

Parasitövervakning i ekologiska fårbesättningar

Projektansvarig: Johan Höglund, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap (BFV), SLU.

Medsökande: Katarina Gustafsson, Gård & Djurhälsan, Länghem.

Sammanfattning

Parasitangrepp hos får orsakar omfattande välfärds- och hälsoproblem med produktionsförluster som följd. Detta gäller särskilt stora magmasken *Haemonchus contortus* som är en högpato-gen blodsugande rundmask som sprids via larver på betet och sedan med åtföljande snabb uppförökning i djuren. Vid påvisad förekomst rekommenderas därför i regel avmaskning. I projektet har vi utvärderat en risk/evidensbaserad metod för parasitövervakning för att kunna ta väl avvägda beslut om avmaskning i ekologiska besättningar. Först studerades infektionsdynamiken hos olika åldersgrupper i en ekologisk besättning där vi även jämförde resultat mellan individuella prover och samlingsprover. Även mikroskopisk och molekylär diagnostik jämfördes. Därefter testades metoden som bygger på att cirka 10% av djuren undersöks. Resultaten bekräftar att lämpliga tidpunkter för parasitundersökning av tackorna är inför betessläpp och av lammen framför allt kring avvänjningen och att angrepp med stora magmasken är vanligt förekommande. Sammanlagt 19 ekologiska fårbesättningar undersöktes med den besättningsanpassade provtagningsmetoden. Stora magmasken hittades då med mikroskopi i 42% av tackgrupperna och hos 25% av lammgrupperna på de undersökta gårdarna. Endast i två besättningar hittades parasiten hos både tackorna och lammen, vilket indikerar att de insatta kontrollåtgärderna i de flesta fall fungerade väl. Bland de djurgrupper som var haemonchus-positiva ökade chansen att påvisa stora magmasken med 50% med utökad undersökning. Det var hög överensstämmelse mellan de båda analysmetoderna (mikroskopi och ddPCR), även den molekylära analysen var känsligare än den ursprungliga mikroskopiska undersökningen. I de flesta besättningar kombinerade avmaskning med beteshygien och i allmänhet med ett gott resultat. Sammanfattningsvis har vi validerat en provtagningsstrategi och ett nytt diagnostiskt verktyg som kan användas för att med hög precision bedöma infektionsstatus med stora magmasken genom undersökning av träckprov. Utfallet av diagnostiken kan sedan ligga till grund för beslut om avmaskning. Projektet kommer på så sätt att bidra till ökad välfärd, produktivitet och lönsamhet i ekologisk lammproduktion.

Summary

Parasite infections in sheep cause extensive welfare and health problems with production losses as a result. This is especially true for the barber pole worm *Haemonchus contortus*, a blood-sucking nematode, which spreads via larvae on pasture and then is rapidly propagated in the host animals. Therefore, deworming is usually recommended in case the parasite is diagnosed. In the project, we evaluated an evidence-based method for parasitic surveillance in order to be able to make founded decisions about worming in organic herds. First, the infection dynamics of different age groups were studied in an organic herd where we also compared outcome using individual and pooled samples. Subsequently, a sampling strategy was tested, which is based on examination of about 10% of the animals in the herds. Microscopic and molecular diagnostics were also compared. The results confirm that suitable time points for parasitic examination are before turn-out of the ewes and in the lambs around weaning. A total of 19 organic sheep herds were examined using this flock size-adapted

sampling strategy. In these herds *H. contortus* was found by microscopy in 42% of the ewe groups and in 25% of the lamb groups in the farms surveyed. Only on two farms was the parasite found in both the ewes and lambs, indicating that the control measures used worked well in most cases. Among the animal groups that were haemonchus-positive using microscopy, the chance of finding *H. contortus* increased by 50% with extended sampling protocol. Although there was high agreement between the two diagnostic methods (microscopy and ddPCR), the molecular analysis was more sensitive. Most, but not all of the herds moved the animals between different paddocks and dewormed them with ivermectin with apparently good results. In summary, we have validated a sampling strategy and a novel molecular diagnostic tool that can be used to assess the infection status of *Haemonchus contortus* with high precision. The outcome of the diagnostics can then form the basis for a decision on deworming. In this way, the project will contribute to increased welfare, productivity and profitability in organic lamb production.

Bakgrund

Kännetecknande för svensk ekologisk lammproduktion är höga krav på djurskydd och en låg användning av avmaskningsmedel (anthelmintika). Samtidigt är det erkänt svårt att bedriva betesbaserad lammproduktion utan att någonsin avmaska djuren. Erfarenheter från ekologiska fårgårdar visar också att inälvsparasiter är vanligt förekommande och i synnerhet angrepp av olika mag- och tarmmaskar. Bland dessa kan i synnerhet den blodsugande stora magmasken (*Haemonchus contortus*) ställa till med problem både hos växande lamm och tackor. Men även andra maskar, som exempelvis stora leverflundran (*Fasciola hepatica*), lilla magmasken (*Trichostrongylus axei*) och *Nematodirus battus* kan orsaka sjuklighet. Angrepp av övriga maskinfektioner, med undantag av massförekomst med den mellanstora magmasken (*Teladorsagia circumcincta*), anses normalt sett som ett mindre problem. Det finns därför behov av att med hög precision ta reda på vilka maskarter som infekterar djuren. För att få avmaska inom ekologisk produktion är det även ett krav att först ta reda på om djuren är infekterade och i behov av behandling.

Maskinfektioner är endemiska parasitsmittor som sprids under betesperioden med ägg som finns i djurens träck. Äggen utvecklas därefter till infektionsdugliga larver som finns i betesgräset. För att motverka uppbyggnad av höga smittryck är det viktigt att minska parasiternas äggutskiljning genom att kontrollera intaget av parasiter. Även om detta är möjligt, exempelvis genom att undfly eller minska parasitförekomsten genom olika beteshygieniska strategier, har det visat sig vara en svårframkomlig väg att hålla parasitsmittan på en oskadlig nivå utan att överhuvudtaget avmaska djuren. Samtidigt är det väl känt att parasiter snabbt kan utveckla resistens mot de läkemedel som man avmaskar med och som normalt släcker parasiterna äggutskiljning. Detta gäller särskilt stora magsmasken som numera i vissa besättningar överlever efter behandling med de två preparatgrupper (fenbedazol och ivermectin) som finns registrerade mot mag- och tarmmaskar hos får i Sverige. Även om det svenska resistensläget är bättre än i många andra länder med mer omfattande fårproduktion, har det visat sig att situationen förvärrats under senare år. För att motverka denna utveckling är det viktigt att inte avmaska djuren i onödan. I ekologiska

besättningar är det dessutom inte tillåtet att avmaska djuren utan att ta prover och påvisa ett behov av behandling.

Projektets övergripande mål var att undersöka och utvärdera en evidensbaserad övervakningsmetod för riktad kontroll av fårparasiter även avsedd för ekologiska besättningar. Metoden bygger på att avmaskning utförs, men endast efter konstaterat behov såsom vid förekomst av stora magmasken som är det dominerande problemet. Fördelen är att tillvägagångssättet accepteras enligt regelverk för ekologisk produktion i Sverige. Det antas även minska risken för selektion för anthelmintikaresistens.

Material och metoder

Provtagning

För att undersöka dynamiken hos parasiternas äggutskiljning insamlades data vid tre tillfällen från 40 tackor (inför betessläpp) och 40 lamm (kring avvänjning och vid installning) i en ekologisk fårbesättning i Västergötland med cirka 200 tackor (Gård A). Individuella träckprover togs från samma individer vid de olika provtagningstillfällena och placerades i lufttäta blixtlåspåsar där luften pressades ut innan de förseglades och skickades till Vidilab AB (Enköping). Efter ankomst till laboratoriet förvarades proverna under högst ett dygn i kylskåp innan beredning och efterföljande mikroskopisk analys (se nedan). Proverna undersöktes dels individuellt, dels efter pooling från fyra grupper om 10 djur vardera. Dessutom sattes larvodlingar som undersöktes på SLU med en molekylär metod (se nedan).

Därefter insamlades träckprover från 19 ekologiska fårbesättningar med mellan 72 och 210 tackor (Gårdsstudien). Gårdarna rekryterades slumpmässigt med hjälp av Gård & Djurhälsans medlemsregister enligt följande inklusionskriterier; i) besättningar med ≥ 70 lammande tackor, och ii) ingen avmaskning inom sex månader före första provtagningen. Efter avslutad provtagning fyllde djurägarna i ett webbaserat frågeformulär (Netigate I) med 15 obligatoriska frågor om gårdens struktur och skötselrutiner och 32 slutna eller öppna frågor om avmaskningsrutiner i besättningen.

I samtliga besättningar samlades träck från cirka 10% av djuren, vid två tillfällen. Dels från tackorna i anslutning till betessläpp, och dels från lammen när de varit på bete under minst 6 veckor. I laboratoriet tillverkades för mikroskopisk analys mellan tre och fyra tripletter per gård och provtagningstillfälle, genom noggrann blandning av 3 g träck från tre djur vardera. Resterande träck placerades i frys för DNA analys (se nedan). Efter avslutad parasitundersökning jämfördes resultaten från de olika analyserna.

Parasitundersökning

Samtliga träckprover undersöktes mikroskopiskt med McMaster-teknik enligt Ljungström et al. (2018). Analysen omfattade dels räkning av antalet parasitägg per gram träck (EPG) där provsvaren delades in i antal trichostrongylida ägg exklusive *Chabertia* / *Oesophagostomum*, och *Nematodirus* spp. som räknades separat baserat på äggens karakteristiska form och utseende. Bland trichostrongyliderna bedömdes även andelen *H. contortus* och *Trichostrongylus axei*. Även förekomst av bandmask, *Moniezia expansa* och oocystor

(koccidier) noterades. Från samlingsproverna sattes sedimentationsprover för undersökning av stora leverflundran, *Fasciola hepatica*.

I den molekylära undersökningen extraherades DNA dels från larvkulturer, dels från tinad träck. Förekomst av *Haemonchus* och *Teladorsagia* analyserades sedan med droplet digital (dd)PCR teknik där det totala antalet genkopior av respektive art kvantifieras i förhållande till den totala mängden parasit-DNA i provet (för detaljer se Elmahalawy et al. 2018).

Resultat

De mikroskopiska fynden från Gård A redovisas i tabell 1. Eftersom samtliga tackor utskilde rikligt med nematodägg, inklusive ägg från stora magmasken, inför betessläpp avmaskades de enligt rekommenderad dos med ivermektin (Noromectin®). Uppföljande undersökning efter tio dagar av de tio tackor som utskilde flest ägg vid behandlingstillfället visade att avmaskningen var 100% effektiv. Trots detta var merparten (85 %) av lammerna äggutskiljande kring avvänjningen i mitten av juli. Eftersom äggutskiljningen var hög hos 8 av 40 lamm (mer än 1000 EPG och med en hög andel *H. contortus*) avmaskades även samtliga lamm. Samtliga djur svarade på behandlingen också denna gång. Parasitförekomsten hos lammerna vid den avslutande undersökningen i september var däremot låg och utan förekomst av *H. contortus*.

Medelvärdena från de individuella respektive poolade samlingsproverna tillverkade från samma individer redovisas i tabell 2. Vi fann starka samband mellan resultaten både vad gäller det antal ägg som observerades (Pearson $r=0.93$) och andelen som klassificerade som stor magmask (Pearson $r=0.72$). Det var också god överensstämmelse mellan de mikroskopiska och molekylära analyserna avseende *Haemonchus*.

I gårdsstudien var 13 besättningar lokaliserade i Götaland, fyra i Svealand och två i Norrland. Samtliga gårdar utom två skickade prover både från sina tackor och lamm. Antalet djur i besättningarna varierade mellan 72 och 250 individer med ett medelvärde av $115 \pm \text{SD } 42$. Prov från tackorna ($N=19$) anlände under april och maj och från lammerna ($N=17$) under juni till september. Sammanlagt analyserades prov från 393 får som undersöktes som 131 tripletter vid 36 provtagningstillfällen. I den mikroskopiska undersökningen påvisades stor magmask i 42% av de olika besättningarnas tackgrupper och i 24% av lammgrupperna (Tabell 3). Antalet tripletter som var positiva varierade mellan en och fyra per gård. Endast vid ett provtagningstillfälle var samtliga tripletter haemonchus-positiva. Genom den utökade provtagningen erhöles extrainformation vid hälften av de provtagningstillfällen då djuren var haemonchus-positiva. Med den molekylära ddPCR metoden hittades stor magmask hos tackgrupperna i 37% av de undersökta besättningarna och i 41% av lammgrupperna (Tabell 4). Överensstämmelsen mellan de båda diagnostiska metoderna var i huvudsak god, även om resultaten i vissa fall var motstridiga (Tabell 5).

De flesta gårdar (95%) hade rekryterat enstaka nya djur utifrån, men aldrig från annat land och sällan (5%) från besättningar som i sin tur importerat djur från utlandet. En majoritet hade lamningar under en och samma period under våren (74%), eller vid flera tillfällen under stallperioden (45%). Endast ett fåtal (5%) hade lamningar på betet. De flesta gårdar (63%)

använde en kombination av naturliga betesmarker samt åkermark och som betades av olika djurgrupper som flyttades mellan olika fällor minst tre gånger per säsong (68%).

Beslut om behandling baserades på information från denna studie. Tackorna avmaskades på 68% av de undersökta gårdarna och lammen på 63%. Ivermektin var det preparat som användes mest och det administrerades till 77% av tackgrupperna och till 92% av lammgrupperna som avmaskades. Flertalet gårdar (58%) rapporterade att de växlar mellan olika preparat olika år eller vid olika behandlingstillfällen, medan 32% använder samma preparat. Bland de gårdarna som testat inköpta djur (16%), gjort behandlingskontroll eller resistensundersökning (42%) uppgav 91% att inga ägg hittades efter avmaskning. Så många som 37% har aldrig testat om avmaskningsmedlet fungerar. Hos flera gårdar (11%) hittas stor magmask återkommande, medan 53% uppgav att parasiten hittas ibland, och 26% att den hade påträffats tidigare men inte under senaste två åren. Parasiten har aldrig hittats endast i ett fåtal (5%) av de undersökta besättningarna.

Diskussion

Att ha en fungerande strategi för parasitundersökning som kan till grund för parasitkontroll är viktigt för att kunna bedriva hållbar betesbaserad lammuppfödning med god djurvälstånd. I detta projekt har vi undersökt dels en ny utökad provtagningsstrategi anpassad till antalet djur i besättningen, dels jämfört mikroskopisk och molekylär analys med fokus på detektion av stor magmask. Vi har även samlat information om besättningarna avmaskningsrutiner.

Projektet bekräftar att stor magmask är ett dominerande parasitproblem i ekologiska fårbesättningar. Vår studie understryker även att en lämplig tidpunkt för parasitundersökning av tackorna är inför betessläpp och av lammen bland annat kring avvänjningen. Variationen i antalet ägg hos olika individer var dock aggregerad/klumpad, det vill säga endast ett fåtal individer utskilde mycket ägg. Detta sågs både hos tackorna och hos lammen. Risk finns därför för att man underskattar gruppens äggutskiljning med för få prover. Detta innebär att undersökningsresultat kan tolkas felaktigt om för få individer undersöks. Samtidigt fann vi starka samband både mellan antalet ägg och i förekomst av *Haemonchus* hos proverna när de analyserades individuellt och gruppvis efter poolning. Detta visar på möjligheten att begränsa analysen till samlingsprover vilket i sin tur är tidsbesparande och kostnadseffektivt.

Det exakta antalet prover som bör ingå i undersökningen för att få en rättvisande bild av besättningens parasitstatus hänger alltså samman med hur parasiterna är fördelade hos fåren. Enligt vår undersökning varierar detta över tid och hos de olika åldersgrupperna. Detta gör det hela svårbedömt. Av praktiska skäl landande vi i att cirka 10% av djuren i respektive ålderskategori bör ingå i undersökningen där proverna analyseras i tripletter med tre individprov i varje samling. Detta är en kompromiss men tycks möjliggöra detektion av stora magmasken även vid relativt låga infektionsnivåer, vilket bekräftas av att säkerheten för att hitta stora magmasken ökade med antalet undersökta prover när förfarandet utvärderades i 19 ekologiska fårbesättningar. Detta medför att utökad provtagning kommer att bli vägledande i framtida rådgivning.

Jämförelsen av diagnostik avseende stor magmask visade i huvudsak på god överensstämmelse mellan de båda analysmetoderna (mikroskopi och ddPCR), även om något fler prover var positiva enligt den molekylära metoden. En annan fördel med molekylär diagnostik är att undersökningen kan utökas till att även omfatta detektion av olika markörer för

läkemedelsresistens. Dessvärre saknas fortfarande pålitliga molekylära markörer för detektion av ivermektin-resistens, trots pågående forskning både nationellt och internationellt. Arbetet med att finna sådana markörer måste därför intensifieras inom kommande år.

I de flesta besättningar avmaskades speciellt tackgruppen men ibland också lammgruppen minst en gång i huvudsak med ivermektin. Dessutom flyttades djuren i allmänhet efter avskiljningen mellan olika betesfällor. Dessa åtgärder föreföll fungera i de allra flesta fall, men inte alltid. Även om flera besättningar kontrollerat att avmaskningen fungerade antingen genom uppföljande eller resistensundersökning eller behandlingskontroller. Samtidigt visade det sig att så många som 37% aldrig gjort detta, vilket är oroväckande med tanke på att det finns tecken på att resistensläget förvärrats under senare år särskilt vad gäller ivermektin. Att genomföra en riksomfattande undersökning av resistensläget i landets fårbesättningar vore därför värdefullt,

Sammanfattningsvis visar projektet att samlingsprover kan ersätta undersökning av träckprover från flera enskilda djur. Säkerheten hos provresultaten påverkas av flera olika faktorer varav antalet undersökta individer i flocken tycks vara den allra viktigaste faktorn. Olika krav på precision ställs dock i olika situationer. När frågeställningen är att ta reda på om stor magmask förekommer i djurgruppen är det viktigt att provta så många individer som möjligt, för att inte missa en eventuell lågradig smitta i besättningen.

Sammanhang projektet presenterats

Höglund, J. Ny metod för artbestämning av parasiter hos får.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401718302760>

Höglund, J. Proceedings of 25th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Kuala Lumpur 2017, Malaysia

Höglund, J. Ongoing projects in small ruminant parasitology. 2nd Meeting of Sheep and goat researchers within SLU Uppsala 2018

Höglund, J. Assessment of an enhanced sampling protocol and use of a ddPCR assay for detection of *Haemonchus contortus* on commercial sheep farms. Proceedings of 26th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Madison 2019, USA

Höglund, J. Droplet Digital PCR - a novel diagnostic tool in nematodes of veterinary interest. 2nd COMBAR Working Groups meeting, 26-27th September, León 2018, Spain

Höglund, J. Ongoing research regarding sampling of parasites from sheep herds. 3rd Meeting of Sheep and goat researchers within, SLU Uppsala 2019

Höglund, J. Forskning får. BVF-dag, Uppsala 2019

Publikationer från projektet

Hammarsten, E. 2018. Metoder för parasitundersökning i fårbesättningar. Examensarbete 30hp inom veterinärprogrammet. ISSN 1652-8697. Examensarbete 2018:77

Gustafsson, K. 2018. Betessäsong betyder också masksäsong. Faktablad nr 3. Gård och Djurhälsan, 23:e April.

- Ljungström, S., Melville, L., Skuce, P.J., Höglund, J., 2018. Comparison of four diagnostic methods for detection and relative quantification of *Haemonchus contortus* eggs in feces samples. Front. Vet. Sci. 4, 239. doi.org/10.3389/fvets.2017.00239.
- Elmahalawy, S.T., Halvarsson, P., Skarin, M., Höglund, J. 2018. Droplet digital polymerase chain reaction (ddPCR) as a novel method for absolute quantification of major gastrointestinal nematodes in sheep. Vet. Parasitol., 261, 1-8. doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.07.008
- Höglund, J., Elmahalawy, S. T., Halvarsson, P., Gustafsson K. 2019. Detection of *Haemonchus contortus* on sheep farms increases using an enhanced sampling protocol combined with PCR based diagnostics. Veterinary Parasitology: X, DOI: 10.1016/j.vpoa.2019.100018.

Tabeller

Tabell 1. Äggutskiljningen hos får i en ekologisk besättning med cirka 200 tackor. Samtliga prover undersöktes individuellt med McMaster-teknik. N=antal undersökta djur, Trich=antal trichostrongylida ägg, Hc%=förekomst av Haemonchus contortus angivet i procent av trichostrongylida ägg, Tax%=förekomst av Trichostrongylus axei angivet i procent av trichostrongylida ägg, Ch/Oes = antal ägg av Chabertia ovina/Oesophagostomum spp., Nfil, Nspa, Nbat = antal ägg av Nematodirus filicollis, spathiger och battus

Datum	Djur		Trich		Hc %	Tax%	Ch/Oes	Nfil	Nspa	Nbat
Mån-dag		N	Medel	SD	Medel	Medel	Medel	Medel	Medel	Medel
04-17	Tackor	40	116	149	5	0	14	0	0	0
05-01	Tackor	10*	0		0	0	0	0	0	0
07-16	Lamm	40	593	704	32	0	3	0	0	0
07-24	Lamm	10*	0		0	0	0	0	0	0
09-11	Lamm	40	30	62	0	0	4	0	0	0
Totalt		140	206	414	11	0	5	0	0	0

* uppföljande prover 10 dagar efter avmaskning

Tabell 2. Jämförelse mellan medelvärden och standardavvikelser (SD) för individuella och poolade träckprover. Samlingsproverna består av lika mängd träck från 10 individer och där medelvärdet har beräknats genom fyra räkningar ur motsvarande pool

Datum	Grupp	Djur	Individuell undersökning			Poolad undersökning		
Mån-dag			Medel	±SD epg	Hc%	epg	±SD epg	Hc%
			epg					
04-17	A	Tackor	60	107	0%	167	29	0%
	B		115	140	2%	100	50	17%
	C		90	102	5%	67	29	0%
	D		200	207	14%	50	0	0%
07-16	A	Lamm	360	398	35%	333	369	10%
	B		475	466	22%	450	260	23%
	C		955	992	41%	583	252	63%
	D		580	754	31%	550	229	33%
09-11	A	Lamm	20	26	0%	17	29	0%
	B		25	35	0%	0	0	0%
	C		70	111	0%	33	58	0%
	D		10	19	0%	17	29	0%

Tabell 3. Äggutskiljningen hos tackor och lamm i ekologiska fårbesättningar enligt McMaster-undersökning. N=antal provtagningstillfällen

Parasiter	Ekologiska fårgårdar		
	Positiva prover	Prevalens	95% CI
Tackor	N=19		
<i>Trichostrongylida</i> ägg	18	95%	10%
<i>Haemonchus contortus</i>	8	42%	22%
<i>Trichostrongylus axei</i>	2	11%	14%
<i>Chabertia/Oesophagostomum</i>	13	68%	21%
<i>Nematodirus filicollis</i>	2	11%	14%
<i>Nematodirus spathiger</i>	0	0%	-
<i>Nematodirus battus</i>	0	0%	-
<i>Moniezia expansa</i>	3	16%	16%
Koccidier (oocystor)	1	5%	10%
Lamm	N=17		
<i>Trichostrongylida</i> ägg	16	94%	12%
<i>Haemonchus contortus</i>	4	24%	20%
<i>Trichostrongylus axei</i>	3	18%	18%
<i>Chabertia/Oesophagostomum</i>	10	59%	23%
<i>Nematodirus filicollis</i>	7	41%	23%
<i>Nematodirus spathiger</i>	1	6%	11%
<i>Nematodirus battus</i>	2	12%	15%
<i>Moniezia expansa</i>	11	65%	23%
Koccidier (oocystor)	8	47%	24%

Tabell 4. Antal gårdar som var positiva för *Haemonchus* och *Teladorsagia* enligt ddPCR-analys riktad mot ITS2 DNA-regionen. N=antal prov.

Parasit	Tackor			Lamm		
	DNA positiva	Prevalens	95% CI	DNA positiva	Prevalens	95% CI
	N=19			N=17		
<i>Haemonchus</i>	7	37%	12%	7	41%	12%
<i>Teladorsagia</i>	17	89%	17%	16	94%	17%

Tabell 5. Fördelningen av prov i olika kategorier med *H. contortus*. N=antal prov

Analysresultat	Tackor (N=19)		Lamm (N=17)	
Negativt	10	53%	9	53%
Positivt enligt ddPCR	0	0%	4	24%
Positivt enligt McMaster	2	11%	1	6%
Positivt enligt båda metoderna	7	37%	3	18%