

Amoxicillineconcentraties in sputum in relatie tot bètalactamase-activiteit bij COPD-patiënten

R.W.M.A. van der Zanden ^{a*}, M.G.J. Brusse-Keizer ^b,
P.D.L.P.M. van der Valk ^c, M.G.R. Hendrix ^d, J. van der Palen ^{e,f} en
K.L.L. Movig ^g

^a Ziekenhuisapotheke i.o., Afdeling Klinische Farmacie, Medisch Spectrum Twente, Enschede.

^b Epidemioloog, Onderzoeksbureau Longgeneeskunde, Medisch Spectrum Twente, Enschede.

^c Longarts, Afdeling Longgeneeskunde, Medisch Spectrum Twente, Enschede.

^d Arts-microbioloog, Regionaal Laboratorium voor Microbiologie Twente Achterhoek, Enschede.

^e Klinisch epidemioloog, Afdeling Onderzoeksmethodologie, Meetmethoden en Data-analyse, Universiteit Twente, Enschede.

^f Klinisch epidemioloog, Medical School Twente, Medisch Spectrum Twente, Enschede.

^g Ziekenhuisapotheke, Afdeling Klinische Farmacie, Medisch Spectrum Twente, Enschede.

* Correspondentie: r.vander.zanden@mumc.nl. Thans: ziekenhuisapotheke, Afdeling Klinische Farmacie & Toxicologie, Academisch Ziekenhuis Maastricht.

KERNPUNTEN

- COPD-exacerbaties worden vaak behandeld met antibiotica, hoewel het nut daarvan omstreden is.
- Patiënten met adequate antibioticaconcentraties liggen gemiddeld korter in het ziekenhuis dan patiënten met niet-adequate concentraties.
- Er was in dit onderzoek geen relatie tussen bètalactamase-activiteit en een lage amoxicillineconcentratie in sputum.
- De meeste patiënten hadden amoxicillineconcentraties in sputum beneden de minimale inhibitoire concentratie (MIC), terwijl de serumconcentratie amoxicilline meestal wel hoger was dan de MIC.

Inleiding

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) komt wereldwijd voor bij ruim 15% van alle rokers. In Nederland lijden ruim 300.000 mensen aan COPD. COPD is een belangrijke oorzaak van morbiditeit en mortaliteit [1]. COPD wordt gekarakteriseerd door frequente verergering van klachten (exacerbaties), waarvoor patiënten regelmatig in het ziekenhuis worden opgenomen. Gemiddeld hebben COPD-patiënten één tot drie exacerbaties per jaar. Hoewel de effectiviteit van antibiotica bij milde tot matig ernstige exacerbaties niet wetenschappelijk is vastgesteld, wordt een exacerbatie vaak behandeld met een stootkuur corticosteroïden, gecombineerd met antibiotica zoals amoxicilline + clavulaanzuur [2, 3].

ABSTRACT

Sputum amoxicillin concentrations in relation to beta-lactamase activity in COPD patients

OBJECTIVE

To investigate the relationship between beta-lactamase activity and amoxicillin concentration in sputum of COPD patients. The amoxicillin concentration in target tissues should be higher than the minimum inhibitory concentration (MIC₉₀; value 2 mg/l). A previous study showed that patients with sputum amoxicillin concentrations < MIC₉₀ were hospitalized four days longer than patients with a concentration ≥ MIC₉₀. The sputum concentration of amoxicillin might have been influenced by beta-lactamase activity.

DESIGN

Observational cross-sectional study.

METHODS

Patients over 40 years of age who were treated with amoxicillin + clavulanic acid for a COPD exacerbation were included. Sputum and serum concentrations of amoxicillin were determined on the third day of antibiotic treatment. Beta-lactamase activity was measured in sputum.

RESULTS

23 patients were included. We found no difference in beta-lactamase activity between patients with a sputum amoxicillin concentration < MIC₉₀ or ≥ MIC₉₀ ($p = 0.79$). Multivariate logistic regression analysis showed no significant relation between beta-lactamase activity and sputum amoxicillin concentrations < MIC₉₀ or ≥ MIC₉₀ (OR = 0.002; CI₉₅ 0.00-6.9; $p = 0.13$). Amoxicillin concentrations were < MIC₉₀ in 18 sputum samples (78%). Amoxicillin serum concentrations were adequate (≥ MIC₉₀) in 16 patients (70%).

CONCLUSION

We found no difference in beta-lactamase activity between patients with sputum amoxicillin concentrations below or above the MIC₉₀ or ≥ MIC₉₀ in patients who were treated with amoxicillin + clavulanic acid. The finding that a majority of patients had a sputum amoxicillin concentration < MIC₉₀ suggests that these patients are being undertreated.

van der Zanden RWMA, Brusse-Keizer MGJ, van der Valk PDLPM, Hendrix MGR, van der Palen J, Movig KLL. Amoxicillineconcentraties in sputum in relatie tot bètalactamase-activiteit bij COPD-patiënten. PW Wetenschappelijk Platform. 2011;5:a1118.

Theoretisch zou amoxicilline moeten penetreren in de vloeistoffen in de longen (onder andere sputum) om effectief te kunnen zijn, aangezien de behandeling gericht is op bacteriën in deze matrix. Er

is weinig bekend over de penetratie en concentratie van amoxicilline in sputum bij COPD-patiënten. De beperkte gegevens suggereren dat concentraties amoxicilline in sputum grote interindividuele verschillen vertonen [4-6]. In een eerder onderzoek bleek dat 66% van de COPD-patiënten die voor een exacerbatie behandeld werden met amoxicilline + clavulaanzuur, in sputum een amoxicillineconcentratie bereikte onder de *minimum inhibitory concentration* (MIC90) voor de meest voorkomende pathogenen, terwijl bloedspiegels meestal wel boven de MIC90 lagen [4]. Daarnaast liet dit onderzoek zien dat patiënten met een amoxicillineconcentratie in sputum van minimaal de MIC90, gemiddeld vier dagen korter in het ziekenhuis lagen. Een hypothese voor de observatie van het grote percentage patiënten met een concentratie onder de MIC90 is dat amoxicilline in het sputum van COPD-patiënten wordt afgebroken door (verhoogde) bètalactamase-activiteit [7]. Het is mogelijk dat het sputum van sommige patiënten een relatief overschot aan bètalactamase-activiteit heeft, veroorzaakt door lokaal aanwezige bacteriën. Dit zou de amoxicillineconcentratie in sputum kunnen doen dalen tot subtherapeutische waarden. Doel van dit onderzoek was, na te gaan of er een relatie is tussen bètalactamase-activiteit en amoxicillineconcentratie in sputum.

Methoden

Opzet en populatie

Het betrof een observationeel cross-sectioneel onderzoek. COPD-patiënten ouder dan 40 jaar die werden behandeld met amoxicilline + clavulaanzuur, werden geselecteerd via de opname-registratie van de longafdeling in Medisch Spectrum Twente te Enschede. De belangrijkste exclusiecriteria waren het gebruik van antibiotica als onderhoudsbehandeling en nierfunctiestoornissen (glomerulaire filtratiesnelheid < 30 ml/min). Het onderzoek werd beoordeeld door de medisch ethische toetsingscommissie van Medisch Spectrum Twente. Alle patiënten gaven schriftelijk toestemming voor deelname.

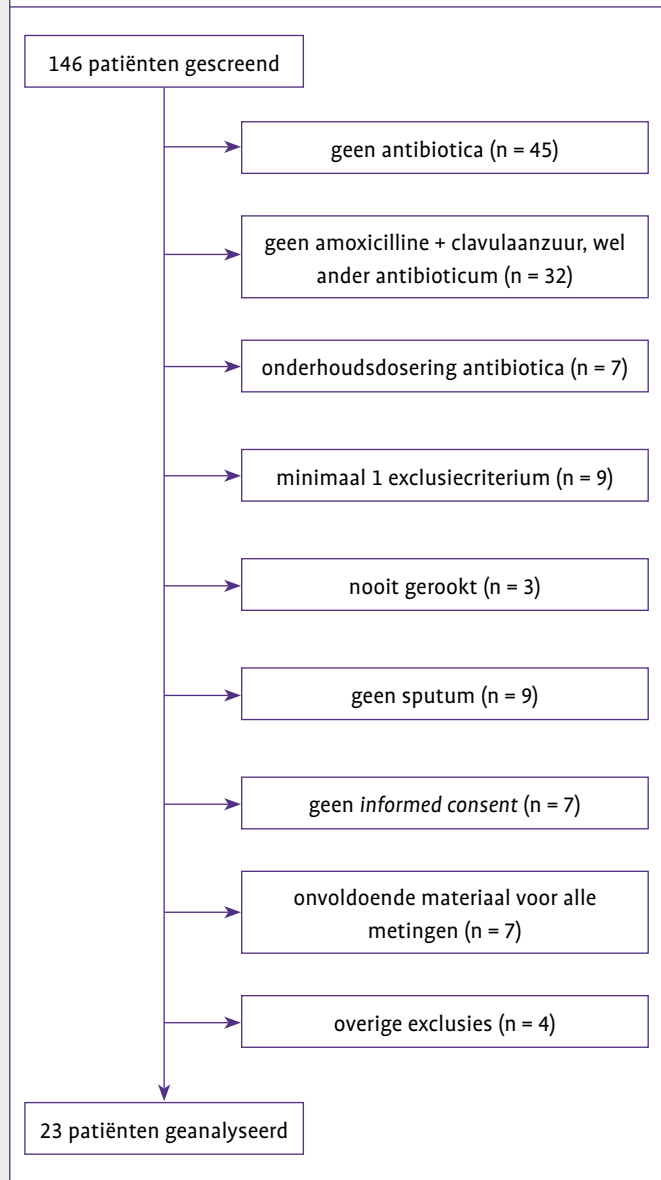
Meting van concentratie en activiteit

Op de derde dag van de behandeling met amoxicilline + clavulaanzuur werden een serummonster en een sputummonster afgenomen (topspiegels). De derde dag was gekozen omdat verwacht werd dat amoxicilline dan een *steady state*-concentratie in sputum heeft bereikt [8]. Het serummonster werd opgeslagen bij -20°C. Van het sputummonster werd een standaard kweek ingezet. Het sputummonster werd ingevroren bij -80°C. Vóór de bepaling van de bètalactamase-activiteit en de amoxicillineconcentratie werd het ingevroren sputum gelyseerd met behulp van een Roche MagNA Lyser. De amoxicillineconcentraties in sputum en serum werden bepaald met een voor dit onderzoek opgezette en gevalideerde LC-MS/MS-methode [van der Zanden RWMA, ongepubliceerde gegevens]. De ondergrens voor de bepaling van amoxicilline in sputum was 0,22 mg/l.

De bètalactamase-activiteit in sputum werd bepaald door de omzettingsscapaciteit te meten voor nitrocefine, een bètalactam die tevens chromogeen substraat is. Nitrocefine werd spectrofotometrisch gemeten bij 490 nm. De activiteit werd gekwantificeerd

FIGUUR 1

Stroomschema inclusie



door de gemeten activiteit te vergelijken met de activiteit van een standaard, die was gemaakt van een lysaat van bètalactamase-positieve *Haemophilus influenzae*. De bètalactamase-activiteit werd uitgedrukt als een continue maat in procenten. Hierdoor was het mogelijk de activiteit van monsters onderling te vergelijken [van der Zanden RWMA, ongepubliceerde gegevens].

Als afkappunt voor een adequate spiegel werd een amoxicillineconcentratie van 2 mg/l gekozen. Deze waarde komt overeen met de MIC90 van amoxicilline voor de meest voorkomende pathogenen bij COPD, bij behandeling met de combinatie van amoxicilline + clavulaanzuur.

Om de relatie tussen bètalactamase-activiteit en sputumconcentratie amoxicilline te onderzoeken, werden patiënten op basis van de in sputum gemeten amoxicillineconcentratie onderverdeeld in twee groepen: < MIC90 of ≥ MIC90.

Statistische analyse

De relatie tussen bètalactamase-activiteit en amoxicillineconcentratie onder of boven MIC₉₀ werd vanwege de niet-normale verdeling getoetst met de Mann-Whitney-U-test. De relatie tussen de bètalactamase-activiteit en de MIC₉₀ enerzijds en potentieel versturende variabelen anderzijds werd geanalyseerd met de geëigende toetsen. Potentieel versturende variabelen die statistisch samenhangen met zowel bètalactamase-activiteit als MIC₉₀ ($p \leq 0,15$), werden opgenomen in een multivariaat logistisch regressiemodel. Via stapsgewijze eliminatie werd het model verkleind totdat de passing van het model significant verslechterde.

Alle statistische analyses werden uitgevoerd met SPSS versie 15.0.

Resultaten

Tussen november 2009 en maart 2010 kwamen 146 patiënten in aanmerking voor inclusie. Er werden 23 patiënten geïncludeerd en volledig geanalyseerd (figuur 1 en tabel 1). Belangrijkste redenen voor exclusie waren het niet gebruiken van antibiotica ($n = 45$) of het gebruiken van een ander antibioticum dan amoxicilline + clavulaanzuur ($n = 32$).

De mediane bètalactamase-activiteit in de groep met een amoxicillineconcentratie onder dan wel boven de MIC₉₀ was respectievelijk 0,35% en 0,32% ($p = 0,79$).

In 18 van de 23 sputummonsters (78%) werd een amoxicillineconcentratie gevonden lager dan de MIC₉₀. In 6 daarvan (26%) was de concentratie zelfs lager dan de detectiegrens. In 16 van de 23 serummonsters (70%) werd een concentratie van minimaal de MIC₉₀ gevonden (tabellen 2 en 3). Van de patiënten die een serumspiegel onder de MIC₉₀ hadden (30%), had geen enkele patiënt een sputumspiegel van minimaal de MIC₉₀.

Toedieningsweg ($p = 0,03$) en dagdosering clavulaanzuur ($p = 0,04$) waren significant geassocieerd met bètalactamase-activiteit en amoxicillineconcentratie in sputum onder dan wel boven de MIC₉₀.

Multivariate logistisch regressieanalyse liet geen significante relatie zien tussen bètalactamase-activiteit en sputumconcentratie amoxicilline onder of boven de MIC₉₀ (oddsratio 0,002; 95%-betrouwbaarheidsinterval 0,00-6,9; $p = 0,13$). De waarschijnlijkheid om bij intraveneuze toediening een sputumspiegel van minimaal de MIC₉₀ te behalen was 80 keer zo groot als bij orale toediening (oddsratio 80,6; 95%-betrouwbaarheidsinterval 1,6-4100; $p = 0,03$).

Beschouwing en conclusie

Er werd geen verschil in bètalactamase-activiteit aangetoond tussen patiënten met een amoxicillinespiegel in sputum onder de MIC₉₀ en patiënten met een amoxicillinespiegel van minimaal de MIC₉₀. Bètalactamase-activiteit is waarschijnlijk niet de verklaring voor de gevonden lage sputumconcentraties amoxicilline. Een mogelijke verklaring voor deze observatie is dat de door bacteriën geproduceerde bètalactamase-enzymen reeds met kleine hoeveelheden clavulaanzuur geremd kunnen worden [9]. Dit zou betekenen dat de hoeveelheid clavulaanzuur in sputum in beide groepen voldoende was om de eventueel aanwezige bètalactamase-activiteit te doen dalen tot lage waarden, juist boven de detectiegrens.

TABEL 1

Patiëntenkarakteristieken

Kenmerk	n = 23
Leeftijd in jaren (standaarddeviatie)	71,0 (8,9)
Geslacht	
• man	17 (74%)
• vrouw	6 (26%)
GOLD-classificatie [□]	
• I	2 (9%)
• II	6 (26%)
• III	8 (35%)
• IV	7 (30%)
Toedieningsweg amoxicilline + clavulaanzuur	
• oraal	15 (65%)
• intraveneus	8 (35%)
Mediane dagdosering clavulaanzuur (mg) (spreiding)	375 (375-800)
Mediane amoxicillineconcentratie (mg/l) (spreiding)	
• serum	4,7 (0,2-21,4)
• sputum	0,6 (0,0-10,2)
Mediane bètalactamase-activiteit (% van referentie) (spreiding)	0,34 (0,00-1,73)
Exacerbatie met pneumonie	9 (39%)
Gelijktijdig gebruik andere antibiotica	5 (22%)

[□] GOLD-classificatie; I: milde COPD; IV: zeer ernstige COPD.

In dit onderzoek had 78% van de patiënten geen adequate sputumconcentratie amoxicilline. Bij 26% van de patiënten lag de concentratie zelfs onder de detectiegrens. Serumspiegels amoxicilline bereikten bij 70% van de patiënten wel minimaal de MIC₉₀. Van de patiënten die een serumspiegel onder de MIC₉₀ hadden (30%), had geen enkele patiënt een sputumspiegel van minimaal de MIC₉₀. De klinische consequenties van onderbehandeling kunnen aanzienlijk zijn. In eerder onderzoek lagen patiënten gemiddeld vier dagen langer in het ziekenhuis bij een sputumconcentratie amoxicilline onder de MIC₉₀ [4]. Vanwege de matige sputumpenetratie van amoxicilline is het relevant andere antibiotica dan amoxicilline te onderzoeken, die mogelijk beter penetreren in sputum [10]. Ook het inhaleren van amoxicilline of andere antibiotica zou mogelijk tot adequate antibioticaspiegels in sputum kunnen leiden [11]. De rol van bacteriën bij COPD-exacerbaties, en daarmee de rol van antibiotica, is niet duidelijk vastgesteld. COPD-patiënten krijgen bij een exacerbatie echter vaak antibiotica voorgeschreven. De effectiviteit van antibiotica bij COPD-patiënten die met een exacerbatie worden opgenomen, blijft controversieel. Recent Nederlands onderzoek liet zien dat er na 30 dagen geen verschil in effectiviteit is tussen doxycycline en placebo [12]. Een recent Amerikaans (retrospectief) cohortonderzoek met ruim 84.000 patiënten liet echter een (klein) positief effect zien van het gebruik van antibiotica die binnen twee dagen

TABEL 2

Associatie van potentieel versturende variabelen met bètalactamase-activiteit

Variabele	Mediane bètalactamase-activiteit (in % van referentie) [spreiding]	p-waarde
Geslacht		0,86
• man	0,34 [0,07-0,77]	
• vrouw	0,36 [0,00-1,73]	
Exacerbatie met pneumonie		0,3
• nee	0,33 [0,00-0,77]	
• ja	0,55 [0,17-1,73]	
GOLD-classificatie [□]		0,46
• I	0,55 [0,48-0,62]	
• II	0,44 [0,18-0,69]	
• III	0,30 [0,00-0,77]	
• IV	0,36 [0,17-1,73]	
Toedieningsvorm		0,06
• oraal	0,31 [0,00-1,73]	
• intraveneus	0,57 [0,28-0,77]	
Comedicatie andere antibiotica		0,77
• nee	0,34 [0,00-1,73]	
• ja	0,36 [0,24-0,69]	
Dagdosering clavulaanzuur (mg)		0,08
• 375	0,28 [0,00-1,73]	
• 500	0,48 [0,33-0,55]	
• 800	0,57 [0,28-0,77]	
Correlatie met bètalactamase-activiteit (Spearman's rho)		
Leeftijd	-0,05	0,81
Amoxicillinespiegel in serum	0,22	0,3

[□] GOLD-classificatie; I: milde COPD; IV: zeer ernstige COPD.

na opname in het ziekenhuis gestart werden [13].

Intraveneuze therapie gaf een hogere kans om adequate sputumspiegels amoxicilline te bereiken, mogelijk omdat bij intraveneuze toediening de toegediende hoeveelheid aanzienlijk hoger is dan bij orale toediening en de biologische beschikbaarheid maximaal is. Gezien het brede betrouwbaarheidsinterval is de verwachting dat dit effect minder sterk is dan de oddsratio doet vermoeden.

Onderzoek in sputum kent nadelen. Zo kunnen niet alle patiënten

sputum produceren, wat selectiebias zou kunnen introduceren.

Sputuminductie met hypertoon zout zou hierbij een hulpmiddel kunnen zijn [14]. Een voordeel van het onderzoek in sputum is dat er direct gemeten wordt in de matrix die geldt als bron van (potentiële) infectie. Er is gesuggereerd dat metingen in sputum de effectiviteit van antibiotica goed zouden kunnen voorspellen [15].

In de onderzoeksperiode van vijf maanden zijn in totaal

TABEL 3

Potentieel versturende variabelen die tevens geassocieerd zijn met MIC90

	< MIC90 in sputum	≥ MIC90 in sputum	p-waarde
Toedieningsvorm (n)			0,03
• oraal	14 (78%)	1 (20%)	
• intraveneus	4 (22%)	4 (80%)	
Mediane dagdosering clavulaanzuur (mg) (spreiding)	375 (375-800)	800 (375-800)	0,04

MIC90: Minimum inhibitory concentration voor 90% van de bij COPD meest voorkomende micro-organismen

146 patiënten opgenomen voor een COPD-exacerbatie. Hiervan zijn uiteindelijk slechts 23 patiënten geïncubeerd. De belangrijkste redenen voor dit lage aantal zijn dat 45 patiënten geen antibiotica gebruikten en dat 32 patiënten een ander antibioticum kregen dan amoxicilline + clavulaanzuur. Daarnaast was er van 7 patiënten te weinig materiaal om alle bepalingen uit te voeren en konden 9 patiënten helemaal geen sputum ophoesten.

Concluderend kan gesteld worden dat er bij COPD-patiënten die behandeld worden met amoxicilline + clavulaanzuur, geen relatie is tussen bètalactamase-activiteit in sputum en amoxicilline-sputumspiegels onder of boven de MIC₉₀. Opvallend is daarnaast dat veel patiënten geen amoxicillinespiegel van minimaal de MIC₉₀ bereiken, waardoor zij mogelijk onderbehandeld worden. Verder onderzoek naar de redenen voor deze bevinding is van belang om betere behandelstrategieën te vinden bij COPD-exacerbaties.

Gebaseerd op het registratieonderzoek van R.W.M.A. van der Zanden.

LITERATUUR

- Boezen HM, Postma DS, Smit HA. COPD samengevat. In: Volksgezondheid Toekomst Verkenning, Nationaal Kompas Volksgezondheid. Bilthoven: RIVM; 2008.
- Puhan MA, Vollenweider D, Latshang T, et al. Exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: when are antibiotics indicated? A systematic review. *Respir Res.* 2007;8:30.
- Ram FS, Rodriguez-Roisin R, Granados-Navarrete A, et al. Antibiotics for exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006;(2):CD004403.
- Brusse-Keizer MGJ. COPD exacerbations: treatment and outcome [dissertatie]. Enschede: Universiteit Twente; 2009.
- Davies B, Maesen F. Serum and sputum antibiotic levels after ampicillin, amoxycillin and bacampicillin chronic bronchitis patients. *Infection.* 1979;7 Suppl 5:S465-8.
- Ingold A. Sputum and serum levels of amoxycillin in chronic bronchial infections. *Br J Dis Chest.* 1975;69:211-6.
- Sánchez Navarro A. New formulations of amoxicillin/clavulanic acid: a pharmacokinetic and pharmacodynamic review. *Clin Pharmacokinet.* 2005;44(11):1097-115.
- Lovering AM, Pycok CJ, Harvey JE, Reeves DS. The pharmacokinetics and sputum penetration of ampicillin and amoxycillin following simultaneous i.v. administration. *J Antimicrob Chemother.* 1990;25(3):385-92.
- Cooper CE, Slocombe B, White AR. Effect of low concentrations of clavulanic acid on the in-vitro activity of amoxycillin against beta-lactamase-producing *Branhamella catarrhalis* and *Haemophilus influenzae*. *J Antimicrob Chemother.* 1990;26(3):371-80.
- Baldwin DR, Honeybourne D, Wise R. Pulmonary disposition of antimicrobial agents: in vivo observations and clinical relevance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992;36(6):1176-80.
- Stockley RA, Hill SL, Burnett D. Nebulized amoxicillin in chronic purulent bronchiectasis. *Clin Ther.* 1985;7(5):593-9.
- Daniels JM, Snijders D, de Graaff CS, et al. Antibiotics in addition to systemic corticosteroids for acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;181(2):150-7.
- Rothberg MB, Pekow PS, Lahti M, et al. Antibiotic therapy and treatment failure in patients hospitalized for acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *JAMA.* 2010;303(20):2035-42.
- Bathoorn E, Liesker J, Postma D, et al. Safety of sputum induction during exacerbations of COPD. *Chest.* 2007;131(2):432-8.
- Baldwin DR, Honeybourne D, Wise R. Pulmonary disposition of antimicrobial agents: methodological considerations. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992;36(6):1171-5.

Kosteneffectiviteit van polyvalente pneumokokkenvaccins

Maarten Postma

Sinds 2001 is in Nederland een geconjugiseerd vaccin beschikbaar voor de preventie van pneumokokkeninfecties bij kinderen. Dit 7-valente vaccin beschermt direct tegen zeven veel voorkomende pneumokokkentypen. Het bleek dat er niet alleen bij gevaccineerde kinderen minder besmettingen en ziekten waren, maar ook bij mensen die niet waren ingeënt, zoals (groot)ouders van gevaccineerde baby's. Rekening houdend met deze indirecte positieve effecten van vaccinatie werd de kosteneffectiviteit in nieuwe berekeningen voor Nederland in 2005 geschat op minder dan € 20.000 per *quality-adjusted life year* (QALY). Na opname in het Rijksvaccinatieprogramma werd echter een toename van ziekte waargenomen, veroorzaakt door niet in het vaccin aanwezige pneumokokkentypen: indirecte negatieve effecten. Rozenbaum e.a. berekenden op basis van deze nieuwe gegevens een ratio van € 114.000 per QALY en concluderen dat vaccinatie met het 7-valente vaccin in Nederland niet (meer) kosteneffectief is. Onlangs zijn twee nieuwe pneumokokkenvaccins beschikbaar gekomen die een bredere dekking bieden dan het 7-valente vaccin. De onderzoekers berekenden eveneens de kosteneffectiviteit van

de nieuwe pneumokokkenvaccins (10-valent en 13-valent). De nieuwe polyvalente vaccins bieden meer gezondheidsvoordelen doordat ze tegen meer typen bescherming bieden, waardoor er waarschijnlijk minder ziekte zal worden veroorzaakt door pneumokokkentypen die zich niet in het vaccin bevinden, en er ook meer indirecte positieve effecten bij ouderen te verwachten zijn. Deze effecten doen de kosten dalen tot ratio's die in Nederland wellicht acceptabel zijn: minder dan € 50.000 per QALY. Mede naar aanleiding van dit onderzoek zal Nederland binnen het Rijksvaccinatieprogramma inderdaad binnenkort overgaan op het 10-valente vaccin.

Rozenbaum MH, Sanders EA, van Hoek AJ, Jansen AG, van der Ende A, van den Dobbelsteen G, Rodenburg GD, Hak E, Postma MJ. Cost effectiveness of pneumococcal vaccination among Dutch infants: economic analysis of the seven valent pneumococcal conjugated vaccine and forecast for the 10 valent and 13 valent vaccines. *BMJ.* 2010;340:c2509.

Postma M. Kosteneffectiviteit van polyvalente pneumokokkenvaccins. *PW Wetenschappelijk Platform.* 2011;5:e1115.