

KHẢO SÁT NỒNG ĐỘ THUỐC KHÁNG LAO RIFAMPICIN TRÊN BỆNH NHÂN LAO PHỔI TÁI ĐIỀU TRỊ BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

Dương Thị Loan¹, Trần Ngọc Dung¹ và Trần Nhân Dũng²

¹ Khoa Y, Trường Đại học Y dược Cần Thơ

² Viện Nghiên cứu & Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 21/02/2014

Ngày chấp nhận: 28/04/2014

Title:

Monitoring rifampicin concentration in plasma of re-treated pulmonary tuberculosis patients by the method of high performance liquid chromatography

Từ khóa:

Rifampicin, sắc ký lỏng hiệu năng cao, lao phổi tái điều trị, nồng độ điều trị

Keywords:

Rifampicin, high performance liquid chromatography, re-treatment of tuberculosis, therapeutic concentrations range

ABSTRACT

Rifampicin concentration in plasma of re-treated pulmonary tuberculosis patients at the Can Tho Tuberculosis and Pulmonary Disease Hospital was determined by high performance liquid chromatography (HPLC) method. Thirty five patients were investigated in this study to understand factors which are related to the drug concentrations in plasma of re-treated pulmonary tuberculosis patients compared to the standard concentration recommended by the national program for anti-tuberculosis disease. Cross-sectional descriptive study (a study in a certain period) was conducted with 70 plasma samples. The samples were taken at two events: 2 hours and 3 hours after swallowing. Average concentrations of rifampicin in plasma at 3 hours ($4.23 \pm 5.21 \mu\text{g/ml}$) was significantly higher (with $p < 0.05$) than that of rifampicin in plasma at the time of 2 hours ($2.67 \pm 3.32 \mu\text{g/ml}$). Only 8.6% of patients at the time of 2 hours and 22.9% of patients at the time of 3 hours lined between the therapeutic concentrations range (8-24 $\mu\text{g/ml}$). There is a significant relation between concentrations of rifampicin in plasma of re-treated pulmonary tuberculosis patients with therapeutic doses and the age of patients ($p < 0.05$).

TÓM TẮT

Dùng phương pháp sắc ký lỏng để xác định nồng độ thuốc rifampicin trên bệnh nhân lao phổi tái điều trị tại Bệnh viện Lao và Bệnh phổi Thành phố Cần Thơ. Tìm hiểu các yếu tố liên quan đến việc nồng độ thuốc đạt hay không đạt nồng độ chuẩn trong huyết tương bệnh nhân mắc lao phổi tái điều trị. Nghiên cứu mô tả cắt ngang được tiến hành với 70 mẫu huyết tương được lấy ở 2 thời điểm 2 giờ và 3 giờ sau khi uống thuốc rifampicin (RMP) của 35 bệnh nhân lao phổi tái điều trị đem phân tích bằng sắc ký lỏng (HPLC). Kết quả chỉ rằng nồng độ RMP huyết tương trung bình ở thời điểm 3 giờ ($4,23 \pm 5,21 \mu\text{g/ml}$) cao hơn so với ở thời điểm 2 giờ ($2,67 \pm 3,32 \mu\text{g/ml}$) với $p < 0,05$. Chỉ có 8,6% bệnh nhân ở thời điểm 2 giờ và 22,9% bệnh nhân ở thời điểm 3 giờ đạt phạm vi nồng độ điều trị (8-24 $\mu\text{g/ml}$). Có mối tương quan thuận chiều giữa nồng độ RMP huyết tương với liều điều trị và với tuổi của nhóm bệnh nhân nghiên cứu ($p < 0,05$).

1 GIỚI THIỆU

Bệnh lao là một trong ba bệnh truyền nhiễm gây tử vong cao nhất ở các nước đang phát triển.

Năm 2011, Việt Nam xếp thứ 12/22 Quốc gia có số bệnh nhân nhiễm lao cao nhất thế giới, xếp thứ 14/27 nước có gánh nặng bệnh lao đa kháng thuốc

cao trên toàn cầu (WHO, 2012). Có rất nhiều nguyên nhân dẫn đến tình trạng lao kháng thuốc và nồng độ thuốc chống lao trong máu thấp là một trong những nguyên nhân dẫn đến khả năng đáp ứng điều trị kém của bệnh nhân. Thuốc rifampicin được phát hiện vào năm 1963 và cho đến nay thuốc vẫn giữ vai trò chủ yếu trong việc điều trị bệnh lao. Thuốc được hấp thu tốt qua đường tiêu hóa và chuyển hóa qua gan. Trong máu, nồng độ thuốc được xem là đạt phạm vi điều trị trong khoảng 8-24 µg/ml (Peloquin CA, 2002)

Lê Thị Luyến, 2006 đã nghiên cứu sinh khả dụng của rifampicin trên người tình nguyện và nồng độ rifampicin trong huyết tương bệnh nhân lao phổi, kết quả chỉ ra rằng sinh khả dụng trong viên hỗn hợp 2-FDC và 3-FDC trên người tình nguyện mặc dù được uống cùng một liều và đo ở cùng thời điểm có nồng độ RMP trong huyết tương khác nhau giữa các cá thể, còn trên nhóm bệnh nhân có 91,3% bệnh nhân ở thời điểm 2 giờ và 84% bệnh nhân ở thời điểm 3 giờ có nồng độ RMP thấp hơn so với nồng độ phạm vi điều trị. Nguyễn Thị Kiều Anh và *ctv.* (2007) đã xây dựng một qui trình định lượng đồng thời rifampicin và pyrazinamid trong huyết tương bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao, phương pháp này đã được thẩm định đầy đủ về các tiêu chuẩn của FDA qui định về phương pháp phân tích thuốc trong dịch sinh học với độ tin cậy cao được ứng dụng đánh giá tính sinh khả dụng của thuốc cũng như giám sát nồng độ rifampicin huyết tương của bệnh nhân trong quá trình điều trị để từ đó giúp các bác sĩ có thể điều chỉnh liều điều trị rifampicin kịp thời và hạn chế tình trạng kháng thuốc.

Chúng tôi áp dụng qui trình định lượng rifampicin trong huyết tương bằng phương pháp sắc ký lỏng của Nguyễn Thị Kiều Anh và *ctv.*, 2007 nhằm thực hiện đề tài “Khảo sát nồng độ thuốc kháng lao rifampicin trên bệnh nhân lao phổi tái điều trị tại bệnh viện Lao và Bệnh phổi Thành phố Cần Thơ” nhằm hai mục tiêu: (1). Dùng phương pháp HPLC để xác định nồng độ thuốc rifampicin trên bệnh nhân lao phổi tái điều trị tại Bệnh viện Lao và Bệnh phổi Thành phố Cần Thơ. (2). Tìm hiểu các yếu tố liên quan đến việc nồng độ thuốc đạt hay không đạt nồng độ chuẩn trong huyết tương bệnh nhân mắc lao phổi tái điều trị.

2 ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Đối tượng

Ba mươi lăm (35) bệnh nhân đã được chẩn đoán xác định là lao phổi tái điều trị tại Bệnh

viện Lao và Bệnh phổi Thành phố Cần Thơ, được bác sĩ chỉ định điều trị theo phác đồ 2SHRZE/1HRZE/5H₃R₃E₃. Đây là phác đồ chuẩn theo chương trình chống lao Quốc gia qui định (Bộ Y Tế, 2009), thời gian thực hiện từ tháng 3/2012 đến tháng 5/2013.

2.2 Phương pháp

Phương pháp mô tả cắt ngang.

2.2.1 Thiết bị và hóa chất thí nghiệm

Bao gồm hệ thống máy HPLC (Shimadzu SPD-10 Avp), máy lắc cơ học, máy siêu âm siêu âm đuôi khí, máy ly tâm, cân phân tích 4 số lẻ. Hóa chất gồm Methanol, Acetonitril, Kali dihydrophosphate (Merck), rifampicin chuẩn, huyết tương trắng, thuốc dạng viên có chứa rifampicin bệnh nhân đang uống và huyết tương của bệnh nhân sau khi uống rifampicin. Thuốc uống Tuberzid viết tắt RHZ là dạng thuốc nén hỗn hợp ba thành phần (3-FDC) bao gồm Rifampicin 150 mg; Isoniazid 75 mg; Pyrazinamid 400 mg, hoặc Turbe viết tắt RH, là dạng thuốc nén hỗn hợp hai thành phần (2-FDC) bao gồm Rifampicin 150 mg và Isoniazid 100 mg, cả 2 loại thuốc đều do nhà sản xuất Cty cổ phần Dược phẩm Nam Hà (Nam Định-Việt Nam)

2.2.2 Phương pháp định lượng rifampicin trong huyết tương

a. Cách lấy mẫu

Quá trình lấy mẫu được tiến hành theo các bước sau (i) Các bệnh nhân tham gia đều được uống viên thuốc kháng lao dạng hỗn hợp 2 hoặc 3 thành phần khi tiến hành nghiên cứu. Thuốc được uống lúc 6-7 giờ sáng với 200 mL nước đun sôi để nguội (ii) mỗi bệnh nhân được lấy 2 mẫu máu tại các thời điểm 2 giờ và 3 giờ sau khi uống thuốc. Tại mỗi thời điểm 2,5 mL máu tĩnh mạch được cho vào ống nghiệm có chứa chất chống đông (Heparin), máu được bảo quản lạnh, ly tâm (4000 vòng/phút) lấy 1 mL huyết tương. Phần huyết tương này được bảo quản -20°C cho đến khi định lượng cùng lúc 70 mẫu

b. Định lượng rifampicin huyết tương bằng HPLC

(i) Chiết RMP: hút chính xác 1 mL huyết tương có chứa RMP và 1,5 mL acetonitril cho vào cùng 1 ống nghiệm có nắp đậy, lắc kỹ bằng máy lắc trong 1 phút và ly tâm dung dịch này bằng máy ly tâm với tốc độ 3500 vòng/phút trong 30 phút để được phần dung dịch hữu cơ có chứa RMP (Nguyễn Thị Kiều Anh, 2008). Dùng bơm tiêm 1mL hút phần dịch trong sau đó bơm từ từ qua màng lọc 0,45µm để được dịch chiết RMP. (ii) Thử tích mẫu tiêm là 30 µL. Sự hiện diện của rifampicin và hàm lượng

của nó trong mẫu huyết tương được xác định dựa vào thời gian lưu của rifampicin chuẩn và đường chuẩn của rifampicin được thiết lập ở các nồng độ 3 µg/mL, 7.5 µg/mL và 15 µg/mL ($R^2=0.9963$).

c. Phương pháp xử lý số liệu trong nghiên cứu

Dùng phần mềm thống kê SPSS 18.0 để xử lý số liệu thu thập

3 KẾT QUẢ

3.1 Đặc điểm nhóm bệnh nhân nghiên cứu

3.1.1 Tuổi, giới tính và cân nặng

Trong tổng số 35 bệnh nhân nghiên cứu 29 bệnh nhân là nam (82,9%), có 6 bệnh nhân nữ (17,1%). Tuổi của nhóm nghiên cứu từ 25 đến 72 tuổi, trung bình 49,89±11,73. Đa số các bệnh nhân (74,3%) thuộc nhóm cân nặng 40–55 kg, cân nặng trung bình 48,3±7,8 kg.

3.1.2 Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của nhóm bệnh nhân

Có 34/35 bệnh nhân có biểu hiện triệu chứng ho khạc đờm (97,1%), kể đến là mệt mỏi (65,7%), sụt cân (60%), ran phổi (54,3%), sốt nhẹ về chiều (42,9%), các triệu chứng đau nặng ngực và khó thở chiếm tỷ lệ khá thấp (<32%). Các bệnh nhân đều được soi đàm trực tiếp trước khi tiến hành điều trị với tỷ lệ dương tính là 91,4%, 100% bệnh nhân có hình ảnh tổn thương trên phim X-quang phổi chuẩn.

Bảng 2: Tỷ lệ bệnh nhân theo khoảng nồng độ ở 2 thời điểm

Khoảng nồng độ RMP (µg/ml)	Thời điểm lấy mẫu sau uống RMP			
	2 giờ		3 giờ	
	Số bn	Tỷ lệ (%)	Số bn	Tỷ lệ (%)
< 4	27	77,1%	24	68,5%
4 - < 8	5	14,3%	3	8,6%
8 – 24	3	8,6%	8	22,9%
> 24	0	0,0%	0	0,0%
Tổng cộng	35	100%	35	100%

Bảng 3: So sánh nồng độ RMP huyết tương ở 2 thời điểm

Nồng độ RMP huyết tương (µg/ml)	Thời điểm		P
	2 giờ (n=35)	3 giờ (n=35)	
Trung bình	2,67	4,23	0,015
Trung vị	1,37	1,51	
Độ lệch chuẩn	3,32	5,21	
Phạm vi nồng độ	0,00–15,88	0,00–18,06	

Nhận xét: Nồng độ RMP trung bình ở thời điểm 2 giờ là 2,67±3,32 µg/ml, còn ở thời điểm 3 giờ là 4,23±5,21 µg/ml. Độ lệch chuẩn lớn cho thấy có sự dao động rất nhiều về nồng độ trong huyết tương

3.1.3 Tiền sử bệnh và thời gian tái phát

Trong tổng số 35 bệnh nhân tham gia nghiên cứu, chúng tôi ghi nhận đa số bệnh nhân có thời gian tái phát ≥5 năm.

3.2 Liều điều trị rifampicin theo cân nặng

Nhận xét: Liều điều trị thuốc RMP trung bình của bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu theo cân nặng là 9,42±0,82 mg/kg. Tất cả các bệnh nhân đều được điều trị theo đúng khuyến cáo của chương trình chống lao Quốc gia (CTCLQG).

Bảng 1: Liều điều trị RMP theo cân nặng

Liều khuyến cáo của Chương trình chống lao Quốc gia (mg/kg) [1]	Liều điều trị thực tế (mg/kg) n = 35	
	Liều TB ± SD	Thấp nhất - Cao nhất
8–12	9,42±0,82	8,10–10,98

3.3 Nồng độ rifampicin huyết tương thời điểm 2 giờ và 3 giờ sau khi uống thuốc

Nhận xét: Tỷ lệ bệnh nhân đạt phạm vi nồng độ điều trị thấp, 8,6% ở thời điểm 2 giờ, 22,9% ở thời điểm 3 giờ. Phần lớn bệnh nhân (77,1% ở thời điểm 2 giờ, 68,5% ở thời điểm 3 giờ) có nồng độ RMP huyết tương dưới 4 µg/ml. Ở cả 2 thời điểm, không có bệnh nhân nào vượt ngưỡng nồng độ RMP trong huyết tương (> 24 µg/ml).

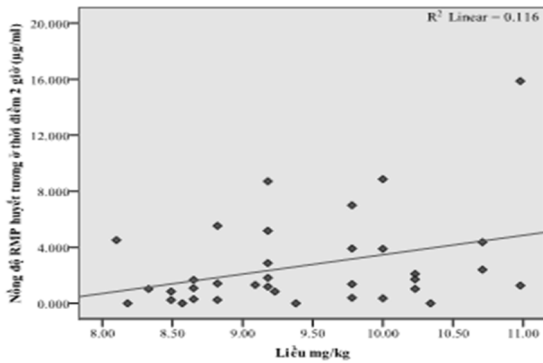
giữa các cá thể. Do đó, chúng tôi dùng kiểm định Wilcoxon cho phân phối không chuẩn để so sánh nồng độ RMP tại hai thời điểm 2 giờ và 3 giờ sau khi uống thuốc, kết quả cho thấy nồng độ RMP ở thời điểm 3 giờ cao hơn so với ở thời điểm 2 giờ và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p<0,05$ ($Z = - 2,424, n = 35, p = 0,015$).

3.4 Mối liên quan giữa nồng độ rifampicin huyết tương với một số yếu tố

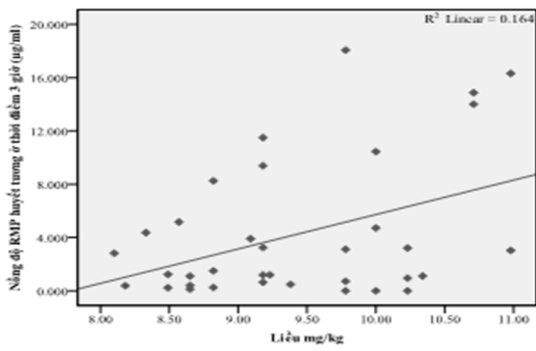
3.4.1 Liên quan giữa nồng độ rifampicin huyết tương với liều điều trị theo cân nặng và với tuổi của nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Khi phân tích tương quan đơn biến cho thấy ở cùng 1 thời điểm có sự tương quan thuận chiều

mức độ yếu giữa nồng độ RMP huyết tương với liều điều trị theo cân nặng với $p < 0,05$, $r = 0,34$ ở thời điểm 2 giờ, $r = 0,4$ ở thời điểm 3 giờ.



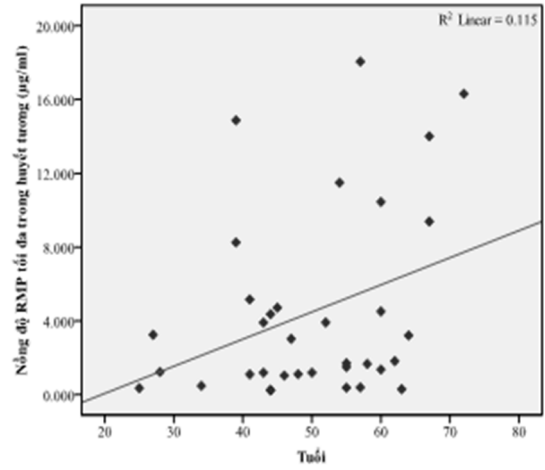
Hình 1: Liên quan giữa nồng độ RMP trong huyết tương ở thời điểm 2 giờ với liều điều trị theo cân nặng



Hình 2: Liên quan giữa nồng độ RMP trong huyết tương ở thời điểm 3 giờ với liều điều trị theo cân nặng

3.4.2 Liên quan giữa nồng độ rifampicin tối đa trong huyết tương với tuổi bệnh nhân

Qua phân tích tương quan đơn biến và qua Hình 3 cho thấy có sự tương quan thuận chiều mức độ yếu giữa nồng độ RMP tối đa trong huyết tương và tuổi của nhóm bệnh nhân tham gia nghiên cứu ($r = 0,34$, $p < 0,05$).



Hình 3: Liên quan giữa nồng độ RMP tối đa trong huyết tương với tuổi của nhóm bệnh nhân nghiên cứu

3.4.3 Liên quan giữa nồng độ RMP huyết tương với các yếu tố khác

Nhận xét: Không có sự liên quan giữa nồng độ RMP huyết tương với giới tính, thời gian tái phát và ngày lấy mẫu ($p > 0,05$).

Bảng 4: Liên quan giữa nồng độ RMP với giới, thời gian tái phát, ngày lấy mẫu

Yếu tố khảo sát	Nồng độ RMP huyết tương		P	
	Trung bình±SD	Trung vị		
Giới	Nam (n=29)	4,76±5,51	3,14	0,793
	Nữ (n=6)	3,00±1,77	1,71	
Thời gian tái phát	≤ 1 năm (n=7)	3,67±5,77	1,19	0,170
	1 – 5 năm (n=9)	2,49±4,74	0,48	
	≥ 5 năm (n=19)	5,69±4,90	3,91	
Ngày lấy mẫu	≤ 90 ngày (n=18)	4,89±5,46	3,23	0,391
	> 90 ngày (n=17)	4,01±4,79	1,37	

4 THẢO LUẬN

Tại thời điểm 2 giờ sau khi uống thuốc, RMP sẽ đạt nồng độ cao nhất trong huyết tương (Peloquin CA, 2002) và đây là thời điểm thích hợp có thể lấy mẫu để giám sát nồng độ thuốc trong điều trị. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này chúng tôi ghi nhận nồng độ thuốc RMP ở thời điểm 3 giờ sau khi uống cao hơn so với ở thời điểm 2 giờ và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, điều này phù

hợp với nghiên cứu (Lê Thi Luyến và *ctv* (2005). Mặc dù tất cả các bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu đều được điều trị đúng theo liều khuyến cáo của CTCLQG (8-12 mg/kg) nhưng từ kết quả ở Bảng 2 và Bảng 3 cho thấy đa số các bệnh nhân đều không đạt phạm vi nồng độ điều trị. Có đến 91,4% bệnh nhân ở thời điểm 2 giờ và 77,1% bệnh nhân ở thời điểm 3 giờ có nồng độ RMP huyết tương dưới 8 µg/ml. Nồng độ RMP huyết tương

điều trị cần đạt là 8–24 µg/ml, nếu nồng độ thấp hơn 8 µg/ml thì nguy cơ tái phát bệnh có thể xảy ra vì quần thể vi khuẩn gây bệnh không được tiêu diệt hết sẽ góp phần quan trọng trong tái phát bệnh lao. Kết quả này khá phù hợp với nghiên cứu trước đây trên đối tượng bệnh nhân mắc lao mới tại Thành phố Cần Thơ sau 2 giờ có 87,5% và sau 3 giờ 82,5% bệnh nhân có nồng độ rifampicin trong huyết tương dưới phạm vi điều trị (Nguyễn Thị Hồng Nhung và *ctv.*, 2012). Vì vậy, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy việc sử dụng phương pháp HPLC để đo nồng độ rifampicin trong huyết tương là cần thiết, có thể áp dụng giám sát nồng độ rifampicin nhằm hiệu chỉnh liều một cách phù hợp trên từng bệnh nhân mắc bệnh lao khi sử dụng thuốc RMP trong điều trị.

Từ Hình 1 và Hình 2 qua phân tích tương quan đơn biến cho thấy có mối tương quan thuận chiều mức độ yếu giữa nồng độ RMP trong huyết tương với liều điều trị tính theo mg/kg cân nặng, kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Hồng Nhung và *ctv.* 2012 và S.W.Um, 2007. Ngoài yếu tố liều điều trị, chúng tôi cũng ghi nhận từ Hình 3 có sự tương quan ở mức độ yếu giữa nồng độ thuốc RMP với tuổi của nhóm bệnh nhân nghiên cứu. Điều này cũng phù hợp với nghiên cứu của Lê Thị Luyến (2011), tác giả cho rằng khi tuổi bệnh nhân càng cao thì nồng độ thuốc trong huyết tương càng lớn.

5 KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu nồng độ rifampicin trên 35 bệnh nhân lao phổi tái trị điều trị tại Bệnh viện Lao và Bệnh phổi Thành phố Cần Thơ, chúng tôi đạt được một số kết quả sau:

- Tỷ lệ bệnh nhân có nồng độ rifampicin huyết tương dưới nồng độ điều trị chiếm tỷ lệ cao ở cả thời điểm 2 giờ (91,4%) và thời điểm 3 giờ (77,1%).

- Nồng độ rifampicin huyết tương ở thời điểm 3 giờ cao hơn so với ở thời điểm 2 giờ với $p < 0,05$.

- Có sự khác biệt rất lớn về nồng độ rifampicin trong huyết tương giữa các cá thể

- Có mối tương quan thuận chiều mức độ yếu giữa nồng độ rifampicin huyết tương với liều điều trị theo mg/kg cân nặng với $p < 0,05$.

- Khi tuổi của bệnh nhân càng cao thì nồng độ rifampicin huyết tương càng lớn và ngược lại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế, 2009. Hướng dẫn chẩn đoán, điều trị và phòng bệnh lao, (Ban hành kèm theo

Quyết định số 979/QĐ-BYT ngày 24 tháng 3 năm 2009 của Bộ trưởng Bộ Y tế) 20 trang.

2. Lê Thị Luyến, Trần Văn Sáng, Hoàng Thị Kim Huyền, Nguyễn Thị Liên Hương, Tống Văn Tuấn, 2005. Nghiên cứu nồng độ Rifampicin huyết tương tại thời điểm 2 giờ và 3 giờ sau khi uống ở bệnh nhân lao phổi AFB (+) tái trị. *Tạp chí y học thực hành* 6: 49-51.
3. Lê Thị Luyến, 2006. Nghiên cứu sinh khả dụng của Rifampicin trên người tình nguyện và nồng độ Rifampicin trong huyết tương bệnh nhân lao phổi. *Luận án tiến sĩ Y học, Chuyên ngành lao và bệnh phổi*, Trường Đại học Y Hà Nội.
4. Lê Thị Luyến và *ctv.*, 2011. Phân tích một số yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ Rifampicin, Isoniazid và Pyrazinamid huyết tương bệnh nhân lao. *Tạp chí Y học Việt Nam* 378 (1): 1-5.
5. Nguyễn Thị Kiều Anh, Lê Thị Luyến, Nguyễn Thị Liên Hương, 2007. Nghiên cứu xây dựng qui trình định lượng đồng thời Rifampicin và Pyrazinamid trong huyết tương bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao. *Trường Đại học Dược Hà Nội-Hội nghị khoa học công nghệ tuổi trẻ lần thứ XIV*.
6. Nguyễn Thị Hồng Nhung, Dương Thị Loan, Trần Ngọc Dung, 2012. Khảo sát nồng độ thuốc kháng lao Rifampicin trên bệnh nhân lao phổi mới điều trị tại Bệnh viện Lao và Bệnh phổi thành phố Cần Thơ. *Tạp chí y học thực hành* 821 (5): 87-89.
7. Peloquin Charles A., 2002. Therapeutic Drug Monitoring in the Treatment of Tuberculosis. *Drug* ; 62(15): 2169-2183
8. Rovina Ruslami, Hanneke M. J. Nijland, Bacht Alisjahbana, Ida Parwati, Reinout van crevel, and Rob E. Aarnoutse, 2007. Pharmacokinetics and tolerability of a higher Rifampin dose versus the standard dose in pulmonary tuberculosis patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 51 (7): 2546-2551.
9. S-W. Um, S. W. Lee, S. Y. Kwon, H. I. Yoon, K. U. Park, J. Song, C.T. Lee, 2007. Low serum concentrations of anti-tuberculosis drugs and determinants of their serum levels. *The International Journal of Tuberculosis and Lung disease* 11 (9): 972-978.
10. WHO, 2012. *Global tuberculosis report*.