Badanie mikrobiologiczne recepturowej formy leku zawierającej hydrochlorotiazyd do stosowania u pacjentów pediatrycznych

Beata Welk-Piela¹, Andrzej Stańczak¹, Paweł Lisiecki²

¹ Zakład Farmacji Szpitalnej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

² Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Adres do korespondencji: Beata Welk-Piela, Zakład Farmacji Szpitalnej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź, e-mail: beata.welk-piela@umed.lodz.pl

Wstęp

Problemy związane z wciąż ograniczoną ilością formułacji lekowych przeznaczonych dla dzieci, wynikają z trudności, jakie napotyka przemysł farmaceutyczny. Oprócz standardowych cech, jakimi powinny dysponować, wszystkie postacie farmaceutyczne, do których zalicza się odpowiednią biodostępność leku czy trwałość substancji czynnej podczas procesu przechowywania, lekom pediatrycznym stawiane są dodatkowe wymagania, takie jak: możliwość dawkowania leku dla dzieci o różnej masie ciała, optymalna dla grupy wiekowej postać leku, akceptowalny smak doustnej postaci leku, łatwość podania i bezpieczeństwo zastosowanych substancji pomocniczych [1]. Dodatkowo, dla każdej ze sporządzonych formułacji o różnej mocy należy przeprowadzić badania, a w tym określić ich trwałość podczas przechowywania, co istotnie podnosi koszty wytworzenia do poziomu często nieopłacalnego dla wytwórcy. Najkorzystniejszymi pod względem dozowania u dzieci są roztwory lub zawiesiny. Przeszkodą w ich stosowaniu jest częsty problem z maskowaniem smaku substancji czynnej oraz brak stabilności chemicznej i fizycznej wielu substancji leczniczych w tych formułacjach. Inną istotną barierą jest trudność zachowania trwałości mikrobiologicznej postaci płynnych, co wiąże się z koniecznością dodawania środków konserwujących [2–5], które ze względu na swoje właściwości nie zawsze są dopuszczone do stosowania u dzieci.

W praktyce klinicznej/szpitalnej problem braku odpowiednich postaci dla dzieci jest z konieczności rozwiązywany poprzez przygotowanie formułacji recepturowych zarówno w aptece szpitalnej, jak

Microbiological examination of the of pharmaceutical dosage formulation with hydrochlorothiazide used in pediatric patients

The aim of this study was the preparation of hydrochlorothiazide suspension in the concentration of 2 mg/ml for pediatric patients and assessment of its purity and microbiological stability. Ora Blend suspension vehicle was used in the preparation of pharmaceutical dosage formulation. Microbiological stability of prepared suspension was evaluated in accordance with the requirements of Polish Pharmacopoeia XI. Performed study have demonstrated the stability of hydrochlorothiazide suspension during the 6-week storage period at room temperature and at 2–8°C which indicates the possibility of using this pediatric formulation in hospital pharmacy practice.

Keywords: hydrochlorothiazide, suspension, microbiological stability.

© Farm Pol, 2018, 74(9): 511–515

i ogólnodostępnej. Problemem podczas sporządzania leku recepturowego jest uzyskanie takiej jego trwałości, która umożliwi utrzymanie odpowiedniej jakości preparatu w całym okresie jego stosowania. Oprócz trwałości chemicznej, fizycznej, biologicznej również ważną rolę odgrywa trwałość mikrobiologiczna. Jakość mikrobiologiczna formułacji farmaceutycznej sporządzanej w aptece jest jednym z elementów decydujących o bezpieczeństwie pacjentów. Obecność drobnoustrojów w postaci leku może prowadzić do utraty właściwości terapeutycznych substancji leczniczej. Ponadto, istnieje realne niebezpieczeństwo dla chorych narażenia ich na zakażenie odleukowe. Stąd niezbędne są badania mikrobiologiczne określające, czy przygotowana formułacja recepturowa spełnia określone w farmakopei normy dotyczące czystości

mikrobiologicznej. Badanie musi także obejmować wyznaczenie okresu, w jakim opracowana formu-
lacja zachowuje pożądane właściwości terapeutycz-
ne, co jest równoznaczne z przyjęciem i zapisaniem
na opakowaniu terminu przydatności (ważności)
preparatu [6–8].

Celem pracy było przygotowanie recepturowej
formy leku w postaci zawiesiny zawierającej hydro-
chlorotiazyd o stężeniu 2 mg/ml przeznaczonej dla
pacjentów pediatrycznych i jej ocena mikrobiolo-
giczna. Przeprowadzone badanie pozwoliło na okre-
ślenie czasu, przez jaki sporządzony lek może być
przechowywany i stosowany w praktyce szpitalnej
bez zmiany jego parametrów mikrobiologicznych.
Jako nośnika do uzyskania zawiesiny użyto prepa-
ratu Ora-Blend. Trwałość mikrobiologiczna przy-
gotowanej formuacji recepturowej została oceniona
po przechowywaniu jej w temperaturze pokojowej
oraz po przechowywaniu w lodówce w tempera-
turze 2–8°C.

Material i metody

Przygotowywano recepturową postać leku
o stężeniu hydrochlorotiazidu 2 mg/ml. Substan-
cja czynna pochodziła z gotowego produktu lecz-
niczego Hydrochlorothiazidum Polpharma tabletki
25 mg, produkcji Zakładów Farmaceutycznych
Polpharma S.A. Do sporządzenia formuacji uży-
to dietetycznego środka spożywczego specjalnego
przeznaczenia medycznego Ora-Blend firmy Perri-
go Minneapolis, USA, stosowanego w świecie jako
gotowa podstawa do uzyskania zawiesiny mającej
na celu zapewnienie odpowiedniego stopnia roz-
proszenia substancji aktywnej.

Przygotowaną formuację podzielono na 2 gru-
py różniące się warunkami przechowywania. Oznac-
zenia czystości mikrobiologicznej przygotowanej
formuacji wykonano zgodnie z Farmakopeą Pol-
ską XI [9].

Przygotowanie formuacji farmaceutycznej

Do moździerza przeniesiono 20 tabletek o de-
klarowanej zawartości 25 mg produktu lecznicze-
go Hydrochlorodiazidum i dokładnie roztarto. Od-
mierzone 250 ml Ora Plus. Do uzyskanego proszku
dodano niewielką ilość fazy rozpraszającej do otrzy-
mania gęstej pasty, a następnie stopniowo doda-
wano fazę rozpraszającą i mieszano do uzyskania
płynnej postaci. Zawiesinę przeniesiono do kolby
miarowej o pojemności 250 ml. Moździerz prze-
płukano resztą fazy rozpraszającej, która posłużyła
dalej do uzupełnienia do kreski zawiesiny w kolbie
miarowej. Następnie, tak przygotowaną formuację
dokładnie wymieszano i przeniesiono do oranżo-
wych butelek aptecznych i oznakowano.

Badanie mikrobiologiczne przygotowanej formuacji

W celu oceny trwałości mikrobiologicznej przy-
gotowanej formuacji farmaceutycznej zawierającej
hydrochlorotiazyd oraz przydatności takiego sposo-
bu postępowania w rutynowym jej przygotowaniu
w warunkach apteki szpitalnej należy określić za-
równo warunki, w jakich może być przechowywa-
na taka postać recepturowa, jak i wyznaczyć czas,
w jakim może być ona przechowywana z zachो-
waniem odpowiedniej dla postaci czystości mikro-
biologicznej. Ponieważ okres przydatności związa-
ny jest z utrzymywaniem się aktywności substancji
czynnej i czystością mikrobiologiczną, analizę na-
leży przeprowadzić poprzez ocenę czasu utrzymy-
wania się nominalnej ilości substancji czynnej, jak
i ewentualnego rozwoju mikroorganizmów podczas
przechowywania sporządzonych zawiesin. Oznac-
zenia zawartości hydrochlorotiazidu w przygoto-
wanej formuacji podczas przechowywania doko-
nywano techniką wysokosprawnej chromatografii
cieczowej (HPLC), co opisano w innej publikacji [10].

Przygotowane i oznakowane butelki z zawie-
siną zostały podzielone na 2 grupy zróżnicowane
pod względem warunków przechowywania w celu
oceny jakości oraz trwałości w zależności od tem-
peratury i dostępu światła. Pierwsza grupa została
umieszczona w warunkach temperatury pokojowej,
a drugą przechowywano w lodówce w temperatu-
rze 2–8°C.

Badanie czystości mikrobiologicznej przygotowanej formuacji

Badanie całkowitej liczby żywych bakterii i grzy-
bów (zdolnych do wzrostu) w ml badanej formu-
lacji wykonano zgodnie z wymogami Farmakopei
Polskiej XI. W tym celu do badań pobrano 10 ml
przygotowanej zawiesiny, którą wstępnie rozcień-
czano w stosunku 1:10 i 1:100 w płynnym podłożu
peptonowym Eugon 100 LT Broth. Wybór tego pod-
łoża mikrobiologicznego wynikał z faktu, iż badana
formuacja zawierała substancję pomocniczą (Ora
Blend Plus), w składzie której obecne były środki
konserwujące – metyloparaben i sorbitan potasu.
Eugon 100 LT Broth jest uniwersalnym neutraliza-
torem substancji konserwujących zawartych w le-
kach i preparatach farmaceutycznych. Neutralizacji
konserwantów dokonywano w temperaturze poko-
jowej w czasie 30 minut. Po tym czasie pobierano po
0,1 ml z każdego badanego rozcieńczenia i posie-
wano na powierzchnię odpowiednich podłoży aga-
rowych. Dla bakterii zastosowano agar z hydroliza-
tem kazeiny i soi, a dla grzybów podłoże Sabouraud
z dekstrozą i chloramfenikolem. Przygotowano po
dwie płytki na każde rozcieńczenie i każde podłoże.

Podłoża do wykrywania bakterii inkubowano
w ciągu 5 dni, w temperaturze 30–35°C, a podłoża

do wykrywania grzybów w ciągu 7 dni w temperaturze 20–25°C. Po inkubacji zliczano wyrosłe kolonie i, uwzględniając współczynnik rozcieńczenia, określano liczbę komórek bakterii i grzybów w ml preparatu, wyrażając ją liczbą jtk (jednostki tworzące kolonie) na ml badanej formulacji.

Badanie nieobecności *Escherichia coli* w przygotowanej formulacji

W celu wykazania nieobecności *Escherichia coli* w badanej formulacji farmaceutycznej pobierano ml preparatu i przenoszono do 9 ml Eugon 100 LT Broth, a następnie inkubowano w temperaturze 30–35°C w ciągu 24 godzin. Z otrzymanej w tej sposób hodowli dokonywano przy pomocy ezy posiewu na diagnostyczno-wybiórcze podłoże MacConkeya i poddawano 72 godzinnej inkubacji w temperaturze 30–35°C. Wzrost bakterii w postaci różowych kolonii mógł wskazywać na obecność *E. coli*, co weryfikowano numerycznym zestawem testów biochemicznych typu API (bioMérieux). Test ten jest wystandaryzowanym zestawem prób biochemicznych dostosowanych do identyfikacji bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, do której przynależy *E. coli*. Składa się z on 20 miniprobówek z tworzywa wtopionych w pasek, również wykonany z tworzywa. W każdej probówce znajduje się odwodniony substrat diagnostyczny i wskaźnik umożliwiający odczytanie zachodzących reakcji.

Oznaczenie polega na dodaniu wystandaryzowanej zawiesiny badanych bakterii wykonanej w podłożu wzrostowym do probówek i, po inkubacji, dodaniu do niektórych z nich odpowiednich odczynników. Zmiany barwy zawartości probówek umożliwiają określenie, jakie substraty są rozkładane czy też, jaki rodzaj aktywności enzymatycznej wykazują testowane drobnoustroje. Określenie gatunku bakterii dokonuje się na podstawie załączonego przez producenta klucza diagnostycznego.

Badanie skuteczności zakonserwowania badanej formulacji

Test polega na kontrolowanym jednorazowym wprowadzeniu szczepów wzorcowych do próbek badanej formulacji, co ma symulować wtórne zakażenie, jakie może powstać podczas stosowania leku. Badanie wykonano zgodnie z wytycznymi Farmakopei Polskiej XI, wykorzystując szczepy wzorcowe 5 patogenów człowieka: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* ATCC 10231 i *Aspergillus niger* ATCC 16404. Każdy z wykorzystanych w teście szczepów wzorcowych badany był oddzielnie. Do 20 ml badanej formulacji wprowadzano wystandaryzowaną zawiesinę szczepu wzorcowego tak, aby jego liczba komórek w ml testowanej próbki była rzędu 10^5 – 10^6 jtk.

Zakażone w ten sposób próbki przechowywano w temperaturze pokojowej w zaciemnionym miejscu. Drugą 20 ml porcję badanej formulacji, opracowaną w sposób identyczny jak opisano powyżej, umieszczono w temperaturze 4–8°C (lodówka). Po 7, 14 i 28 dniach pobierano po ml z każdej badanej próbki i przenoszono do 9 ml podłoża Eugon 100 LT Broth i pozostawiano w temperaturze pokojowej na 30 minut w celu neutralizacji substancji konserwujących. Po tym czasie w każdej próbce określano liczbę zdolnych do życia drobnoustrojów wzorcowych, wykorzystując technikę posiewu powierzchniowego polegającą na pobraniu 0,1 ml badanej próbki i posiewaniu jej na powierzchnię podłoża agarowych. Dla bakterii zastosowano agar z hydrolizatem kazeiny i soi, a dla grzybów podłoże Sabouraud z dekstrozą. Na każde badanie przygotowywano po dwie płytki. Podłoża dla bakterii inkubowano w ciągu 5 dni, w temperaturze 30–35°C, a podłoża dla grzybów w ciągu 5 dni w temperaturze 20–25°C. Oceny skuteczności konserwacji badanej formulacji oceniano na podstawie logarytmu redukcji wyznaczonej liczby zdolnych do wzrostu drobnoustrojów w czasie 28-dniowej obserwacji, w porównaniu do liczby wyjściowo wprowadzonych drobnoustrojów.

Wyniki

Badanie wpływu warunków przechowywania badanej formulacji na jej czystość mikrobiologiczną było prowadzone przez 6 tygodni od dnia wykonania zawiesiny. Próbkę do badań z przygotowanych formulacji pobierano w dniu przygotowania oraz po 2, 4, 7 dniach oraz 2, 3, 4 i 6 tygodniach od sporządzenia zawiesiny. Czystość mikrobiologiczną pobranych próbek określano w sposób opisany powyżej. Według kryteriów Farmakopei Polskiej XI dla mikrobiologicznej jakości niejałowych produktów farmaceutycznych i substancji do celów farmaceutycznych, badaną formulację należy zaliczyć do kategorii preparatów doustnych zawierających wodę. Leki z tej kategorii w ml mogą zawierać nie więcej niż 10^2 bakterii i 10^1 grzybów. Powinny również charakteryzować się nieobecnością *Escherichia coli* w ml preparatu. Badania przeprowadzone w dniu przygotowania zawiesiny z hydrochlorotiazylem, wykazały, że spełniała ona wymogi czystości mikrobiologicznej określonej przez FP XI. Wpływ warunków przechowywania badanej formulacji na jej czystość mikrobiologiczną przedstawiono w tabeli 1.

Aby wykazać, że przygotowana formulacja z hydrochlorotiazylem jest odporna na zakażenie w trakcie jej użytkowania, wykonano test konserwacji. Badana formulacja ma być przygotowywana w warunkach apteki szpitalnej, a następnie użytkowana na pediatrycznych oddziałach szpitalnych. Jako

Tabela 1. Wpływ temperatury przechowywania zawiesiny z hydrochlorotiazylem na jej czystość mikrobiologiczną

Czas	Temperatura 2–8°C (lodówka)			Temperatura pokojowa		
	Całkowita liczba drobnoustrojów (jtk/ml)*		<i>E. coli</i> w ml	Całkowita liczba drobnoustrojów (jtk/ml)*		<i>E. coli</i> w ml
	Bakterie	Grzyby		Bakterie	Grzyby	
0	60	0	Nieobecna	60	0	Nieobecna
2 dni	60	0	Nieobecna	70	0	Nieobecna
4 dni	60	0	Nieobecna	80	0	Nieobecna
7 dni	70	0	Nieobecna	70	0	Nieobecna
2 tyg.	70	0	Nieobecna	70	0	Nieobecna
3 tyg.	70	0	Nieobecna	70	0	Nieobecna
4 tyg.	70	0	Nieobecna	70	0	Nieobecna
6 tyg.	70	0	Nieobecna	80	0	Nieobecna

jtk* – jednostki tworzące kolonie

Tabela 2. Badanie skuteczności zakonserwowania zawiesiny z hydrochlorotiazylem przechowywanej w temperaturze 2–8°C

Drobnoustroje	Logarytm redukcji zdolnych do wzrostu drobnoustrojów		
	7 dni	14 dni	28 dni
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	3	3	BN*
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	3	3	BN*
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	3	3	BN*
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	1	1	BN*
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	1	1	BN*

BN* – liczba drobnoustrojów nie zwiększa się

Tabela 3. Badanie skuteczności zakonserwowania zawiesiny z hydrochlorotiazylem przechowywanej w temperaturze pokojowej

Drobnoustroje	Logarytm redukcji zdolnych do wzrostu drobnoustrojów		
	7 dni	14 dni	28 dni
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	3	3	BN*
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	3	3	BN*
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	3	3	BN*
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	1	1	BN*
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	1	1	BN*

BN* – liczba drobnoustrojów nie zwiększa się

substancję pomocniczą do przygotowania pediatrycznej postaci hydrochlorotiazylem wykorzystano Ora-Blend Plus (Perrigo Minneapolis, USA), zawierającą w swoim składzie metyloparaben i sorbitan potasu, jako substancje konserwujące. Test

przeprowadzono zgodnie z wymogami FP XI. Polegał on na jednorazowym wprowadzeniu szczepów testowych patogenów bakteryjnych i grzybowych człowieka (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *A. brasiliensis*) do próbek przygotowanej formulacji, co ma symulować wtórne skażenie, jakie może powstać podczas użytkowania leku. W tak eksperymentalnie zakażonych próbkach w ściśle wyznaczonych odstępach czasu od wprowadzenia szczepów testowych, po neutralizacji substancji konserwującej, oznacza się liczbę żywych komórek, na podstawie której wylicza się logarytm redukcji zdolnych do wzrostu drobnoustrojów będący kryterium oceny testu. Test konserwacji, który zgodnie z wymogami farmakopealnymi trwa 28 dni wykonano dla formulacji przechowywanej w temperaturze 2–8°C (lodówka) i temperaturze pokojowej. Wyznaczone logarytmy redukcji zdolnych do wzrostu drobnoustrojów dla obu warunków przechowywania badanej zawiesiny przedstawiono w tabeli 2 i 3.

Dla leków doustnych wymaga się, aby obecny w nich układ konserwujący w ciągu 14 dni zmniejszał liczbę zdolnych do wzrostu bakterii o 3 trzy logarytmy i przez 28 dni nie dopuszczał do zwiększania się liczby bakterii. W przypadku grzybów w ciągu 14 dni powinien redukować ich liczbę o 1 logarytm i przez 28 dni nie dopuszczać, aby liczba komórek grzybów w badanym leku zwiększała się. Badana formuła zarówno przechowywana w temperaturze 2–8°C (lodówka), jak i temperaturze pokojowej spełniała opisane powyżej wymagania, co przedstawiono powyżej w tabelach 2 i 3.

Omówienie

Obecność drobnoustrojów w lekach może powodować utratę ich właściwości leczniczych przez rozkład substancji czynnych w nich zawartych, ale także rozwój infekcji u przyjmujących je pacjentów. Zakażenia odlewkowe, w związku z obowiązkiem przestrzegania zaleceń farmakopealnych i dobrej praktyki wytwarzania, nie należą do częstych. Prawie wszystkie opisywane w piśmiennictwie światowym związane są z lekami wytwarzanymi w warunkach przemysłowych, a nie apteki szpitalnej czy otwartej, co nie znaczy, że nie występują [11].

Badana w tej pracy formuła recepturowa ma być przygotowywana w warunkach apteki szpitalnej i stosowana na oddziałach szpitalnych u pacjentów pediatrycznych, którzy wraz z pacjentami z upośledzoną odpornością, w podeszłym wieku czy przyjmujących leki immunosupresyjne należą do tzw. grupy ryzyka, szczególnie podatnych na rozwój infekcji spowodowanych drobnoustrojami, którymi mogą być skażone formuły recepturowe stosowane w warunkach szpitalnych. A zatem,

w opracowywaniu nowych formuacji recepturowych wykorzystywanych w warunkach oddziałów szpitalnych należy brać pod uwagę nie tylko jej stabilność chemiczną, ale także mikrobiologiczną.

Przeprowadzone badania nie wykazały zmian w czystości mikrobiologicznej badanej formuacji z hydrochlorotiazidem w czasie jej 6-tygodniowego przechowywania w warunkach lodówki i temperaturze pokojowej. Liczba wyznaczonych komórek bakterii w jednym ml formuacji nigdy nie przekroczyła 100. W trakcie całego okresu badania formuacji nie stwierdzono w niej komórek grzybów i *E. coli*. Pokazało to, że jej jakość mikrobiologiczna w ciągu całego okresu jej przechowywania była zgodna z wymogami, które określa FP XI dla tego typu preparatów. Zaliczony test konserwacji, zgodnie z wymogami FP XI, wskazał, że formuacja jest również odpowiednio zabezpieczona przed wtórnym skażeniem w trakcie jej przechowywania czy użytkowania.

Wnioski

Z przeprowadzonego badania wynika, że:

- nie zaobserwowano zmian w czystości mikrobiologicznej badanej formuacji z hydrochlorotiazidem w czasie jej 6-tygodniowego przechowywania zarówno w lodówce w temperaturze 2–8 °C, jak i temperaturze pokojowej,
- liczba wyznaczonych komórek bakterii w jednym mililitrze formuacji nigdy nie przekroczyła 100. W trakcie całego okresu badania formuacji nie stwierdzono w niej komórek grzybów i bakterii *E. coli*,
- jakość mikrobiologiczna w ciągu całego okresu przechowywania formuacji była zgodna z wymogami, które określa FP XI dla tego typu preparatów, a zaliczony test konserwacji, zgodnie z wymogami FP XI, wskazał, że formuacja jest również odpowiednio zabezpieczona przed

wtórnym skażeniem w trakcie jej przechowywania czy użytkowania,

- trwałość mikrobiologiczna zawiesin z hydrochlorotiazidem o stężeniu 2 mg/ml w opracowanym składzie wskazuje na możliwość sporządzania tej pediatrycznej formuacji recepturowej w aptece i przechowywania jej przez 6 tygodni od momentu przygotowania bez zmiany jej właściwości.

Praca powstała w ramach działalności statutowej Zakładu Farmacji Szpitalnej

Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

(nr 503/3-011-03/503-31-001)

oraz Zakładu Mikrobiologii Farmaceutycznej

i Diagnostyki Mikrobiologicznej Uniwersytetu

Medycznego w Łodzi (nr 503/3-012-03/503-01)

Otrzymano: 2018.08.20 · Zaakceptowano: 2018.09.12

Piśmiennictwo

1. Kuentz M., Holm R., Elder D.P.: Methodology of oral formulation selection in the pharmaceutical industry. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2016, 87: 136–163.
2. Muśko M.: Postacie leku stosowane w praktyce pediatrycznej. *Gazeta Farmaceutyczna* 2010, 1: 34–37.
3. Kurczewska U., Szeligowski M., Orszulak-Michalak D.: Doustne postacie leków stosowane u dzieci. *Farm. Pol.* 2008, 64: 975–986.
4. A. Lajoinie A., Henin E., Kassai B.: Oral formulation of choice for children. *Arch. Pediatr.* 2015, 22: 877–885, <http://www.sciencedirect.com/science/article> [dostęp: 23.09.2016].
5. Preis M., Grother L., Philip Axe P., I wsp.: In-vitro and in-vivo evaluation of taste-masked cetirizine hydrochloride formulated in oral lyophilisates. *Int. J. Pharm.* 2015, 491: 8–16.
6. Kamysz W.: Badania stabilności produktów leczniczych. *Laborant.* 2014, 7: 32–36.
7. Ciszewski M., Lisiecki P.: Szybciej, ale wciąż wiarygodnie? *Przemysł Farmaceutyczny* 2017, 1: 38–42.
8. Tyski S.: Mikrobiologiczne bezpieczeństwo leków – harmonizacja wymagań farmakopealnych. *Post.Mirobiol.* 2008, 47(3): 235–240.
9. *Farmakopea Polska*, wydanie XI. Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Warszawa, 2017.
10. Welk-Piela B., Stańczak A.: Badanie stabilności recepturowej formy leku zawierającej hydrochlorotiazyd do stosowania u pacjentów pediatrycznych. *Farm. Pol.* 2017, 73(2): 79–83.
11. Hellström L.: Salmonella infections in stockholm: a 10-year-review. *Scand. J. Infect. Dis.* 1975, 7(2):117–22.