

# Značaj skrininga *Streptococcus agalactiae* u prevenciji neonatalne bolesti



Nataša Opavski

Institut za mikrobiologiju i imunologiju

Medicinski fakultet Beograd

Referentna laboratorija za streptokok i pneumokok

# *Streptococcus agalactiae*

## BETA HEMOLITIČKI STREPTOKOK GRUPE B

### ili grupa B streptokoka (GBS)

---

---

- Značaj GBS, kao izazivača invazivnih infekcija je uočen 1970-tih godina
- U mnogim zemljama je jedan od vodećih uzročnika neonatalnog morbiditeta i mortaliteta

**Mnoge bebe su septikemične već na rođenju, te je prevencija bolesti od izuzetnog značaja**

Izaziva bolest i kod trudnica - tokom trudnoće i postpartalnog perioda, kao i kod odraslih osoba, posebno imunokompromitovanih (urinarne infekcije, bakterijemiju, pneumoniju, infekcije kože i koštanog sistema)

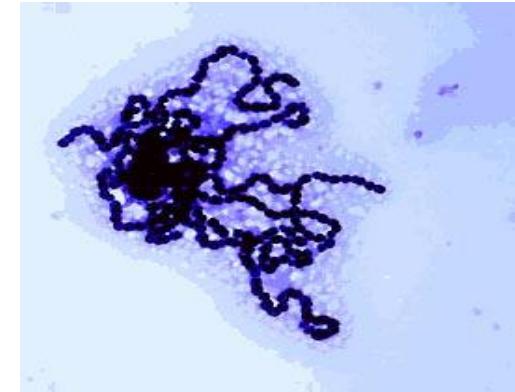
# *Streptococcus agalactiae*

## BETA HEMOLITIČKI STREPTOKOK

### GRUPE B ili grupa B streptokoka (GBS)

---

- Otkriven kao izazivač bolesti kod životinja (mastitis krava – bez mleka - agalactiae)
- Kod ljudi kolonizuje gastrointestinalni trakt, gornje disajne puteve i donje delove urogenitalnog trakta
- GIT je izvor za kolonizaciju vagine (10-37% trudnica)
- Kolonizacija je retka u detinjstvu, počinje u kasnoj adolescenciji
- Kolonizacija može biti tranzitorna, intermitentna i perzistentna i ugl. je asimptomatska



# *Streptococcus agalactiae* je Gram pozitivna koka

Najznačajniji faktor virulencije je **kapsula** od sijalinske kiseline (polisaharid)

Kapsula - rezistencija na fagocitozu; gubi se u prisustvu spec. At i komplementa

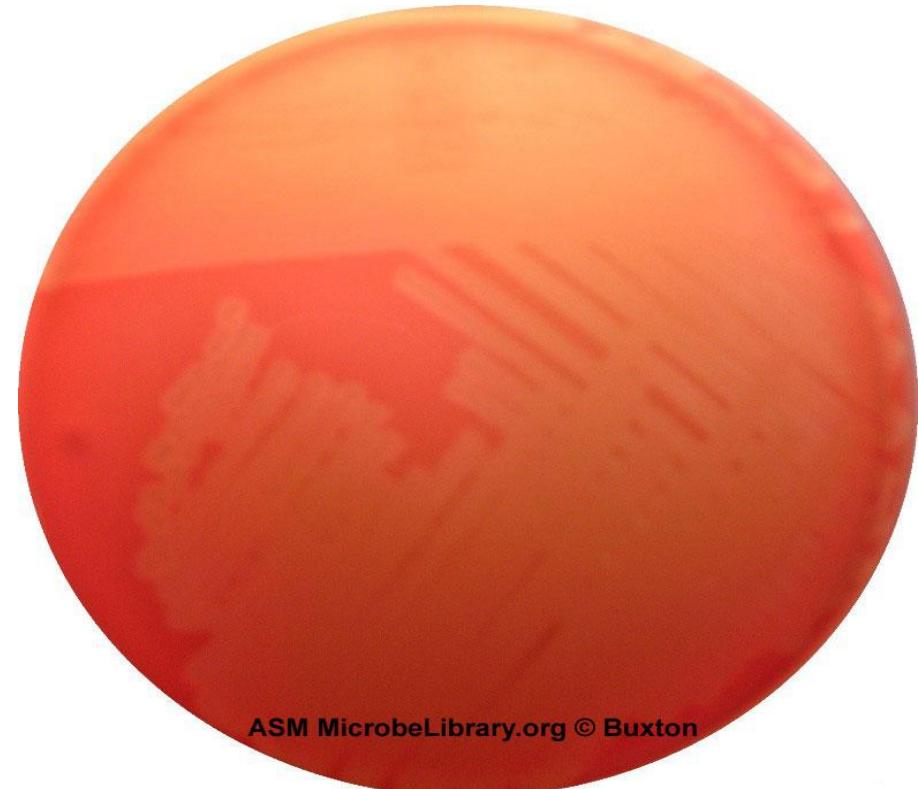
Tipski specifičan antigen -

10 serotipova - Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX

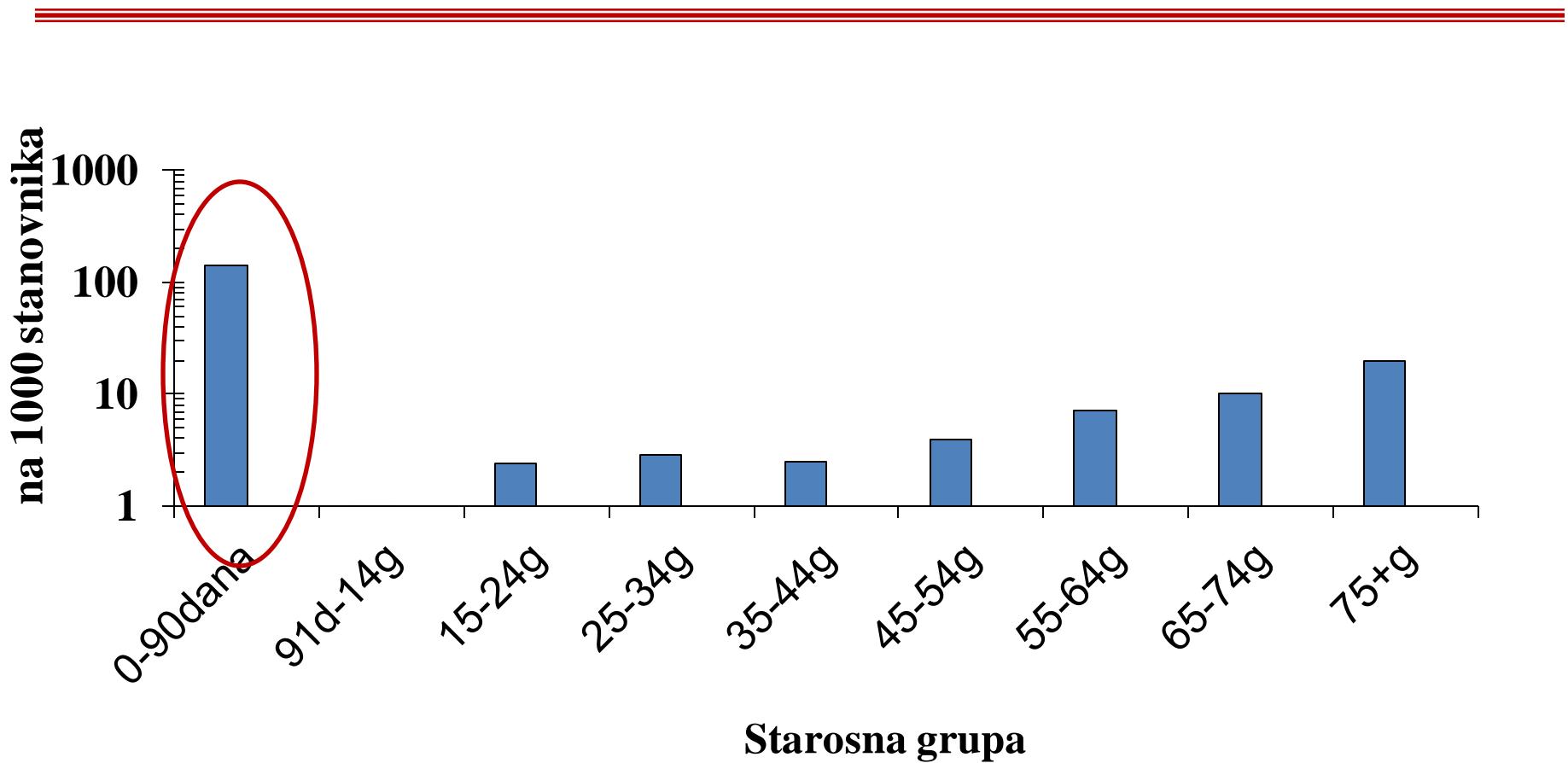
Tip III je čest kod invazivnih bolesti

Imunitet je tipski specifičan

Sposobnost produkcije antitela utiče na tok bolesti



# Incidenca invazivnih bolesti izazvanih GBS prema uzrasnoj grupi (1990) u SAD



# Bolesti izazvane GBS

## Neonatalna bolest

- pneumonija
- sepsa
- meningitis



- Rana (BRP)

(*u prvih 7 dana posle porođaja*)

*Perinatalna transmisija*

- Kasna (BKP)

(*7 dana – 3 meseca posle porođaja*)

*Transmisija kontaktom*

Novorođenčad ne mogu da stvore At na polisaharidne Ag kapsule GBS; At se pri kraju trudnoće pasivno prenose sa majke na plod

# Neonatalna bolest izazvana GBS

---

- **Rana neonatalna bolest** – ugl. znaci sistemske infekcije na rođenju ili u prva 24 sata po rođenju – fulminantna pneumonija ili sepsa, retko meningitis

Bez brze terapije, dolazi do naglog pogoršanja

Visok mortalitet

Ostaju sekvele – mentalna retardacija, oštećenje sluha i vida

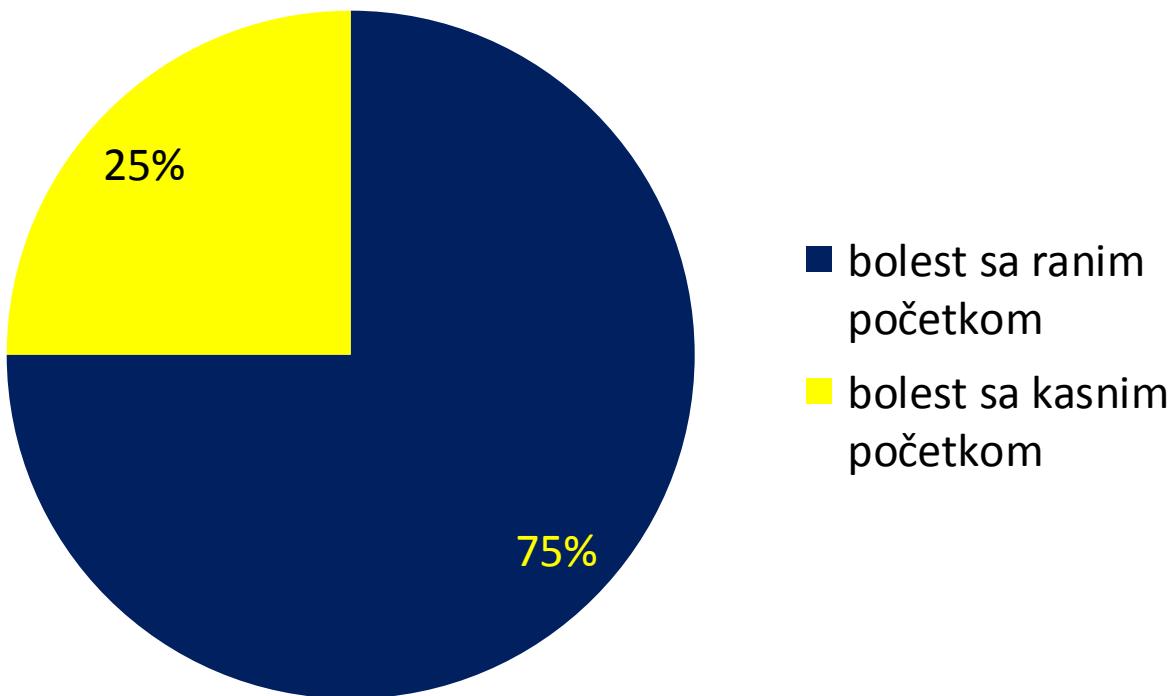
Izvor je majka kolonizovana GBS u genitalnom traktu; vertikalna transmisija se dešava neposredno pre ili tokom prođaja

- **Kasna neonatalna bolest** – bakterijemija i meningitis;

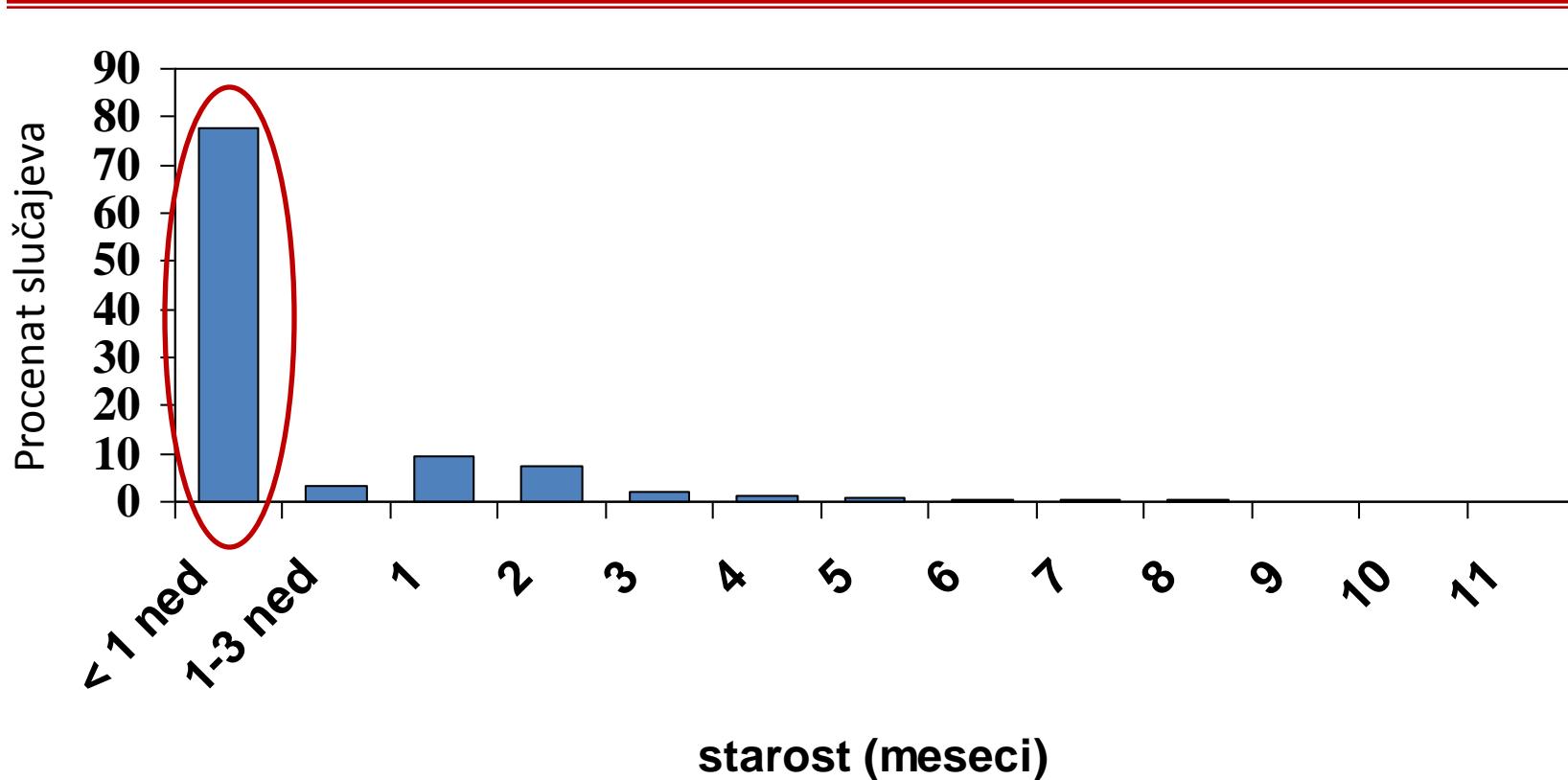
Pored majke, izvor su osobe u kontaktu sa bebom

# Invazivne bolesti beba

---

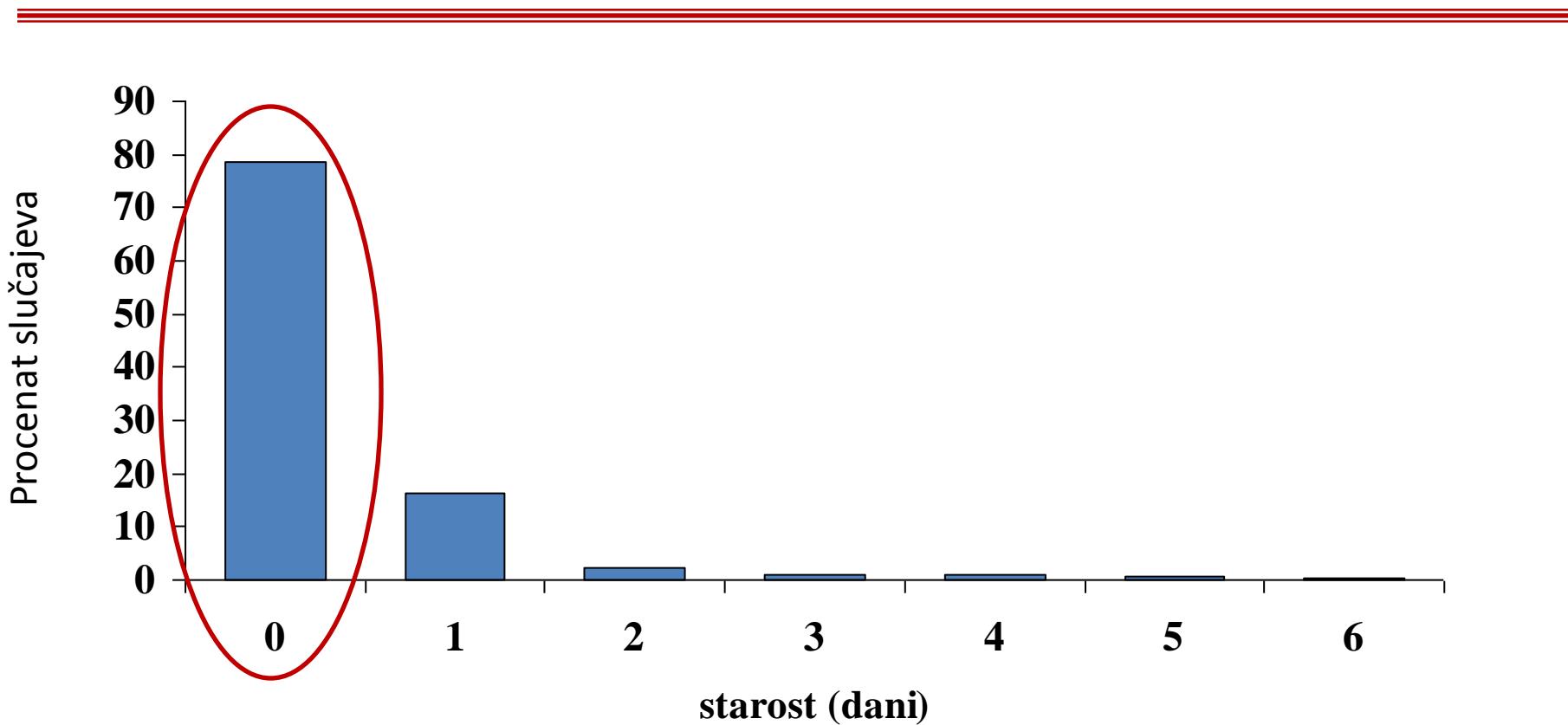


# Bolesti izazvane GBS kod novorođenčadi pre uvođenja preventivnih mera Centers for Disease Control and Prevention - CDC



A Schuchat. Clin Micro Rev 1998;11:497-513.

# Bolest izazvane GBS sa ranim početkom kod novorođenčadi pre uvođenja preventivnih mera (Centers for Disease Control and Prevention -CDC)



A Schuchat. Clin Micro Rev 1998;11:497-513.

# Incidenca bolesti sa ranim početkom

---

## Dokazani slučajevi (pozitivna kultura na GBS iz primarno sterilnih regija)

Zemlje istočne Evrope – 0,2-4 na 1000 živorodene dece

Zemlje zapadne Evrope – 0,3-3 na 1000 živorodene dece

Incidenca varira između zemalja i uočava se značajno smanjenje u zemljama koje su uvele obavezan screening

Suspektni slučajevi (bolesno dete) i pozitivna kultura na GBS iz nesterilnih regija

Mrtvorodnost

povećavaju incidencu

Letalitet – u ranijem periodu  $\geq 50\%$ ; u skorije vreme je oko 11%

Moguće sekvele!

# GBS kod trudnica i porodilja

---

---

- Asimptomatsko kliconoštvo
- Infekcije urinarnog trakta (2-4% trudnica)
- Chorioamnionitis
- Endometritis
- Infekcije rana posle carskog reza i epiziotomije
- Puerperalna sepsa

GBS ima veliku sposobnost adherencije za vaskularni endotel i epitel, posebno vagine i horionskih membrana, kao i pluća neonatusa

GBS može, povremeno, proći kroz intaktne membrane placente; posledice su teška neonatalna bolest, pa i mrtvorodjenost

# Patogeneza ranog oblika neonatalne GBS bolesti

Na tok bolesti utiču

**faktori domaćina i virulencija bakterija**

Vaginalna kolonizacija (adherencija za vagin.epitel)

↓  
Širenje ka amnionskoj šupljini i proliferacija

Kolonizacija kože i mukoznih membrana fetusa ili aspiracija amnionske tečnosti i prođor u alveole fetusa

Po rođenju se GBS umnožava u alveolama neonata, izbegava fagocitozu i dolazi do zapaljenja – pneumonije sa oštećenjem ćelija pluća

↓  
Invazija GBS u plućne epitelne i endotelne ćelije omogućava bakterijama prođor u krvotok - septikemija

# Bolest novorođenčadi sa ranim početkom

Novorođenčad može biti inficirana:



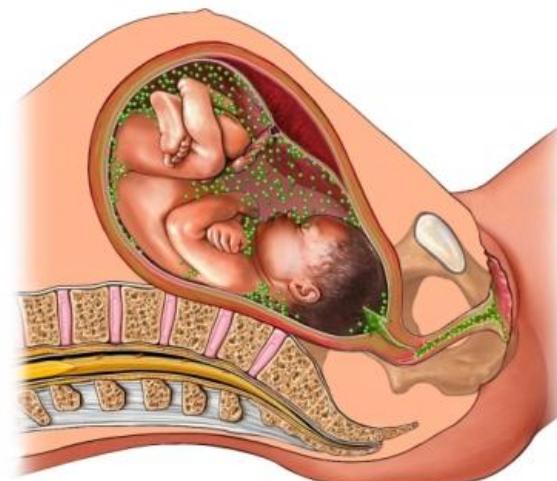
**Intrauterino** – posledica  
ascedentnog širenja GBS iz vagine  
Vertikalna transmisija na fetus se  
dešava posle početka porođaja ili  
rupture membrana  
Dolazi do infekcije amnionske  
tečnosti i njene aspiracije

*Posledice su:*

Neonatalna pneumonija, sepsa,  
mrtvorodnost



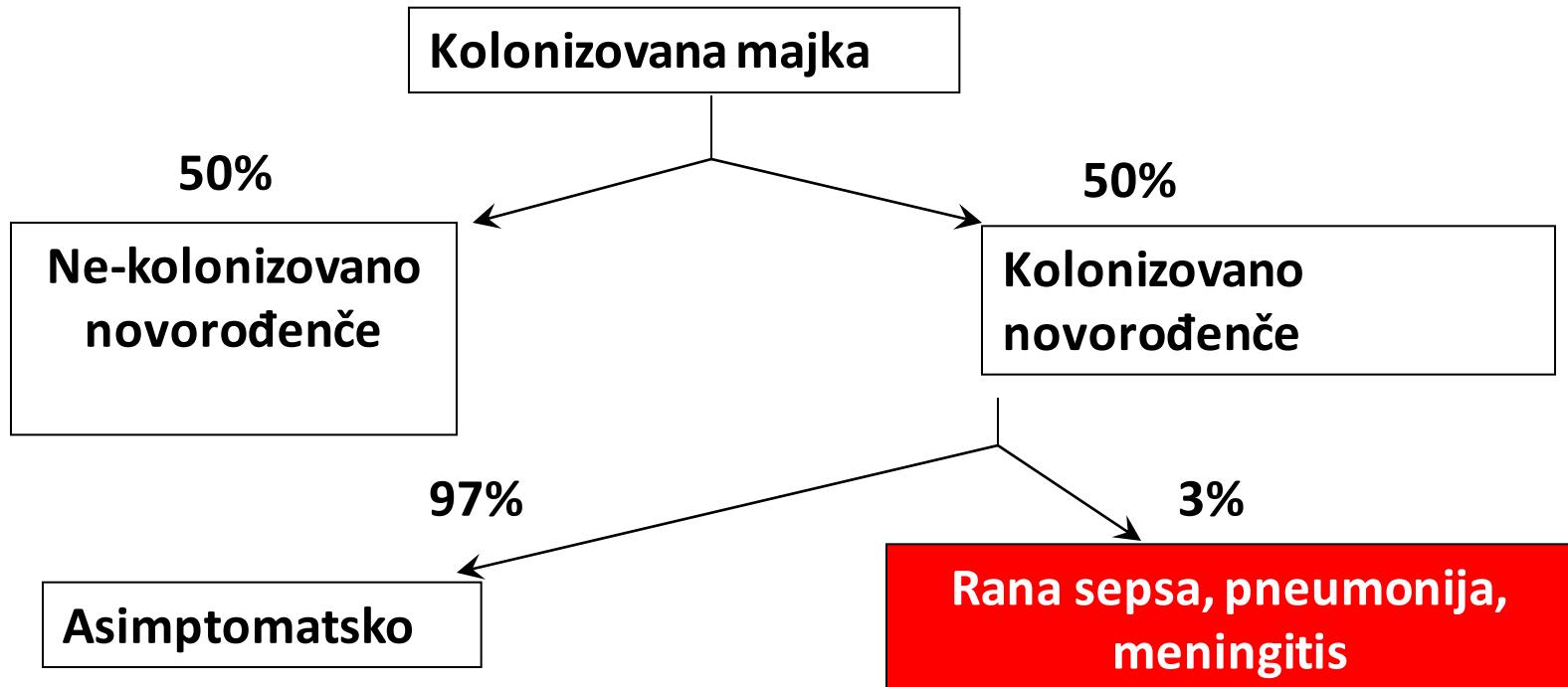
**Tokom prolaska**  
**novorođenčeta kroz porođajni**  
**kanal majke**  
*Posledice su:* kolonizacija kože i  
sluznica, ugl. asimptomatski



# Transmisija sa majke na novorođenče

---

---



Postoji veći rizik za nastanak BRP ukoliko je kolonizacija majka velika

# Najznačajniji faktori rizika za nastanak BRP izazvanih GBS

## - Kolonizacija majke u vreme porođaja

---

Ostali faktori rizika - "Klasičnih pet":

1. GBS bakteriurija u tekućoj trudnoći (ukazuje na veliku kolonizaciju) – 4x
2. Chorioamnionitis (intrapartalna groznica  $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ) – 3x
3. Prolongirana ruptura membrana  $>18$  sati pre porođaja – 3x
4. Preteći prevremeni porođaj (gestaciona starost  $<37$  nedelja) – nekompletni transfer majčinih At / ove bebe su u 3-30 puta većem riziku od BRP - 3x
5. Dete iz prethodne trudnoće sa GBS neonatalnom bolešću – ukazuje na nizak nivo antitela majke na polisaharide kapsule GBS – **10x**

!!! Čak do 50% slučajeva BRP nastaje kod neonatusa čije majke nisu imale nijedan od ovih 5 faktora rizika

Drugi faktori rizika: mlađe majke, korišćenje intrauterinih sredstava za fetalni monitoring, 5 i više vaginalnih pregleda tokom porođaja...

**Nije faktor rizika** kolonizacija GBS u prethodnoj trudnoći

# **Redukovanje rizika za bolest ranog početka**

---

## **Intrapartalno i.v. davanje antibiotika**

Trenutno je to jedini dokazani efikasni metod

Prevencija - 90%

## **Intramuskularno davanje antibiotika pre porođaja**

## **Vaginalno ispiranje hlorheksidinom**

Nema dokaza da redukuje BRP izazvanu GBS

## **Davanje antibiotika oralno**

Nema dokaza da redukuje BRP izazvanu GBS (leči infekciju UT)

American College of Obstetricians and Gynecologists  
(ACOG)

Center for Disease Control (CDC)

American Academy of Pediatrics

**su izdali 1996.godine preporuke za intraportalnu  
profilaksu BRP izazvanih GBS**

---

---



# Preporuke za intraportalnu profilaksu BRP izazvanih GBS, 1996.godina

Dva ravnopravna pristupa:



Intraportalna hemoprofilaksa  
kod **trudnica sa faktorima rizika:**

- porođaj < 37.nedelje gestacije
- intraportalna temperatura  $\geq 38^{\circ}\text{C}$
- ruptura membrana  $\geq 18$  sati

**Univerzalni skrinining svih  
trudnica u 35-37 nedelji gestacije**  
na vaginalnu i rektalnu  
kolonizaciju GBS i samo  
kolonizovane žene primaju  
intraportalno hemoprofilaksu, bez  
obzira na faktore rizika

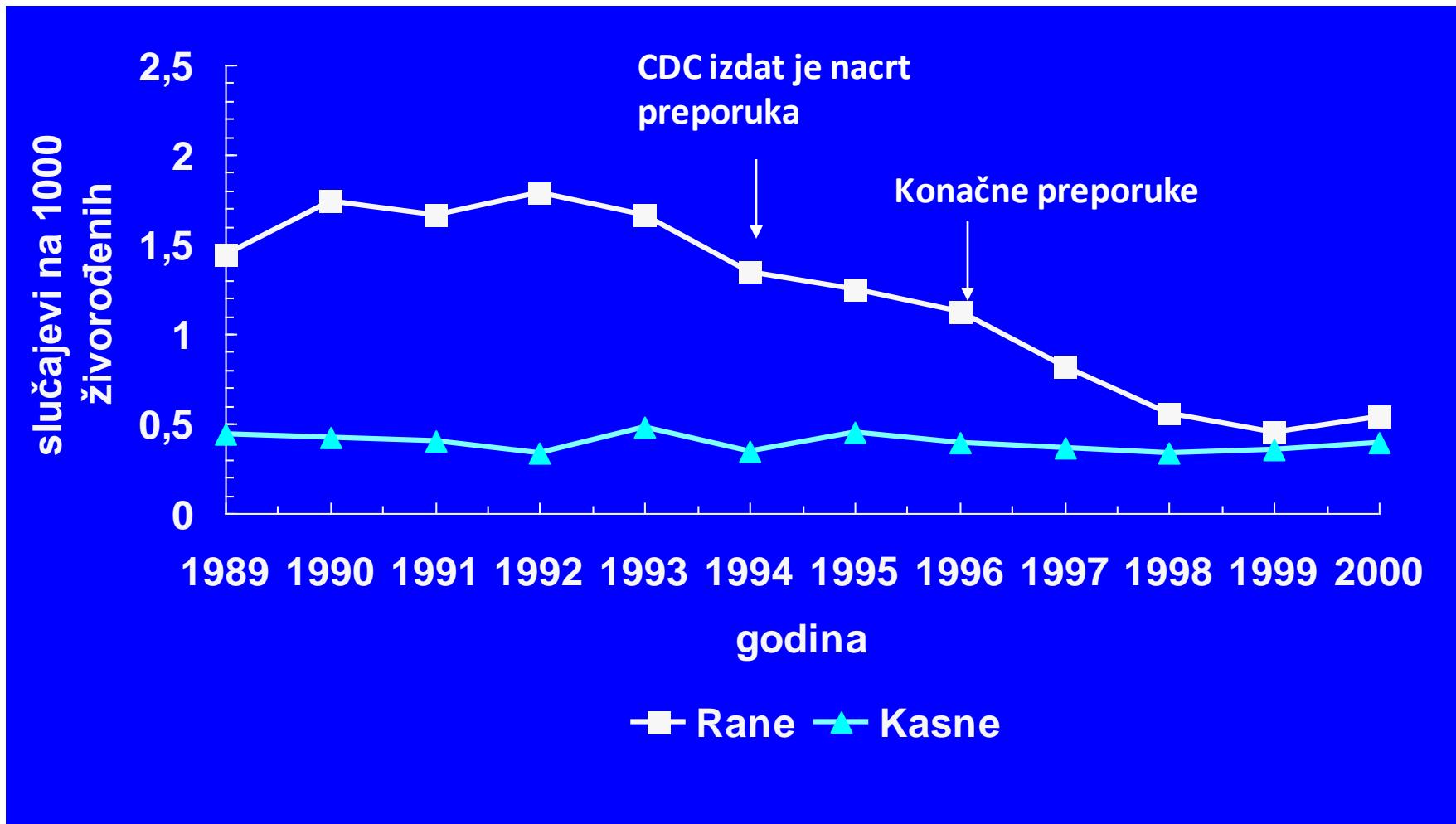
U oba pristupa trudnice sa **GBS bakteriurijom** tokom tekuće trudnoće  
**i majke čije je dete u prethodnoj trudnoći imalo invazivnu bolest**  
izazvanu GBS obavezno primaju intraportalnu hemoprofilaksu

# Neonatalna bolest izazvana *S.agalactiae*

---

- u SAD je tada godišnje registrovano preko 7500 slučajeva sepse i meningitisa novorođenčadi izazvanih GBS
- incidencija:
  - A. pre uvođenja preventivnih mera u SAD:
    - Bolesti sa ranim početkom (BRP) 1.1-3.7/1000 novorođenčadi
    - Bolesti sa kasnim početkom (BKP) 0.6-1.7/1000 novorođenčadi
  - B. posle primene preventivnih mera u SAD:
    - Bolesti sa ranim početkom (BRP) 0,5/1000 novorođenčadi (redukovano za 70%)

# Stopa ranih i kasnih infekcija izazvanih BHS grupe B u SAD tokom 1990 tih godina



# Procene efikasnosti mera prevencije bolesti sa ranim početkom izazvanih GBS u SAD

---

---

- godišnje je prevenirano oko 4 400 slučajeva BRP i oko 200 smrtnih slučajeva
- i dalje je godišnje prijavljivano 1720 slučajeva
- 70 do 90 smrtnih slučajeva
- i dalje su BRP izazvane GBS ostale vodeći uzrok morbiditeta i mortaliteta novorođenčadi u SAD

Evaluacija je pokazala da je pristup univerzalnog skrinininga za 50% efikasniji u odnosu na pristup trudnicama u riziku:

---

---

- pokriva znatno veću populaciju (i bez obstrečkih faktora rizika)
- efikasnost intrapartalnog davanja antibiotika u prevenciji BRP je bila oko 90% kod univerzalnog skriniga (90% trudnica je obuhvaćeno i oko 90% GBS pozitivnih je primilo terapiju) nasuprot 40-80% trudnica sa faktorima rizika koje su primile terapiju
- jednostavnije je primenjivati jednu umesto dve preporučene metode (komunikacija, edukacija...)
- evaluacija univerzalne metode je znatno jednostavnija i egzaktnija, jer ima jasne indikatore



# MMWR™

Morbidity and Mortality Weekly Report

Recommendations and Reports

August 16, 2002 / Vol. 51 / No. RR-11

## Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease

Revised Guidelines from CDC



CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION  
SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™

Nove, izmenjene  
preporuke su izdate  
2002. godine

## The Recommendations

MMWR, Vol 51(RR-11)

<http://www.cdc.gov/groupbstrep/>

# Osnovne RAZLIKE između preporuka iz 2002. godine i 1996. godine

---

---

- 1. Preporučuje se samo jedan pristup prevenciji BRP – univerzalni “skrininig” svih trudnica u 35-37 nedelji gestacije na GBS kolonizaciju u vagini i rektumu**
2. Daju se detaljne preporuke koje se odnose na uzimanje briseva, transport uzoraka, kultuvisanje i ispitivanje osjetljivosti na antibiotike
3. Ne preporučuje se davanje profilaktičke terapije trudnicama koje se porađaju carskim rezom, ako nije započeo porođaj/nije došlo do rupture membrana
4. Daje se algoritam za trudnice sa pretećim prevremenim porođajem i novorođenčad koja je izložena profilaksi
5. Daju se preporuke za izbor antibiotika i doziranje

# **SLIČNOSTI između preporuka iz 2002. godine i 1996. godine**

---

---

1. Penicilin ostaje lek prvog izbora
2. Ukoliko u vreme porođaja nije poznat rezultat kulture, prelazi se na pristup trudnicama u riziku, tj. profilaksa se daje trudnicama sa faktorima rizika
3. Trudnice čiji je rezultat vaginalnog i rektalnog brisa negativan u poslednjih 5 nedelja, **ne** primaju profilaksu bez obzira na faktore rizika
4. Trudnice sa GBS bakteriurijom tokom cele tekuće trudnoće i trudnice sa detetom iz prethodne trudnoće sa GBS bolešću, predstavljaju kandidate za profilaksu i ne treba im ni uzimati bris
5. Antibiotici se **ne** daju tokom trudnoće bez obzira na GBS kolonizaciju, osim u slučaju GBS infekcije urinarnog trakta

Radna grupa sastavljena od reprezentativnih predstavnika ginekologa, pedijatara, lekara opšte medicine, epidemiologa, mikrobiologa, farmakologa prati i procenjuje efekat primene izmenjenih mera 2002. i daje privremene preporuke za prevenciju perinatalne GBS bolesti novorođenčadi, 2010. godine



**MMWR**<sup>TM</sup>  
Morbidity and Mortality Weekly Report  
[www.cdc.gov/mmwr](http://www.cdc.gov/mmwr)

Recommendations and Reports      November 19, 2010 / Vol. 59 / No. RR-10

### Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease Revised Guidelines from CDC, 2010



Continuing Education Examination available at <http://www.cdc.gov/mmwr/cme/conted.html>

## Na sajtu:

<http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/rr/rr5910.pdf>

date su dopune koje se odnose na izmenjene algoritme u terapiji, pretećem prevremenom porođaju, proširenju laboratorijskih metoda u cilju izolacije GBS

## Intrapartalna profilaksa JE INDIKOVANA

Dete iz prethodne trudnoće sa invazivnom GBS bolešću

GBS bakteriurija tokom tekuće trudnoće ( $\geq 10^4$  cfu/ml); oko 2-7% trudnica ima bakteriuriju (pokazatelj velike kolonizacije GT)

Pozitivna GBS "skrining" kultura u tekućoj trudnoći (osim ukoliko nije planiran carski rez, a nije započeo porođaj)

Nepoznat GBS status (kultura nije rađena, rezultat nije gotov ili je nepoznat) a postoji neki od faktora rizika: porođaj  $< 37$  nedelje; ruptura membrana  $\geq 18$  sati; intrapartalna temperatura  $\geq 38^\circ\text{C}$

## Intrapartalna profilaksa NIJE INDIKOVANA

Pozitivna kultura na GBS u vagini / urinu u prethodnoj trudnoći (osim ako nije pozitivna i u tekućoj trudnoći)

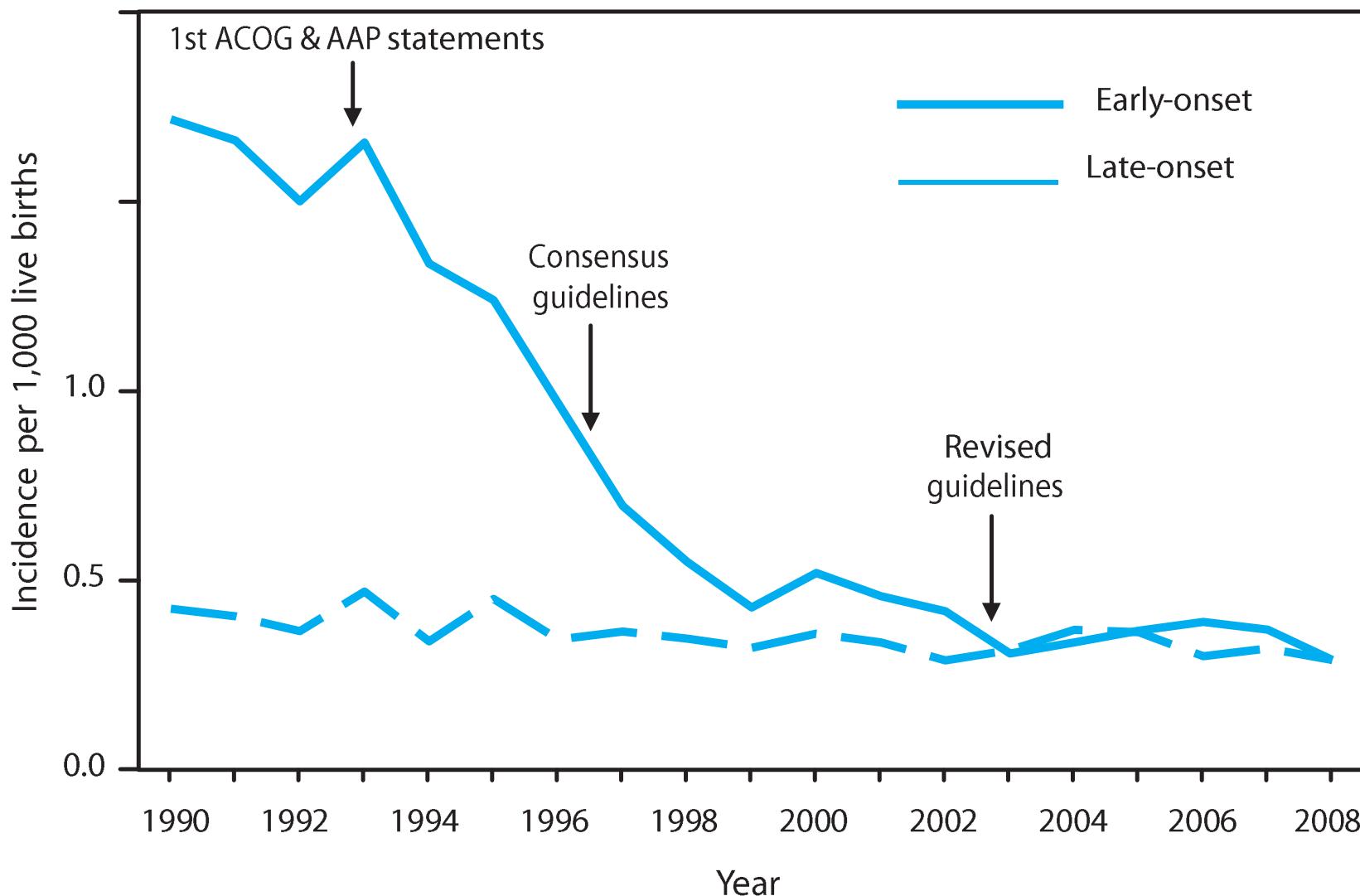
Planirani carski rez, ukoliko porođaj nije započeo i nije došlo do rupture membrana (bez obzira na GBS status)

Negativna "skrining" kultura vaginalnog i rektalnog brisa na GBS u 35-37 nedelji u tekućoj trudnoći bez obzira na faktore rizika



# Efekat mera skrinininga na GBS u SAD

**FIGURE 1. Incidence of early- and late-onset invasive group B streptococcal (GBS) disease — Active Bacterial Core surveillance areas, 1990–2008, and activities for prevention of GBS disease**



# Evropa

---

---

- Krajem 1990-tih i početkom 2000-tih godina je nekoliko evropskih zemalja preporučilo univerzalni skrinining svih trudnica u 35-37 nedelji gestacije (Španija, Francuska, Belgija, Nemačka, Švajcarska)
- Velika Britanija i Holandija – zadržale profilaksu samo kod trudnica sa faktorima rizika

# **Procedure za uzimanje uzoraka za kultuvisanje GBS u 35 – 37 nedelji trudnoće**

---

---

Uzima se (bez spekuluma) **bris vagine (2 cm se ulazi, brisom), potom rektuma** (kroz analni sfinkter); može se koristiti jedan ili dva brisa /trudnica može i sama uzeti ove briseve/

**Bris (jedan ili oba) se stavlju u jedan transportni medijum (Amies ili Stuart sa/bez charcoal); GBS može ostati vijabilan do 4 dana na 4°C, ev. na sobnoj temperaturi / sa svakim danom se verovatnoća preživljavanja smanjuje/  
Najbolje da je transport do 24 sata na +4°C**

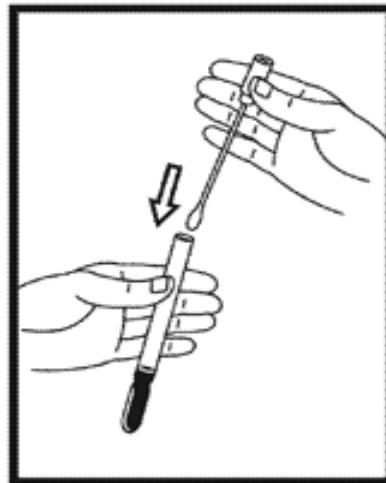
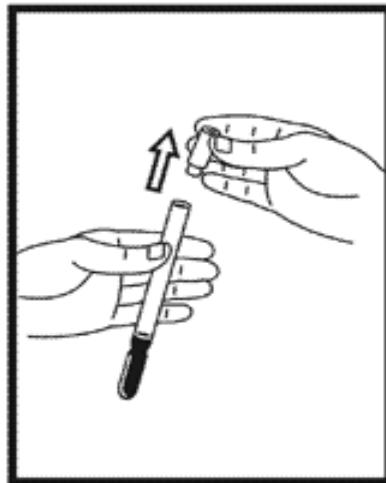
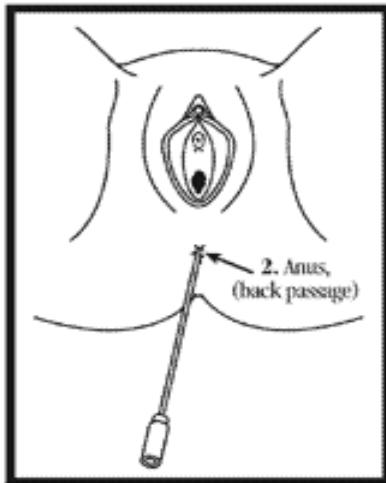
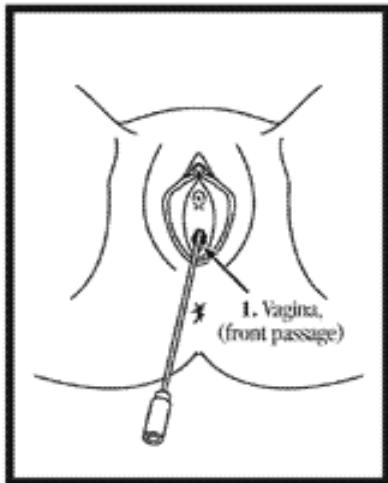


Amies transportni medijum

Obavezno naznačiti na uputu da: a) je indikovana izolacija GBS; b) je trudnica; c) postoji alergija na penicilin.

# Uputstvo za uzimanje genitalnih briseva u cilju detekcije GBS

## Instructions for the collection of a genital swab for the detection of a group B streptococcus (GBS)



1. Remove swab from packaging. Insert swab 2cm into vagina, (front passage). Do not touch cotton end with fingers.
2. Insert the same swab 1cm into anus, (back passage).
3. Remove cap from sterile tube.
4. Place swab into tube. Ensure cap fits firmly.
5. Make sure swab container is fully labelled with name, u.r. number, date and time of collection. Place swab container into transport bag and hand it to a staff member.

# Uzimanje uzorka i transport

---

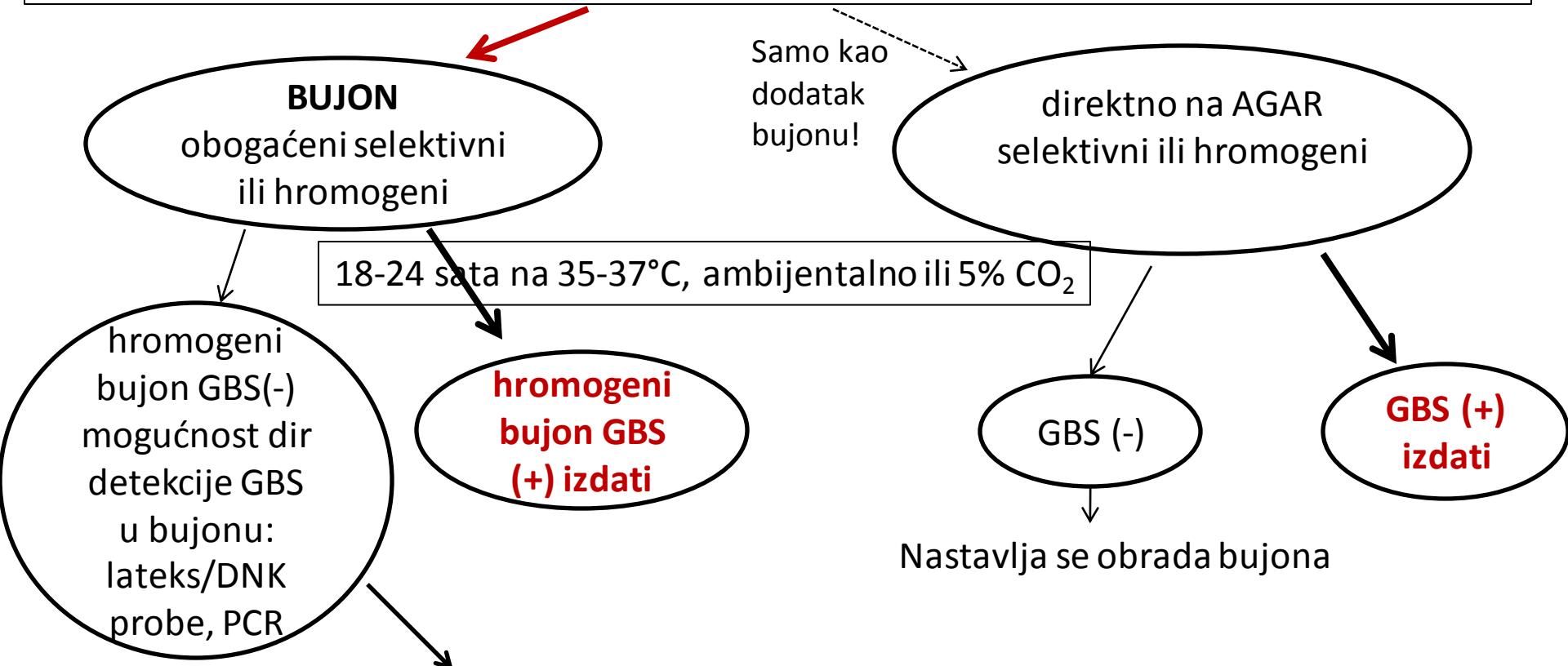
Ključne tačke za uspešan “screening” na GBS kolonizaciju:

- ✓ Uzimanje sa oba anatomska mesta (vagina i rektum)
- ✓ Vreme uzimanja (35-37 ned)
- ✓ Korišćenje transportnih podloga i uslovi transporta (dužina tranporta)
- ✓ Uslovi kultivisanja (podloge)

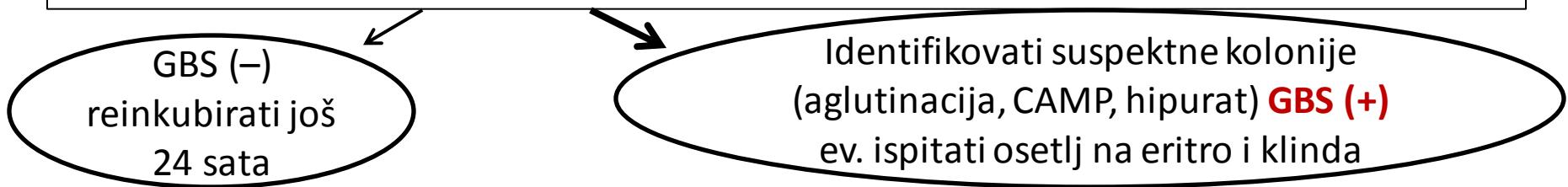
Neuspeh je moguć i ukoliko je trudnica koristila antibiotike ili vaginalno ispiranje higijenskim sredstvima pre uzorkovanja

# Algoritam za prenatalno testiranje na GBS

Vaginalno-rektalni bris se stavlja u transportni medijum (Amies, Stuart) - do 48 sati



Subkultivisati na selektivni agar (Columbia, triptikaza soja, Granada) i inkubirati 24 sata na 37°C



# Tečne podloge za izolaciju GBS

## Obogaćeni selektivni bujoni

Todd Hewitt bujon sa gentamicinom i nalidiksinskom kiselinom(TransVag)

Todd Hewitt bujon sa kolistinom i nalidiksinskom kiselinom (LIM bujon)



### LIM bujon:

- Todd Hewitt
- kolisitin (10 $\mu$ g/ml)
- nalidiksinska kiselina (15  $\mu$ g/ml)

## Selektivni bujon sa hromogenim pigmentom

Strep carrot bujon i Granada bifazni bujon

### STREP B CARROT bujon

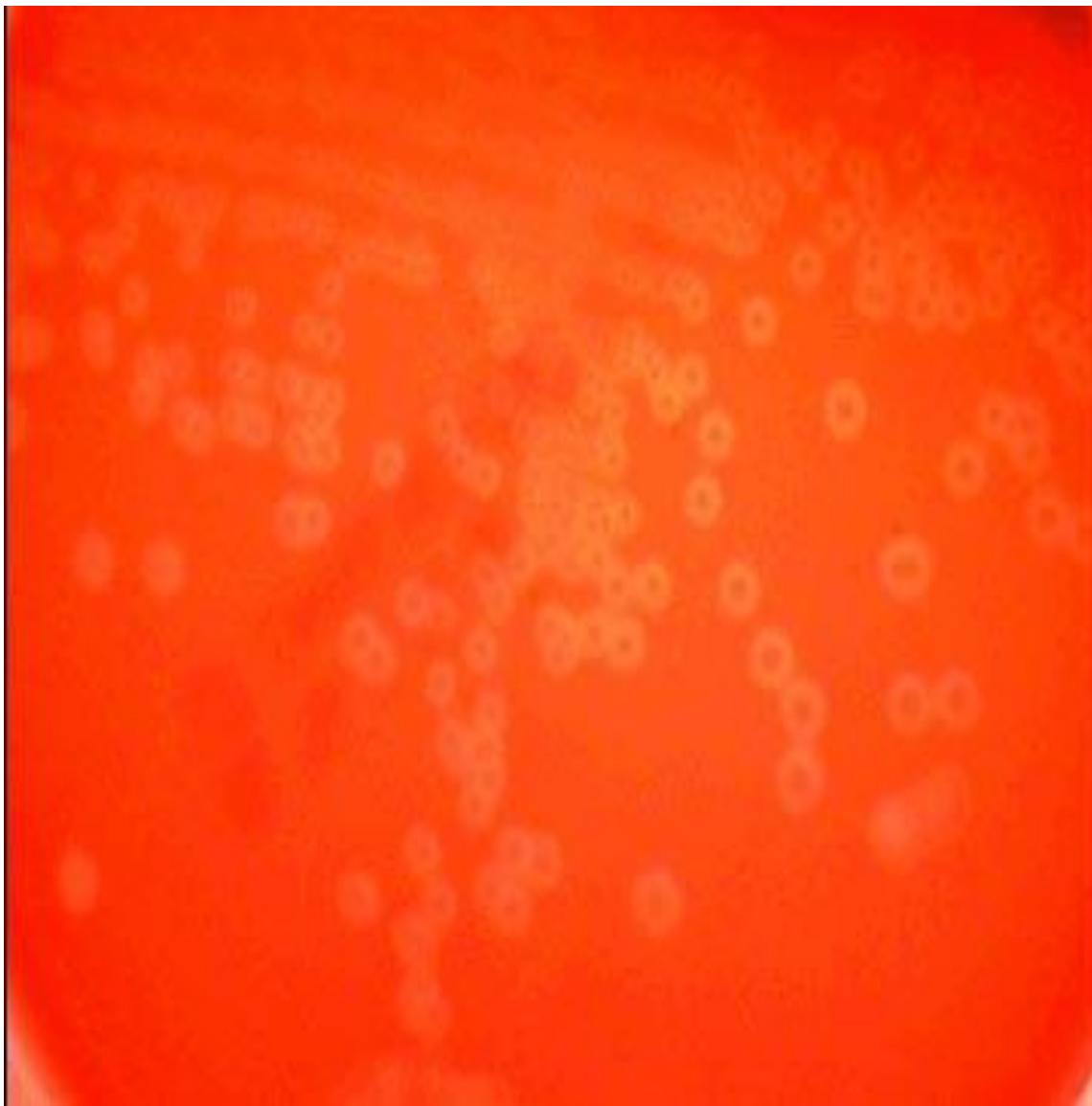
Hromogena podloga –  
modifikacija Granada podloge;  
mogući rezultati za 6 sati



# Čvrste podloge za izolaciju GBS

---

---



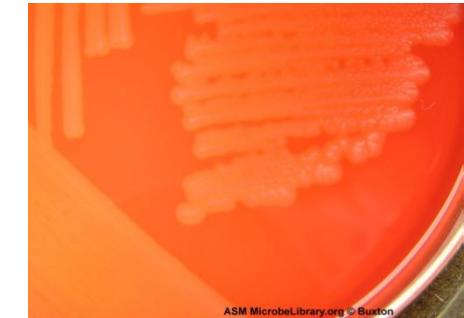
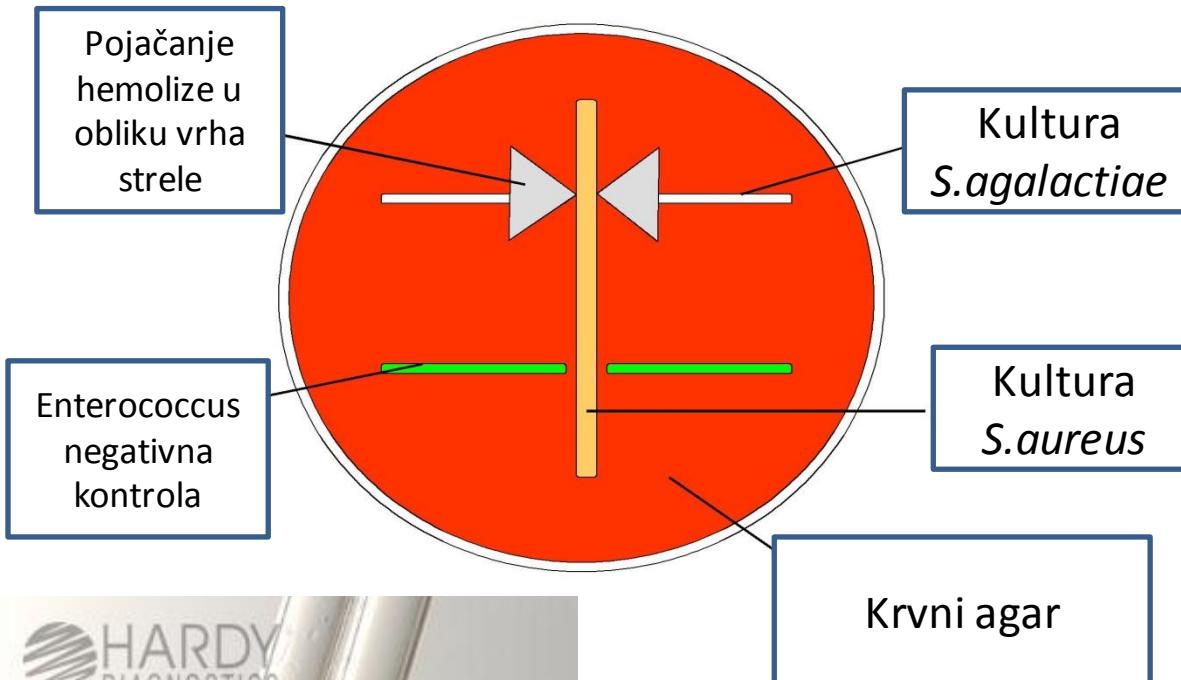
Na krvnom agaru se  
uočava tipična beta  
hemoliza

! Ima sojeva GBS bez  
beta hemolize

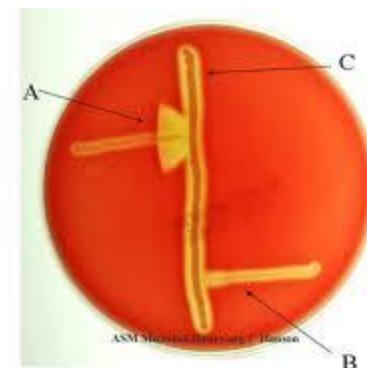
Selektivne čvrste  
podloge:  
CNA – Columbia krvni  
agar sa kolisitnom i  
nalidiksinskom kiselinom  
NNA – sa neomicinom i  
nalidiksinskom kiselinom

# Identifikacija *S.agalactiae*

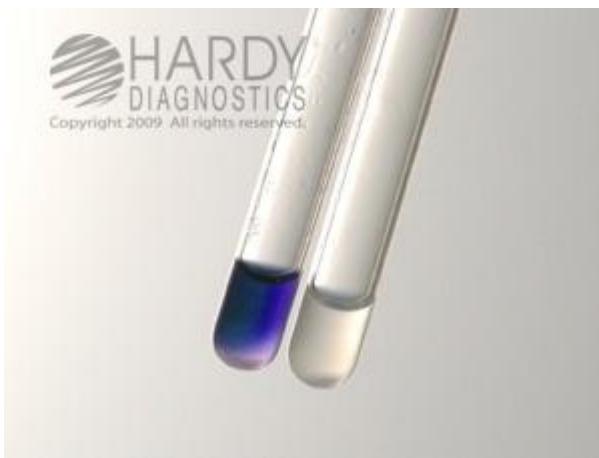
## CAMP test za identifikaciju *S.agalactiae*



Tipična beta hemoliza *S.agalactiae* na krvnom agaru



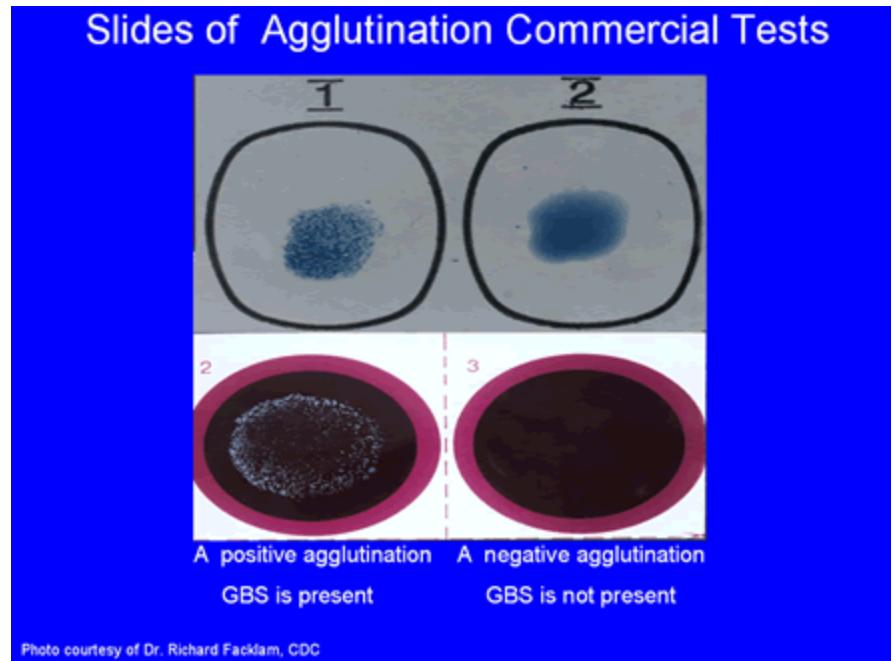
Hidroliza natrijum hipurata



**HARDY**  
DIAGNOSTICS  
Copyright 2009. All rights reserved.

# Identifikacija reakcijom lateks aglutinacije – detekcija grupno specifičnog antiga GBS

---



# Brzi testovi za detekciju GBS direktno u brisu

---

---

- Brzi testovi za detekciju antigena – nedovoljna osetljivost
- Molekularni test - testovi hibridizacije nukleinskih kiselina

Dobra specifičnost/niska osetljivost

Dobar test bi omogućio detekciju GBS neposredno pre porođaja

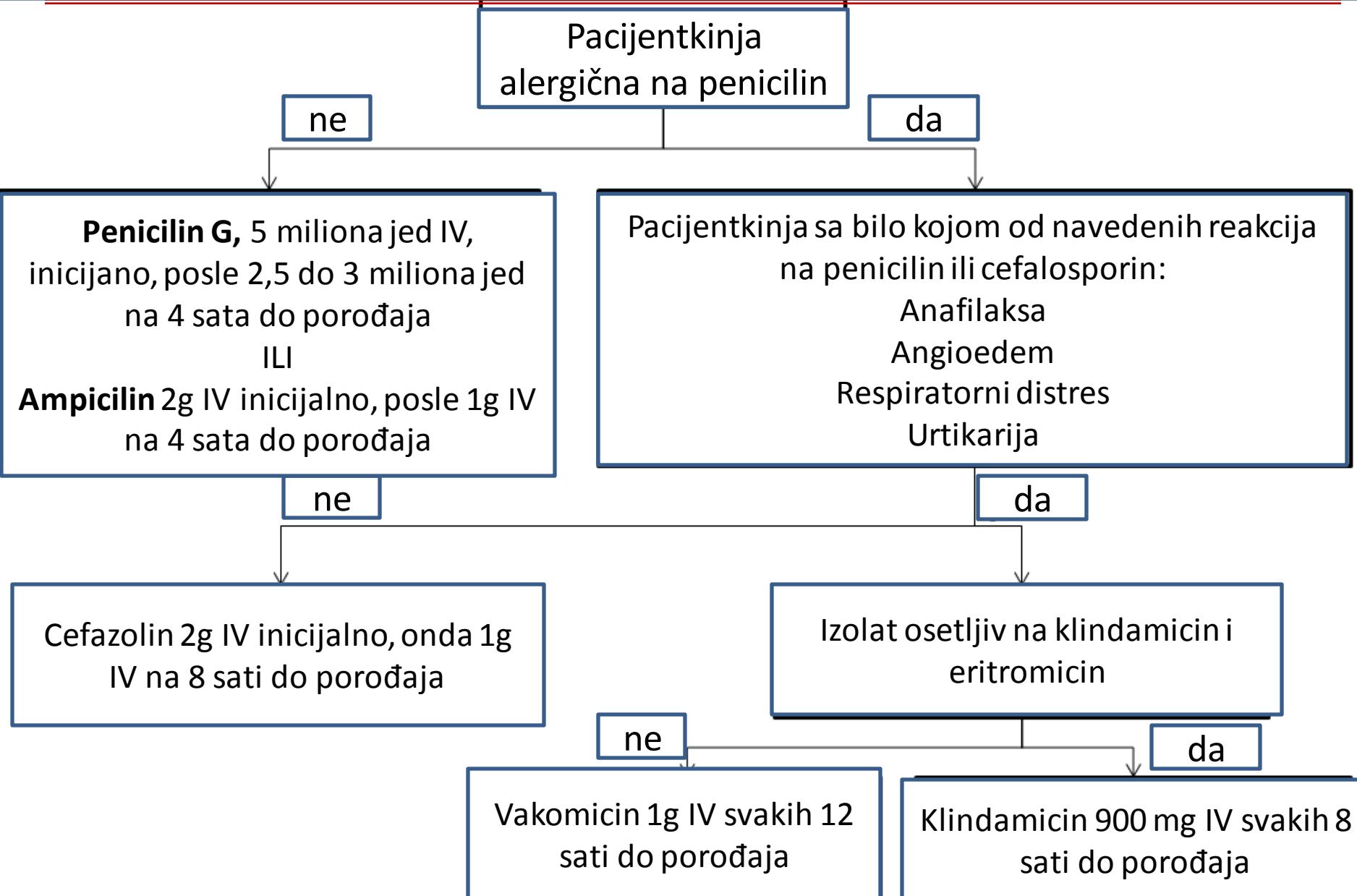
- Molekularni test - PCR test

# Izbor antibiotika

---

- **Penicilin** se smatra lekom izbora (GBS dobro reaguje na penicilin; pen ima uzak spektar delovanja; ne indukuje razvoj rezistencije...)
- Alternativa je **ampicilin**
- Oba leka brzo postižu dobre koncentracije u fetalnoj krvi i amnionskoj tečnosti
- Daju se bar 4 sata pre porođaja, radi prevencije vertikalne transmisije
- Drugi antibiotici – cefazolin
- U slučaju alergije na penicilin, daje se **klindamicin** ili **vankomicin**

# Preporuke za intraportalnu profilaksu antibioticima u cilju prevencije BRP izazvane GBS

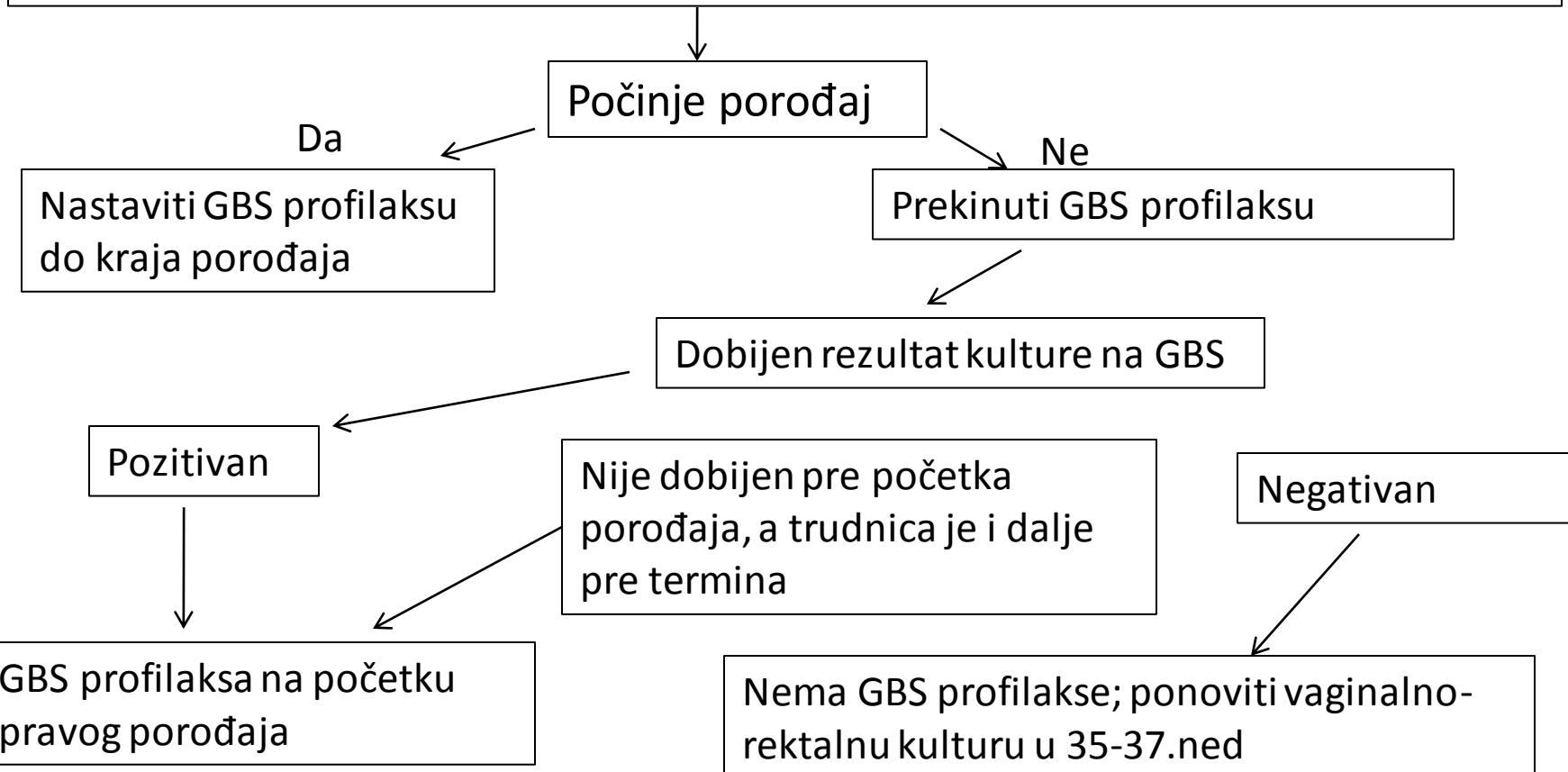


# Algoritam za intrapartalnu profilaksu GBS kod trudnica sa pretećim prevremenim porođajem

Pacijentkinja sa znacima prevremenog porođaja – ako ima rezultat kulture GBS u poslednjih 5 nedelja, rukovoditi se rezultatom

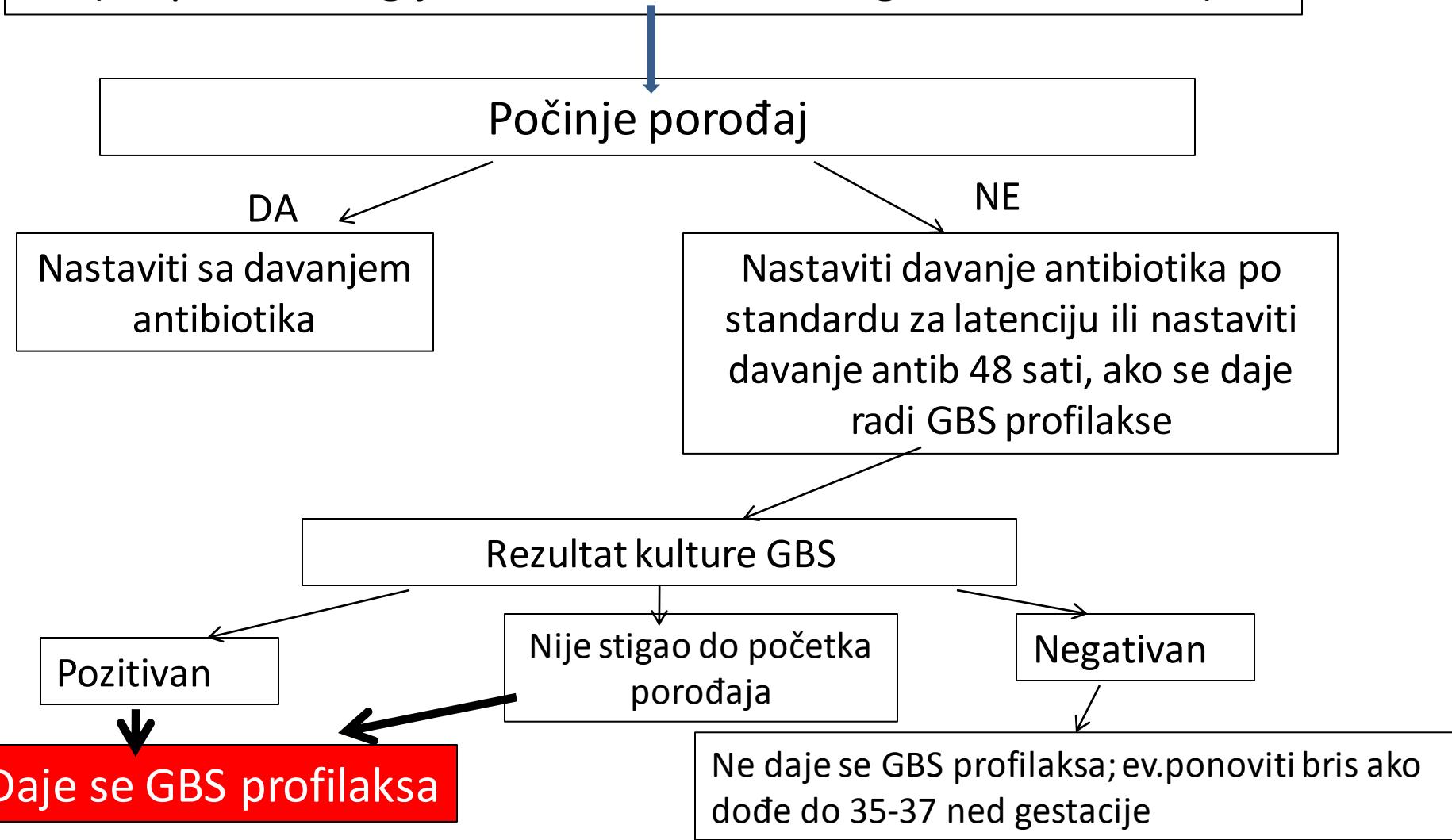


Ako nema rezultata ili je star > 5 ned, uzeti vaginalno-rektalni bris i **započeti profilaksu**



# Algoritam za intrapartalnu profilaksu GBS kod trudnica sa preranom rupturom membrana

Uzeti vaginalno-rektalni bris i započeti antibiotike za latenciju  
(ampicilin i.v. 2g jedna doza, na 6 sati 1g i.v., bar 48 sati)



# Kritični faktori, ograničenja i mogućnosti unapređenja intraportalne profilakse

---

---

Pojava BRP kod beba rođenih u terminu, čije su majke bile GBS negativne ili prerano rođene dece čije majke nisu kontrolisane ukazuje da je potrebno raditi na daljem unapređenju skrininga

Mere poboljšanja mikrobioloških procedura:

- ✓ Odgovarajući transportni medijumi
- ✓ Skraćenje vremena koje protekne od uzimanja materijala do obrade u lab na manje od 48 sati
- ✓ Upotreba obogaćenih selektivnih podloga za izolaciju GBS

## Potencijalni neželjni efekti intraportalne hemoprofilakse GBS:

---

---

- alergija na penicilin (blage reakcije) i anafilaktički šok (vrlo retko)
- pojava sojeva GBS rezistentnih na standardnu terapiju (za sada nema sojeva rezistentnih na penicilin/ampicilin; u porastu rezistencija na eritromicin/klindamicin)
- povećana incidenca teških neonatalnih infekcija izazvanih drugim patogenima koji su rezistentni na antibiotike (pr.*E.coli*)

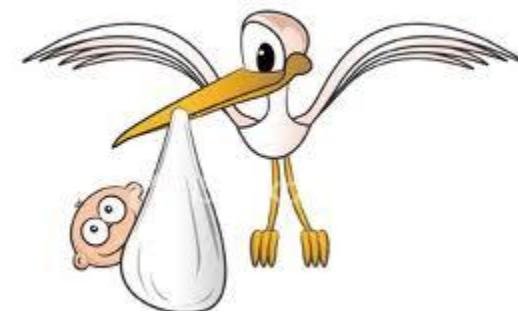
# Razlozi da se nastavi sa “skriningom” trudnica na GBS i intrapartalnom hemoprofilaksom GBS:

---

Dosadašnje mere su dovele do značajnog pada incidence teških oblika GBS bolesti, a nije došlo do porasta incidence sepse izazvane drugim patogenima zbog intraportalne GBS profilakse

Alergije su blage, anafilaktički šok vrlo redak

Porast incidence rezistentnih patogena ne može se povezati sa intrapartalnom profilaskom GBS, jer se antibiotici često daju u trudnoći i iz drugih razloga



Zabrinjavajuće bi bilo ukoliko bi se pojavili sojevi GBS rezistentni na penicilin i ukoliko bi došlo do porasta incidence invazivnih BRP izazvanih drugim patogenima u stepenu koji premašuje pozitivan efekat mera za smanjenje GBS invazivnih bolesti

# Zemlje u kojima se rutinski radi skrining trudnica na kolonizaciju GBS for GBS

- Australija
- Argentina
- Belgija
- Kanada
- Republika Češka
- Francuska
- Nemačka
- Hong Kong
- Italija
- Kenija
- Poljska
- Španija
- Slovenija
- Švajcarska
- SAD

# Stepen redukcije BRP izazvane GBS

- Australija 82% (Daley et al, 2004)
- Španija 86% (Andreu et al, 2003)
- Francuska 71% (Albouy-Llaty et al, 2011)
- SAD 86% (Jordan et al, 2008)

