



HPV-ANALYSER

ERSÄTTER STOR DEL AV CYTOLOGIN I NYA VÅRDPROGRAMMET FÖR

CERVIXSCREENING

Det nya nationella vårdprogrammet för att förebygga livmoderhalscancer innebär stora förändringar jämfört med tidigare rutiner för cervixscreeningen. För kvinnor mellan 30 och 64 år kommer primär cytologisk undersökning av cellproverna att ersättas med primära HPV-analyser, och endast vid HPV-positivitet görs cytologi. Vid cirka 41 års ålder utförs dock både HPV-analys och cytologi.

– Med det nya screeningprogrammet räknar vi med att varje år kunna förebygga ytterligare mellan 50 och 100 fall av livmoderhalscancer i Sverige, säger Joakim Dillner, professor i infektionsepidemiologi och forskningschef på Karolinska Universitetslaboratoriet i Solna.

Cervixscreening, det vill säga massundersökningar med cellprovstagning från livmoderhalsen och efterföljande cytologisk undersökning, tillhör de allra mest framgångsrika metoderna för att förebygga cancer. I mitten av 1960-talet diagnostiserades i Sverige varje år cirka 1 000 fall av livmoderhalscancer, men huvudsakligen tack vare cervixscreeningen har incidensen ungefär halverats. Tio tusentals cancerfall har sedan 1970-talet förhindrats, och ännu fler skulle kunna förebyggas med ökat deltagande i screeningprogrammet. De allra flesta fall av livmoderhalscancer i vårt land drabbar kvinnor som inte deltar i regelbunden cervixscreening.

Mellan år 2000 och 2014 diagnostiserades i Sverige varje år i genomsnitt 460 fall av cervixcancer och 150 kvinnor avled i sjukdomen. De senaste åren har det dock skett en ökning, och år 2015 upptäcktes enligt Socialstyrelsens senaste statistik 563 nya fall, den högsta siffran sedan 1980-talet.

– Vi vet inte exakt vad denna ökning beror på, men vi håller på att analysera detta, säger Björn Strander, gynekolog och överläkare, Regionalt cancercentrum väst och ordförande för den arbetsgrupp som har utarbetat det nya vårdprogrammet för cervixcancerprevention. En hypotes är att allt fler kvinnor deltar i screeningen och att vi därför upptäcker fler prevalenta fall av cervixcancer i tidigare stadier, så kallad ”downstaging”.

– En annan hypotes är att förekomsten av humana papillomvirus, HPV, i befolkningen har ökat och att risken att drabbas av HPV-infektion därför har blivit större, fortsätter Björn Strander.



”HPV-vaccinering och det nya vårdprogrammet för cervixscreening är viktiga delar i den förebyggande strategin för att minimera antalet fall av livmoderhalscancer”, säger Björn Strander, gynekolog och överläkare, Regionalt cancercentrum väst.

Eftersom inte alla kvinnor deltar i screeningen och cytologi-screeningens sensitivitet inte heller är 100-procentig så skulle det kunna vara en förklaring till det ökade antalet fall.

PRIMÄRA HPV-ANALYSER I NYA VÅRDPROGRAMMET

Sommaren 2015 utfärdade Socialstyrelsens nya rekommendationer för cervixscreening i Sverige¹. Med dessa som grund har Regionala Cancercentrum i samverkan, RCC, utarbetat ett vårdprogram² med detaljerade råd om hur landstingen ska implementera dessa rekom-

mendationer. Det digra vårdprogrammet som fastställdes av RCC den 12 januari 2017 innehåller förutom screeningrekommendationerna råd om exempelvis HPV-vaccinationer och utredning av cervixdysplasi, men det omfattar inte handläggning av invasiv cancer.

Den största förändringen i vårdprogrammet gäller den tidigare allmänna cytologiska undersökningen av cellproverna från livmoderhalsen. För majoriteten av kvinnorna görs nu istället primär analys för förekomst av HPV, och först om detta är positivt görs efterföljande cytologisk analys. Man vet att infektioner med olika typer av HPV orsakar så gott som alla fall av livmoderhalscancer. I en ofta citerad internationell studie³ där man noggrant analyserade detta kom man fram till att förekomsten av HPV-virus i cervixcarcinom är 99,7 procent.

Det finns mer än hundra olika typer av HPV och nya typer upptäcks successivt⁴. Man räknar med att cirka 80 procent av alla sexuellt aktiva kvinnor någon gång under sitt liv får en HPV-infektion, varav de allra flesta är helt harmlösa och läker ut av sig själva. Men vissa typer, exempelvis HPV16 och HPV18, kan leda till ihållande infektioner och allvarliga cellförändringar.

Numera finns en mängd olika tekniker för att detektera de drygt dussintalet typer av HPV som man vet ligger bakom de allra flesta fall av cervixcancer. Flera stora internationella randomiserade undersökningar har också visat att primär HPV-screening med eventuellt efterföljande cytologi är en mer effektiv strategi för att förebygga cervixcancer än enbart cytologisk undersökning⁵.



”Primär HPV-testning kommer att öka känsligheten vid cervixscreening, och med det nya programmet räknar vi med att ytterligare 50–100 fall av livmoderhalscancer kan förhindras varje år”, säger Joakim Dillner, professor i infektionsepidemiologi och forskningschef på Karolinska Universitetslaboratoriet i Solna. Foto: Ulf Sirborn.

”Numera finns en mängd olika tekniker för att detektera de drygt dussintalet typer av HPV som man vet ligger bakom de allra flesta fall av cervixcancer.”

30–64 ÅR – STOR FÖRÄNDRING

För kvinnor mellan 23 och 29 år rekommenderas dock fortfarande enbart cellprovtagning med analys för cytologi vart tredje år. Den främsta anledningen är att det inte finns något vetenskapligt stöd för att HPV-test är en mer effektiv metod än cellprov för cytologi i denna åldersgrupp. Dessutom är det en mycket hög andel av kvinnor 23–29 år som bär på HPV, och eftersom HPV-infektioner oftast är självläkande för personer under 30 år finns hög risk för överdiagnostik med åtföljande onödig oro om primära HPV-tester skulle användas i denna åldersgrupp.

Kvinnor mellan 30 och 49 år bör däremot, enligt Socialstyrelsens rekommendationer, vart tredje år erbjudas cellprovtagning med primär analys för

HPV. För denna åldersgrupp är det belagt att HPV-test, jämfört med primär cytologisk analys, har en ökad cancerförebyggande effekt förutsatt att HPV-positiva kvinnor följs upp med cytologisk analys för att upptäcka eventuella cellförändringar.

För de kvinnor som kallas vid cirka 41 års ålder rekommenderas dessutom att man primärt gör både HPV-test och cytologi. Denna dubbelkontroll görs i syfte att fånga upp även de få fall av cellförändringar som skulle kunna uppstå utan en aktiv HPV-infektion och också för att inte ens de bästa screeningteknikerna för HPV har 100-procentig sensitivitet.

Eftersom studier har visat cancerförebyggande effekt av cervixscreening även hos kvinnor över 60 år höjs åldersgränsen för deltagande till 64 år. Även för kvinnor mellan 50 och 64 år rekommenderas övergång till primär HPV-testning istället för primär cytologi. Eftersom livmoderhalscancer i denna åldersgrupp är mindre vanligt

och resultatet av ett HPV-test ger längre varaktighet än cytologi rekommenderas ett längre provtagningsintervall, vart sjunde år, för kvinnor mellan 50 och 64 år.

För de inbjudna kvinnorna innebär det rekommenderade screeningprogrammet sammanlagt tolv provtagningsstillfällen, vid 23, 26, 29, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 50, 57 samt 64 års ålder. Det är lika många provtagningar som tidigare, men nu ersätter HPV-test primär cytologi vid åtta av de tolv tillfällena. Under en övergångsperiod kommer något fler prover att tas. Sju års intervall förutsätter att kvinnor har undersökts för HPV i det föregående provet. Socialstyrelsen förutsätter också att cellproverna tas med vätskebaserad teknik. Med den metoden går det att

analysera både HPV och cytologi på samma prov, och det är också möjligt att spara ett cellprov för att göra fler analyser på det.

”BRA METOD BLIR ÄNNU BÄTTRE”

Eftersom cytologisk screening är beroende av manuell granskning av preparaten varierar kvaliteten på analyserna med bland annat cytodagnostikernas kompetens. Enligt Socialstyrelsen har skyddseffekten mot att insjukna i livmoderhalscancer varit knappt 90 procent för de kvinnor i Sverige som regelbundet deltagit i cytologisk screening, och deras risk att dö i cervixcancer har reducerats ännu mer.

– Vi har alltså haft en bra metod som nu kommer att ersättas av ett ännu effektivare screeningprogram, kommenterar Joakim Dillner, professor i infektionsepidemiologi och forskningschef på Karolinska Universitetslaboratoriet i Solna. HPV-testning har i många år använts i forskning och sjukvård, men det är först på senare år som vi fått data från internationella randomiserade studier som klart visar att HPV-screening är effektivare än cytologi för att förebygga cervixcancer. Screening med enbart HPV-testning har en känslighet på cirka 95 procent, men med den kompletterande cytologin beräknas sensitiviteten bli 97–98 procent.

– Med det nya screeningprogrammet kommer varje år ytterligare 50–100 fall av livmoderhalscancer att förhindras i Sverige, fortsätter Joakim Dillner. Dessutom förväntas det nya programmet i stort sett bli ekonomiskt neutralt; de ökade kostnaderna för HPV-tester kompenseras genom minskade kostnader för cytologi. Antalet gynekologiska utredningar med kolposkopi och biopsi beräknas öka med 11 procent, men detta resulterar också i en bättre skyddseffekt mot cervixcancer än tidigare. Vi tror dock inte att det nya programmet kommer att leda till överdiagnostik av cellförändringar.

ÖKAD ORO AV HPV-POSITIVT PROV?

Hittills har kvinnor som deltagit i den cytologiska cervixscreeningen antingen fått beskedet att cellprovet var normalt eller att det innehöll cellförändringar som bör undersökas vidare med kolpo-

skopi och biopsi. I och med de nya rutinerna med primärt HPV-test och efterföljande cytologi vid HPV-positivitet kommer många kvinnor nu att få ett tredje slags besked, nämligen att de är HPV-positiva men inte har några cellförändringar. Kommer det att skapa onödig oro?

– Det är en risk som inte ska föringas, men erfarenheterna hittills talar för att bra information före och efter provtagningen kan minska sådan oro, svarar Joakim Dillner. I Region Stockholm-Gotland började vi redan år 2014 med primär HPV-testning för hälften av kvinnorna i de aktuella åldersgrupperna. Det visade sig då att många kvinnor som var HPV-positiva men cytologi-negativa hörde av sig med frågor; den barnmorska som tidigare hade avsatt en timmes telefontid för detta måste utöka telefontiden till cirka fyra timmar per dag.

– Efter något år minskade dock dessa telefonsamtal avsevärt, så det verkar som om informationsbehovet då hade mätts, vilket är ett gott betyg till sjukvården. Det är dock viktigt att de landsting som är på gång att starta med primär HPV-screening enligt vårdprogrammet tänker på att åtminstone i början avsätta extra resurser för telefonservice och annan information, säger Joakim Dillner.

KVALITETSKRAV PÅ HPV-ANALYSERNA

Förutom i Stockholm har även exempelvis Region Örebro län och Region Skåne redan påbörjat HPV-tester enligt de nya rekommendationerna för cervixscreening. Under år 2015 gjordes cirka 130 000 HPV-analyser i Sverige, varav ungefär hälften i Stockholm. När det nya vårdprogrammet har implementerats i alla landsting kommer flera hundratusen HPV-tester att göras varje år.

Det finns en mängd olika tekniker för att detektera och analysera HPV-virus, och i Socialstyrelsens rekommendationer och i vårdprogrammet specificeras en rad krav som testerna bör uppfylla. Testet bör till exempel påvisa alla de 13 HPV-typer som av WHO/IARC har klassats som etablerat carcinogena (carcinogen klass I) eller troligen carcinogena (carcinogen klass II). Sensitivitet och specificitet

”Med det nya screeningprogrammet kommer varje år ytterligare 50–100 fall av livmoderhalscancer att förhindras i Sverige.”

för testet bör vara i enlighet med internationell kravspecifikation, och analysen bör endast utföras på ett SWEDAC-ackrediterat laboratorium.

I vårdprogrammet konstateras att de randomiserade prövningar som hittills påvisat ökat skydd mot cervixcancer⁵ har utförts med test som detekterar HPV-DNA. Eftersom den tekniska utvecklingen går snabbt och det finns ett stort antal HPV-tester med liknande prestanda krävs dock inte att exakt samma HPV-test som använts i prövningarna också ska användas i screeningen. Man betonar att värdet av nya metoder bör grunda sig på oberoende systematisk vetenskaplig analys och att en teknik skulle kunna anses likvärdig om den uppfyller vissa ekvivalenskriterier och dessutom är utvärderade i longitudinella studier, över ett screeningintervall.

Socialstyrelsen preciserar dock inte vilka tester som i dagsläget kan rekommenderas. I en översiktsartikel från 2015⁶ listas däremot ett tiotal HPV-tester som helt eller huvudsakligen anses uppfylla kraven för att kunna användas i primär cervixcancerscreening, enligt kriterier som definierades av en internationell expertgrupp år 2009. De tester som nämns i artikeln är Hybrid Capture 2, GP5+/6+ PCR, Cobas 4800, Abbot RealTime, PapilloCheck, BD Onclarity, HPV-Risk, Cervista, MALDI-TOF och Aptima.

ANALYSER MED DNA RESPEKTIVE mRNA

Två av de tekniker för HPV-analys som hittills tillhör de vanligaste i Sverige är Cobas, som påvisar HPV-DNA, och Aptima, som istället detekterar HPV-mRNA. Den förstnämnda tekniken används bland annat i Region Stockholm-Gotland och den sistnämnda bland annat i Region Skåne och Region Örebro län.

Kontinuerligt uttryck av onkgenerna E6 och E7 i högrisk-HPV anses vara nödvändigt för att cervixdysplasi ska ut-

vecklas och vidmakthållas⁷. DNA-baserade tester detekterar vissa HPV-specifika DNA-sekvenser, medan mRNA-baserade mäter uttrycket av E6/E7. Eftersom E6/E7-mRNA bara uttrycks när HPV-infektionen är aktiv och transkriptnivåerna anses öka när cellförändringarna progredierar är mRNA-tester, åtminstone i teorin, mer specifika än DNA-tester, som inte diskriminerar mellan vilande och aktiv HPV-infektion⁸.

Det första HPV-test som den amerikanska läkemedelsmyndigheten FDA godkände för primär cervixscreening i USA är DNA-testet Cobas. I en sammanställning av 62 originalartiklar där man jämfört olika HPV-tester⁸ konstateras att kliniska prestanda för Cobas och mRNA-testet Aptima är ekvivalenta. Man hänvisar också till två studier^{9,10} som visat att användning av mRNA-testet jämfört med DNA-testet Hybrid Capture 2 leder till cirka 20 procent färre remitteringar till kolposkopi, vilket kan tyda på att det har högre specificitet och ger färre falskt positiva svar. Författarnas slutsats är att mRNA-testet Aptima för närvarande är lämpligt för primär HPV-testning i screeningprogram som har tre års intervall. Man betonar dock att det behövs ytterligare data om mRNA-testets tillförlitlighet på längre sikt.

– De flesta studier tyder på att de bästa HPV-testen kvalitetsmässigt är tämligen likvärdiga, kommenterar Joakim Dillner. Den vetenskapliga dokumentationen är hittills betydligt större för DNA-baserade än för mRNA-baserade HPV-tester. Genom longitudinella randomiserade studier med invasiv cervixcancer som slutpunkt har man bland annat kunnat beräkna testens så kallade negativa prediktiva värden, det vill säga den andel av de som testas som negativa som verkligen är negativa. Sådana långtidsdata har ännu inte publicerats för mRNA-tester, men enligt tvärsnittsstudier verkar mRNA-

testet Aptima vara ungefär lika bra som de bästa DNA-testerna.

I det nya nationella vårdprogrammet² skriver man att det inom kort väntas komma resultat från två femårsuppföljningar med negativa prediktiva värden även för mRNA-tester. Enligt ett abstract som presenterades vid EUROGIN-konferensen 2016 i Salzburg (Thomas Iftner et al) visade sig mRNA-testet Aptima ha jämförbar sensitivitet, högre specificitet och liknande 5–6-års negativt prediktivt värde, detta jämfört med DNA-testet Hybrid Capture 2. Dessa resultat har dock ännu inte publicerats.

”VIKTIGT UPPRÄTHÅLLA CYTOLOGISK KOMPETENS”

Även Anders Hjerpe, professor emeritus vid Institutionen för laboratoriemedicin, Karolinska Universitetssjukhuset, anser att det endast är små kvalitetskillnader mellan de bästa HPV-testerna.

– De har olika fördelar och nackdelar, men alla har hög sensitivitet och specificitet. Fabrikanterna vill gärna framhålla det egna testets fördelar, och det finns en risk för att vissa studier som pekar i ”fel” riktning inte publiceras. Men oavsett vilket HPV-test som

används så kommer det nya screeningprogrammet att leda till ökad säkerhet och mer stringent diagnostik jämfört med enbart cytologisk undersökning. I och med dubbelkontrollen med både HPV-test och cytologi vid 41 års ålder hoppas vi fånga upp även de få falskt negativa fall som kan slinka igenom primära HPV-tester, säger Anders Hjerpe.

I Region Örebro län och Region Skåne har man för den primära HPV-screeningen valt mRNA-testet Aptima istället för ett DNA-baserat test.

– Det beror delvis på att vi redan hade en analysplattform som passar väl för detta test, säger Gisela Helenius, molekylärbilog och driftchef på Laboratoriemedicinska kliniken, Universitetssjukhuset Örebro, där man årligen utför cirka 20 000 HPV-tester. Vi anser att mRNA-testet lämpar sig bra för primär HPV-screening och att det, i och med att det endast detekterar aktiv HPV-infektion, har hög specificitet och därmed kan minska behovet av ytterligare undersökningar. Men betydligt viktigare än vilket HPV-test som används är att försöka få fler kvinnor att överhuvudtaget delta i cervixscreeningen.



”Oavsett vilket HPV-test som används så kommer det nya screeningprogrammet att leda till ökad säkerhet och mer stringent diagnostik jämfört med enbart cytologisk undersökning”, säger Anders Hjerpe, professor emeritus vid Institutionen för laboratoriemedicin, Karolinska Universitetssjukhuset.



”I Region Örebro län, där vi gör cirka 20 000 HPV-tester per år, har vi valt ett mRNA-test som passar bra för vår analysplattform”, säger Gisela Helenius, molekylärbilog och driftchef på Laboratoriemedicinska kliniken, Universitetssjukhuset Örebro. Foto: Lars-Göran Jansson.

Även Ola Forslund, docent vid Avdelningen för medicinsk mikrobiologi, Institutionen för laboratoriemedicin vid Lunds universitet, anser att mRNA-testet håller god kvalitet och har potential att minska överdiagnostik och bidra till färre onödiga kolposkopier. Han är positiv till det nya vårdprogrammet men betonar att det är viktigt att övergången till primär HPV-screening inte medför att den cytologiska kompetensen försämrats.

– Även i fortsättningen kommer kvaliteten på cytologin att vara avgörande för diagnostiken av cellförändringar och cervixcancer, och kompetensen måste upprätthållas även när antalet cytologiundersökningar minskar. Hittills har screening med enbart cytologi missat cirka 10–20 procent av cellförändringarna, och på vissa håll i landet har det avslöjats fall med undermålig cytologisk verksamhet som krävt eftergranskning av ett stort antal prover.

– För att upprätthålla kvaliteten krävs att varje cytodiagnostiker årligen granskar tillräckligt många prover, fortsätter Ola Forslund. Det är också viktigt att följa upp om den primära HPV-screeningen kommer att påverka diagnostiken av eventuella cellförändringar. Kommer till exempel antalet prover som bedöms innehålla allvarliga cellförändringar att öka på grund av att cytodiagnostikerna redan vet att kvinnan är HPV-positiv?

”VIKTIGAST ATT ÖKA DELTAGANDET”

Björn Strander påpekar att det mest grundläggande kravet på HPV-testerna är sensitiviteten, det vill säga att det test som används är känsligt och verkligen detekterar de carcinogena HPV-typerna:

– Det är naturligtvis också bra om specificiteten är hög så att kvinnor inte oroas i onödan och behöver genomgå ytterligare undersökningar, men medicinskt sett är det viktigare att testet släpper igenom så få falskt negativa som möjligt. Och specificiteten upprätthålls genom den kompletterande cytologiska analysen.

Även Björn Strander betonar att det väsentligaste inte är vilken teknik för HPV-test som används utan att försöka få så många kvinnor som möjligt att delta i cervixscreeningen. Eftersom de flesta kvinnor som drabbas av livmo-

derhalscancer inte har gått på de gynekologiska cellprovskontrollerna är förbättrat deltagande det som mest effektivt kan minska antalet cancerfall. I det nya vårdprogrammet² rekommenderas en rad olika åtgärder för att underlätta och stimulera deltagandet, bland annat att kvinnor som uteblir bör få årliga påminnelser (omkallelser) och att kvinnor som inte deltagit under lång tid bör kontaktas per telefon och erbjudas hjälp att boka tid eller per brev erbjudas självtest för HPV.

Björn Strander påpekar också att HPV-screeningen bara är en del i den förebyggande strategin mot cervixcancer.

– Vi hoppas att vaccinationsprogrammet mot HPV också ska kunna minska incidensen. Ungefär hälften av de kvinnor som nu är 23 år och kallas till sin första screening med cellprovtagning är HPV-vaccinerade, och denna andel ökar. Cervixcancer är ovanligt i så låg ålder, men när dessa kvinnor är i 30–35-årsåldern räknar vi med att få de första indikationerna på hur effektivt vaccination mot HPV är för att förebygga cancer i livmoderhalsen, säger Björn Strander.



”Eftersom kvaliteten på de cytologiska undersökningarna även i fortsättningen kommer att vara avgörande för diagnostiken av cellförändringar och cervixcancer är det viktigt att den cytologiska kompetensen kan upprätthållas”, säger Ola Forslund, docent vid Avdelningen för medicinsk mikrobiologi, Institutionen för laboratoriemedicin vid Lunds universitet.

REFERENSER

1. Screening för livmoderhalscancer. Rekommendation och bedömningsunderlag. Socialstyrelsen juni 2015.
2. Cervixcancerprevention, Nationellt vårdprogram och Konsekvenser av införande av Socialstyrelsens rekommendationer gällande screening juni 2015. Rekommendationer utarbetade av nationell arbetsgrupp och fastställda av Regionala cancercentrum i samverkan 2017-01-12 (234 s).
3. Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FC, Kummer JA, Shah KV et al: Human Papillomavirus is a Necessary Cause of Invasive Cervical Cancer Worldwide; *Journal of Pathology* 189:12-19, 1999.
4. Bzhalava D, Guan P, Franceschi S, Dillner J, Clifford G. A systematic review of the prevalence of mucosal and cutaneous human papillomavirus types. *Virology* 445 (2013), 224-231.
5. Ronco G, Dillner J, Elfstrom KM, Tunesi S, Snijders PJ, Arbyn M, et al. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow up of four European randomised controlled trials. *Lancet* 2014; 383 (9916): 524-32
6. Arbyn M, Snijders PJ, Meijer CJ, Berkhof J, Cuschieri K, Kocjan BJ, Poljak M. Which high-risk HPV assays fulfil criteria for use in primary cervical cancer screening? *Clin Microbiol Infect*, 2015; 21 (9): 817-26
7. Johansson H, Bjelkenkrantz K, Darlin L, Dillner J, Forslund O. Presence of high-risk HPV mRNA in relation to future high-grade lesions among high-risk HPV DNA positive women with minor cytological abnormalities. *PLoS One* 10 (2015) e0124460.
8. Haedicke J, Iftner T. A review of the clinical performance of the Aptima HPV assay. *Journal of Clinical Virology* 76 (2016), S40-S48
9. Sauter JL, Mount SL, St John TL, Wojewoda CM, Bryant RJ, Leiman G. Testing of integrated human papillomavirus mRNA decreases colposcopy referrals: could a change in human papillomavirus detection methodology lead to more cost-effective patient care? *Acta Cytol* 58 (2014), 162-166.
10. Iftner T, Becker S, Neis KJ, Castanon A, Iftner A, Holz B et al. Head to-head comparison of the RNA-based Aptima Human Papillomavirus (HPV) Assay and the DNA-based hybrid capture 2HPV test in a routine screening population of women aged 30 to 60 years in Germany. *J Clin Microbiol* 53 (2015), 2509-2516.

ANDERS NYSTRAND
LEG LÄKARE OCH FRILANSSKRIBENT

