitt intag för tre dagar (igår, idag och ytterligare en slumpvist vald dag) i Flex och besvarat enkätfrågor. Blod och urinprov har tagits samt vikt och längd mätts. I valideringsstudien har jämförelser gjorts mellan registreringarna och två 24-timmarsintervjuer. Preliminära resultat för deltagare med fullständiga data för dag 1 och 3 (Flex) och två intervjudagar (63 st.) visar att Flex ger något högre energiintag än 24-timmarsintervjuerna, men skillnaden är inte statistiskt signifikant ( $9110 \text{ kJ} \pm 2840$  respektive  $8170 \text{ kJ} \pm 2790$ ,  $p=0,06$ ). Intaget av frukt- och grönsaker skiljde sig inte mellan metoderna ( $225 \text{ g} \pm 149$  resp  $225 \text{ g} \pm 133$ ,  $p=0,98$ ). Resultaten från valideringsstudien kommer att analyseras vidare. Bland annat kommer intaget av fiber, fisk och frukt och grönsaker jämföras med alkylresocinoler, fettsyror resp karotenoider analyserat från blodprover. Metoden har tagits väl emot av deltagarna även om det varit svårt att få alla att registrera sin tredje dag.

## Järnstatus hos vuxna i Riksmaten-studien och barn i årskurs 5 och samband med kosten

**Eva Warensjö Lemming**, Wulf Becker, Cecilia Nälsén, Peter Ridefelt, Veronica Öhrvik, Natalia Kotova, Anna Karin Lindroos

*Avdelningen för Risk- och Nyttovärdering, Livsmedelsverket, Uppsala; PR Institutionen för Medicinska Vetenskaper, Klinisk kemi, Uppsala Universitet, Uppsala*

Järnbrist är den mest förekommande näringsbristsjukdomen i världen och förekommer i både industrialiserade och icke-industrialiserade länder. Speciellt unga kvinnor är utsatta för järnbrist och förekomsten av järnbrist varierar mellan 5-17 procent i industrialiserade länder. Järn lagras i kroppen som ferritin, ett intracellulärt protein. Plasma ferritin är direkt och positivt associerad med kroppens järndepåer. Syftet med studien är att undersöka järn-status, mätt som plasma ferritin, bland vuxna (18 till 80 år) och barn (11-12 år) och hur detta relaterar till kosten. Studiepopulationen bestod av 280 vuxna (150 kvinnor) och 211 barn (97 flickor) från två olika undersökningar genomförda av Livsmedelsverket. Information om matvanor samlades in med en självrapporterad och webbaserad registrering under 4 dagar, kallad Riksmaten-metoden. Ferritin analyserades med en chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) på Akademiska sjukhuset. Nivåerna av serum ferritin skiljde sig ( $p < 0,05$ ) mellan könen både bland vuxna och bland barn (kvinnor  $68.8 \pm 64 \mu\text{g/L}$ , män  $182 \pm 137 \mu\text{g/L}$ , flickor  $20.2 \pm 13.7 \mu\text{g/L}$  och pojkar  $24.9 \pm 15.4 \mu\text{g/L}$ ), men kostens innehåll av järn skiljde sig endast bland de vuxna. Plasma ferritin nivåer  $< 15 \mu\text{g/L}$  visar på järnbrist och detta fanns hos 15 procent av de vuxna kvinnorna ( $n = 22$ ) och 11 procent av barnen ( $n = 24$ ). Ferritin var positivt korrelerad till potatis ( $r = 0,21$ ;  $p < 0,001$ ), spannmål ( $r = 0,12$ ;  $p < 0,05$ ), korv ( $r = 0,14$ ;  $p < 0,05$ ), kött ( $r = 0,28$ ;  $p < 0,001$ ) och matfett på smörgås ( $r = 0,20$ ;  $p < 0,001$ ) samt negativt till mjölk, fil och yoghurt ( $r = -0,14$ ;  $p < 0,05$ ) bland de vuxna. Bland barnen var ferritinnivåer endast relaterat till intag av animaliska produkter ( $r = 0,16$ ;  $p < 0,05$ ) och intag av fjäderfä ( $r = 0,16$ ;  $p < 0,05$ ). Energi var positivt korrelerat med ferritin både bland barn och vuxna. Sammanfattningsvis var andelen individer med indikation på järnbrist i nivå med internationella data bland kvinnorna. Det är viktigt att barn som växer får i sig tillräckligt järn och studien visar att det finns vissa barn som inte får detta. Konsumtion av mat av animaliskt ursprung korrelerade med ferritin nivåer som förväntat.

Arbetet med järnstatus bland barn och vuxna i denna studie kommer att utvecklas och förfinas i vidare analyser.

## Hur restauranger i Sverige följer EUs informationsförordning 1169/2011

Rikard Åsgård och Bertil Orrby

*Astma- och Allergiförbundet, Box 17069, 104 62 Stockholm, rikard.asgard@astmaoallergiforbundet.se*

EUs informationsförordning 1169/2011 som fr.o.m. dec 2014 måste efterföljas i Sverige enligt Livsmedelsföreskrifterna LIVSFS 2014:4 innebär att restauranger, caféer och andra som serverar oförpackad mat måste kunna informera om 14 allergener i maten de serverar, antingen skriftligt eller muntligt. De måste även informera gästerna om att de kan fråga om innehållet i maten samt skaffa rutiner för hanteringen av maten som säkerställer att de kan ge gästen rätt information om innehållet i maten. För att skaffa ett kunskapsunderlag, se hur stor del av restauranger som följer förordningen samt att få djupare erfarenheter av medlemmarnas restaurangbesök genomfördes under tiden november 2015 till februari 2016 en enkätundersökning av Astma- och Allergiförbundet genom systemet Netigate.

72 medlemmar svarade på enkäten varav 11 % män och 88 % kvinnor med åldersfördelningen 28 % under 25, 59 % 26-50, 11 % 51-65 och 2 % över 65 års ålder. 48 % bor i storstad, 29 % i medelstor stad, 16 % på mindre ort och 7 % i glesbygd. På 65 % av restaurangerna fanns ingen skyltning om att restaurangerna informerar om allergimaten. 70 % gav inte någon information om allergimaten i meny, pärm, digitalt eller muntligt som förordningen föreskriver. 62 % av gästerna kände sig inte trygg med informationen om allergimaten, medan 24 % av de matallergiska gästerna som svarat på enkäten fick en reaktion av maten, i form av allergi eller överkänslighet, vid det rapporterade restaurangbesöket.

Vid de 72 restaurangbesök som ingick i undersökningen följde de flesta restauranger inte EUs informationsförordning om att informera om de 14 allergenerna i maten. 24 % av restaurangbesöken ledde till reaktioner mot maten, i form av allergi eller överkänslighet. Informationen om allergener i maten var spridd från dålig till mycket bra. Några valde att inte äta på restaurangen på grund av dålig information om allergener. Ungefär lika många restauranger hade dåligt som bra bemötande av den allergiska gästen.



## IDENTIFICATION OF FACTORS IMPACTING REPRODUCIBILITY AND QUALITY OF MICROBIOME PROFILE ANALYSIS

**Evgueni Doukhanine**, Anne Bouevitch, Lindsay Pozza, Carlos Merino

*DNA Genotek, Ottawa, Canada*

### Objectives

Recent discoveries relating the gut microbiome to health and disease have stimulated interest in biomarker discovery and therapeutic development. The study of the host-microbiome interaction relies on the proper and reproducible representation of the microbial profile of the donors. To assess factors which may introduce variability in the microbial profile, pre-analytical (i.e. biological and environmental) conditions, as well as analytical conditions (i.e. DNA extraction and sequencing) were evaluated for their impact on reproducibility among replicates. We observed that all three factors impact the assessment of the donors' microbiome as measured by Bray-Curtis distance and Shannon Diversity Index.

### Results

*Pre-analytical conditions:* Exposure of fecal samples to environmental conditions has a significant impact on the microbiome profile. As such, we identified changes in several taxa prior DNA extraction. Using normalized sequencing read counts; we identified taxonomic units that were significantly changed during sample transport when compared to samples processed immediately. Taxa changes were not consistent between donors; therefore, they cannot be accounted for algorithmically. Use of OMNIgene•GUT stabilization technology significantly reduced microbiome changes of samples during transport and storage prior to processing.

*Extraction conditions:* Methods of extraction can vary largely between labs. We evaluated differences between bead beating and bead vortexing methods. By measuring Bray-Curtis distance and Shannon Diversity Index values between identical samples that underwent two different extraction methods, we found significant difference in microbiome profiles. In addition, we identified that the stabilization/homogenization capabilities of OMNIgene•GUT significantly reduced the difference seen between extraction methods as compared to unstabilized samples.

*Sequencing conditions:* PCR based sequencing also significantly contributed to sample variability as observed by sequencing multiple aliquots of the same sample extraction; a limitation of current technologies.

### Conclusions

Accurate measurement of a host microbiome clearly requires standardization in methods of sample handling and extractions. In conclusion, our data illustrates that of the above factors which contribute to microbiome variability, unbiased biospecimen stabilization is by far the most critical. Furthermore, OMNIgene•GUT stabilization/homogenization technology effectively mitigates these risks, enabling accurate representation of the in vivo biology.

### Keywords

Gut microbiome, variability, sample stabilization, sequencing, reproducibility