



UNIVERSITAT DE BARCELONA



Unidad de Microbiología
Depto. Patología y Terapéutica Experimental

Facultad de Medicina - Campus de la Salud de Bellvitge
Pabellón Central 5ª planta
C. Feixa Llarga s/n
08907 L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)
Tel. 93 402 42 49 Fax 93 402 90 82
e-mail: dep-ptex-bell@ub.edu

100
anys

ELSANEK®

INFORME CIENTÍFICO-TÉCNICO

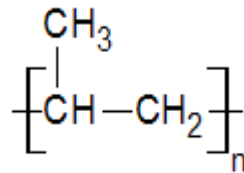
1. Introducción.

La empresa Jonel SL ubicada en la provincia de Barcelona, tiene como uno de los objetivos preferentes el desarrollo de productos textiles con propiedades particulares que justifiquen su utilización en segmentos o actividades que confieran a sus productos un alto valor añadido. Este objetivo presenta dos vertientes complementarias: por una parte el **diseño de nuevos productos**, la investigación desarrollada al generar y controlar los mismos y la creación de conocimientos en este sector, que son la única arma viable para hacer frente a la **competencia** que la industria textil tiene en países en los que los costes de producción son mucho menores; por otra los nuevos productos vienen a **cubrir necesidades** del mercado y/o **demanda social**, como puede apreciarse en los resultados y la investigación que se refiere a este y otros productos textiles de alto valor añadido.

En el mismo orden de ideas existen numerosas aplicaciones de los productos que están siendo investigados por Jonel en el campo de las ciencias de la Salud. El presente informe se centra en algunas de las aplicaciones y propiedades del producto **ELSANEK**® . A modo de ejemplo pueden citarse algunos episodios recientes en los que los productos textiles han jugado un papel activo en procesos infecciosos. En el año 2002 en el *Queen's Hospital* de Birmingham se produjo un brote de infección por *Acinetobacter baumannii* en la Unidad de cuidados intensivos (Das y cols., 2002). *A. baumannii* es una bacteria que se caracteriza por su gran actividad originando infecciones, frecuentemente fatales, en enfermos comprometidos y muy especialmente en ingresados en unidades de cuidados intensivos de los que existen numerosas comunicaciones (Lortholary y cols., 1998; Pina y cols., 1998; Husni y cols., 1999; etc). En el trabajo de Das y cols, tras un minucioso análisis de las condiciones que habían conducido a la emergencia del brote se llega a la conclusión de que el reservorio de la bacteria eran, precisamente, las cortinas. Otros artículos sugieren algunas aplicaciones nuevas de tejidos con actividad antibacteriana. Tunç y Olgun en 2005 realizaron una prospección de las bacterias vivas y recuperables en los teléfonos públicos, particularmente en los micrófonos de los mismos demostraron que se encontraban 12 tipos diferentes de bacterias de procedencia humana. Los autores recomiendan la aplicación de recubrimientos con actividad antimicrobiana de los auriculares y micrófonos en la telefonía pública. Para ello sugieren la utilización de polímeros con triclosan, justamente el grupo al que pertenece **ELSANEK**® (Kalyon y Olgun 2001)

1.1. Fibras y tejidos a base de polipropileno

El polipropileno es un termoplástico semicristalino, producto de la polimerización de propileno en presencia de un catalizador estereo-específico. Es un polímero vinílico, similar al polietileno, pero con grupos metilo como sustituyentes en uno de los carbonos



de la unidad monomérica.

Monómero de propileno

El fabricado de manera industrial es un polímero lineal, cuya espina dorsal es una cadena de hidrocarburos saturados. Cada dos átomos de carbono de esta cadena principal, se encuentra ramificado un grupo metilo (CH₃), permitiendo distinguir tres formas isómeras del polipropileno:

Las formas isotácticas y sindiotácticas, dada su gran regularidad, tienden a adquirir en estado sólido una disposición espacial ordenada, semicristalina, que confiere al material unas propiedades físicas excepcionales. La forma atáctica, en cambio, no tiene ningún tipo de cristalinidad. Los procesos industriales más empleados están dirigidos hacia la fabricación de polipropileno isotáctico que es el que ha despertado mayor interés comercial.

Varios puntos fuertes lo confirman como material idóneo para muchas aplicaciones: baja densidad, alta dureza y resistencia a la abrasión, alta rigidez, buena resistencia al calor, excelente resistencia química y excelente versatilidad. Además, es un producto inerte, totalmente reciclable, su incineración no tiene ningún efecto

contaminante, y su tecnología de producción es la de menor impacto ambiental (ésta última es una característica atractiva frente a materiales alternativos).

Tiene múltiples aplicaciones, por lo que es considerado como uno de los productos termoplásticos de mayor desarrollo en el futuro, habiendo sustituido gradualmente a materiales como el vidrio, los metales o la madera, así como polímeros de amplio uso general (ABS y PVC).

La utilización de este material para la fabricación de tejidos es la base del presente trabajo.

1.2 **ELSANEK**®

Las fibras de polipropileno, que hemos introducido en el apartado anterior, admiten mediante la aplicación de **nanotecnologías**, la incorporación de principios activos o complementos en su composición que doten al producto de **propiedades nuevas**, que pueden mantenerse independientemente de los procesos de acabado del tejido. Estas propiedades pueden ser tanto de tipo físico como consistir en la **incorporación de propiedades antimicrobianas**.

Propiedades físicas de **ELSANEK**®

Base química:	polipropileno isostático (grupo de las poliolefinas)
Punto de fusión:	167°C
Reblandecimiento:	sobre 145°C
Peso específico:	0,91 g/cm ³
Absorción de humedad :	0,05%
Conductividad térmica:	0,117 W/mK
Calor específico:	0,46 kJ/Kg°K

RESISTENCIA:

Tenacidad:	En forma de hilado, entre 3 y 4 gr/dtex ambos en seco y húmedo lo cual le confiere al tejido resultante, una resistencia muy superior al algodón en cualquier condición.
A la polilla y al moho:	excelente (ni es atacado ni estropeado)
A la suciedad:	alta (no absorbe manchas ni atrae el polvo)
Al frote:	excelente en seco y húmedo (no hace “pilling”)
A disolventes orgánicos:	Buena. La resistencia no cambia después de estar sumergido en la mayoría de disolventes durante 24 horas a 30°C; Resiste a la mayoría de ellos sumergido a punto de ebullición durante 8 horas.
Al ácido y al álcali:	Excelente. Después de estar sumergido unas 100 horas a 20°C.
Solidez de color:	amarillo = 5-7; otros colores = 6-8 en la escala de azules cuyo valor máximo es 8.
Solidez a la luz:	muy buena (especialmente con aditivos anti UV)

Colorantes empleados en **ELSANEK**® :

Los colorantes empleados en los productos **ELSANEK**® están certificados por la normativa OekoTex Standard 100, denominada también OekoTex Baby por estar acreditada para la utilización en productos para bebé.

2. Objetivo general

El objetivo general de esta investigación ha sido averiguar las propiedades biológicas de **ELSANEK**® de acuerdo a los parámetros habituales de evaluación del efecto antimicrobiano y de las cuestiones de seguridad de tejidos que deban entrar en contacto con la superficie de la piel.

3. Materiales y Métodos.

3.1. Determinación del poder bactericida y del poder bacteriostático.

El poder bacteriostático y bactericida se ha determinado siguiendo distintos métodos de utilización general en los laboratorios especializados. Por una parte se ha determinado el poder antimicrobiano de los tejidos objeto de estudio mediante pruebas **cualitativas** en placa en las cuales pudiera ponerse de manifiesto la capacidad bactericida, la capacidad de difusión del efecto bactericida así como la capacidad bacteriostática de los productos a ensayar. Para ello se realizaron cultivos de las diferentes especies bacterianas ensayadas, en medio Mueller-Hinton. Se diluyeron los cultivos hasta conseguir una suspensión bacteriana que contuviera aproximadamente 10^6 UFC/ml. A partir de cada uno de los cultivos diluidos, se sembraron en superficie de placas conteniendo Mueller-Hinton Agar. En cada una de las placas sembradas, se depositó una pieza de producto a ensayar o tejido control (de una superficie de 1.5cm^2 aprox.). Cuando se trataba de averiguar el efecto sobre el poder antibacteriano de alguno de los tratamientos ensayados, previamente se había sometido el producto a dicho tratamiento. Las placas se incubaron a $37^\circ\text{C} \pm 1$ y se procede a su lectura a las 24h, midiendo en milímetros el diámetro del halo de inhibición que se forma alrededor de la pieza en el cual se ha inhibido el crecimiento del microorganismo. En los casos en que el halo era invisible, se procedió a levantar la pieza de tejido y a observar la presencia o ausencia de crecimiento visible en la zona que había contactado durante la incubación con el tejido.

3.2. Determinación cuantitativa de los índices de poder bactericida y bacteriostático **Condiciones de cultivo.**

Las cepas bacterianas se mantuvieron a -80°C en TSB (Caldo de Tripticase y Soja) con Glicerol al 10%. Para cada experimento se tomaron alícuotas de las suspensiones ultracongeladas que se suspendieron en 5 ml medio de TSB y se incubaron a $37^\circ\text{C} (\pm 1^\circ\text{C})$. La pureza de los cultivos se comprobó en todos los casos mediante siembra en estría sobre agar de tripticase y soja (TSA) contenido en placas de Petri que se incubaron durante 24 horas tras lo que se inspeccionó la morfología colonial de las bacterias desarrolladas. A partir del primer cultivo en líquido se incubaron 20 ml de TSB en frascos Erlenmeyer de 100 ml de capacidad en baño metabólico con agitación recíproca a 100 rpm (recorrido de 3

cm). Después del cultivo las bacterias se diluyeron en agua estéril hasta la absorbancia deseada a 600 nm de longitud de onda mediante la utilización de curvas de calibración densidad óptica/número viable.

3.3. Preparación de los inóculos.

Los inóculos se prepararon por dilución del cultivo hasta alcanzar un número viable de $1 \pm 0.4 \times 10^4$ cfu/ml (cfu. Unidades formadoras de colonia).

Para la determinación de los índices bactericida y bacteriostático se utilizaron las cepas *Styaphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352 que son las cepas recomendadas por los organismos internacionales para la determinación del poder antimicrobiano de los productos textiles. Las cepas pertenecientes al resto de las especies fueron obtenidas de la colección CSUB (Colección de Soques de la UB a Bellvitge)

3.4. Inoculación de las muestras.

Las muestras de producto textil se cortaron en piezas de 1.5 cm cuadrados; cada muestra se inoculó con 200 µl /muestra incorporando pequeñas porciones del inóculo de modo que el tejido absorbiera toda la suspensión de inóculo. Cada muestra se procesó por triplicado.

3.5. Recuento de unidades formadoras de colonia.

Para proceder al recuento de unidades formadoras de colonia cada muestra inoculada se cubrió con 10 ml de Ringer $\frac{1}{4}$ tras lo que se procedió a agitar durante 5 minutos. A partir de esta suspensión se realizaron diluciones sucesivas en Ringer $\frac{1}{4}$ de los que se sembraron placas de TSA que se incubaron 24 horas a 37°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) tras lo que se procedió al recuento del número de colonias y a los cálculos correspondientes.

3.6. Cálculos

Valor de la prueba: Estos valores indican la validez de la prueba. Son aceptables valores superiores a 1.5.

$$Vc = \text{Log } N^c_{24} - \text{Log } N_0$$

Donde N^c_{24} es el número de bacterias tras 24 horas de incubación en la tela control y N_0 es el número de bacterias depositadas sobre la muestra al inicio del experimento

Indice bactericida: es un índice que indica el poder bactericida del tejido problema. Se define como

$$Ib = \text{Log } N^c_0 - \text{Log } N^p_{24}$$

Donde N^c_0 es el número de bacterias después de la inoculación (t=0h) en la tela control y N^p_{24} es el número de bacterias tras 24 horas de incubación en la tela problema.

Indice bacteriostático: es un índice que indica el poder bacteriostático del tejido problema. Se define como

$$Is = \text{Log } N^c_{24} - \text{log } N^p_{24}$$

Donde N^c_{24} es el número de bacterias tras 24 horas de incubación en el tejido control y N^p_{24} es el número de bacterias tras 24 horas de incubación en el tejido problema.

Porcentaje de reducción: es también un indicador de la capacidad antimicrobiana del tejido, aunque cuando los inóculos son grandes ($> 10^4$) sugiere potenciales mayores que los reales.

$$\text{Porcentaje de reducción} = (\text{log } N^c_{24} - \text{Log } N^p_{24}) / \text{log } N^c_{24} \times 100$$

Donde N^c_{24} el número de bacterias tras 24 horas de incubación en el tejido control y N^p_{24}

es el número de bacterias tras 24 horas de incubación en el tejido problema.

3.7 Condiciones ensayadas.

Una vez establecida la actividad antimicrobiana de l tejido objeto del estudio se ha determinado el efecto de los factores de manipulación sobre el mantenimiento de dicha actividad. Así se han ensayado los siguientes parámetros:

- a) Esterilización (121°C 20 min)
- b) Esterilización en autoclave de oxido de Etileno
- c) Efecto de la temperatura
 - a. 35°C 20 minutos
 - b. 40°C 20 minutos
 - c. 60°C 20 minutos
 - d. 90°C 20 minutos
 - e. 100°C 20 minutos
- d) Efectos de lavado

Para ello se utilizó una lavadora convencional con detergente comercial o sin detergente y procediendo a lavados Standard (agua caliente en dos grupos a 60°C y a 90°C)

3.8 Espectro de actividad

Con el fin de determinar la variedad de especies microbianas sobre las que es capaz de actuar el producto se ensayaron por el método en placa los siguientes microorganismos:

Escherichia coli.

Candida albicans

Pseudomonas aeruginosa

Enterococcus faecalis

Streptococcus mutans

Staphylococcus aureus

Staphylococcus epidermidis

Por otra parte, y teniendo en cuenta el especial interés de *Acinetobacter baumannii*

Por lo que respecta a las infecciones hospitalarias, cuando se estudió esta bacteria no solo se trató de poner de manifiesto la actividad sino cuantificarla mediante determinación de

los índices bactericida y bacteriostático.

3.9. Determinación de la toxicidad dérmica

Para la determinación de la toxicidad dérmica se ha aplicado el test denominado “Acute Dermal Irritation/Corrosion”. OCDE 404 (2002). Es una prueba que se aplica a sustancias sólidas y líquidas. El ensayo y evaluación de las características tóxicas de una sustancia, la determinación de sus efectos corrosivos e irritantes sobre la piel de mamíferos es un paso inicial relevante porque la información derivada puede poner de manifiesto la eventualidad de posibles complicaciones tras la exposición al producto ensayado. Para ello es preciso concretar dos definiciones: Irritación dérmica o producción de cambios inflamatorios reversibles en la piel, debidos a la aplicación de la sustancia a ensayar; y corrosión dérmica o producción de cambios irreversibles titulares en la piel, consecuencia de la exposición de la sustancia a ensayar. La sustancia a ensayar es aplicada en una dosis única sobre la piel de varios animales de experimentación, siendo cada animal también su propio control. El grado de irritación se cuantifica en función del enrojecimiento que presenta la piel después de la exposición descrito conforme a intervalos específicos para obtener una completa evaluación de sus efectos. La duración del estudio será la necesaria para poder evaluar la reversibilidad o irreversibilidad de los efectos observados.

Se utilizaron tres conejos machos Gigantes de Nueva Zelanda de 3 Kg de peso a los que se rasuró la zona dorsal (El conejo albino está recomendado como animal de elección en este tipo de experimentos). Los animales se adquirieron específicamente para este procedimiento de acuerdo al protocolo estandarizado y tras autorización del Comité ético de experimentación animal de la Universidad de Barcelona. Los animales estuvieron individualmente estabulados. La temperatura del cuarto experimental fue de de 20°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) que es la recomendada para conejos, y la humedad relativa entre el 50-70%. Con secuencia de 12h de luz y otras 12h de oscuridad. Se administró una dieta convencional de estabulación sin restricciones, suplementada con agua. Los animales fueron controlados en un periodo de cuarentena en la zona destinada a tal efecto antes de ser instalados en el cuarto experimental de acuerdo a las normas de control de los estabularios científicos. El control, veterinario corrió a cargo del personal de estabulario del pabellón de experimentación animal del Campus de Bellvitge.

Criterios de evaluación de los resultados:

FORMACION DE ERITEMAS	VALOR
Sin eritema (Toxicidad nula)	0
Grado mínimo. Eritema casi imperceptible	1
Eritema bien definido	2
Eritema moderadamente severo	3
Eritema severo	4
Valor máximo posible	4

FORMACION DE EDEMAS	VALOR
Sin edema (Toxicidad nula)	0
Grado mínimo. Edema casi imperceptible	1
Edema bien definido	2
Edema moderadamente severo	3
Edema severo	4
Valor máximo posible	4

4. Resultados

En los experimentos preliminares para poner de manifiesto la capacidad antimicrobiana de **ELSANEK**®, se puso de manifiesto que el producto presentaba una aparente capacidad de inhibir los microorganismos ensayados. En concreto en muchos de ellos era capaz de inducir la aparición de halos de inhibición de tamaño notable.



Figura 1. Halo de Inhibición producido por un fragmento de **ELSANEK**® sin tratamiento ninguno sobre una siembra confluyente de *Staphylococcus aureus*

La medida de los diámetros de los halos de inhibición (efecto bactericida por producto difundido) corresponden a lo que se describen en la tabla siguiente:

<u>Cepa bacteriana</u>	<u>Diámetro del halo de inhibición</u>
<i>S. aureus</i> (8h)	34mm
<i>S. aureus</i> (24h)	35mm
<i>S. epidermidis</i>	50mm
<i>S. mutans</i>	0mm
<i>C. albicans</i>	38mm
<i>Escherichia coli</i>	0mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0mm
<i>Enterococcus faecalis</i>	0mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0mm
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0mm

Como puede apreciarse el comportamiento es muy variable y en un buen número de especies de entre las ensayadas no se aprecia formación de halos de inhibición alrededor de la pieza. Sin embargo si se aprecia inhibición del crecimiento en la zona en la cual el cultivo entra en contacto directo con la muestra.

Cuantificación del índice bactericida y Bacteriostático.

	0h	6h	24h
<i>K. pneumoniae</i> /algodón	2.8×10^3	2.3×10^6	1.2×10^7
<i>K. pneumoniae</i> / ELSANEK ®	6.0×10^3	8.8×10^3	8×10^3
<i>S. aureus</i> / algodón	3×10^3	3.7×10^5	6.7×10^7
<i>S. aureus</i> / ELSANEK ®	3×10^3	10	2

A partir de estos resultados pueden calcularse los valores de los índices Bactericida y Bacteriostático.

Valor de la prueba: los valores indican la validez del experimento cuando son superiores a 1,5.

Klebsiella pneumoniae

$$V_c = 7.07 - 3.3 = 3.77$$

Staphylococcus aureus

$$V_c = 7.82 - 3.51 = 4.31$$

Por lo tanto ambos son válidos

Índice bactericida

Klebsiella pneumoniae -0.6

Staphylococcus aureus 3.2

Índice bacteriostático

Klebsiella pneumoniae 3.17

Staphylococcus aureus 7.5

Índice de reducción.

Klebsiella pneumoniae **44.87 %**

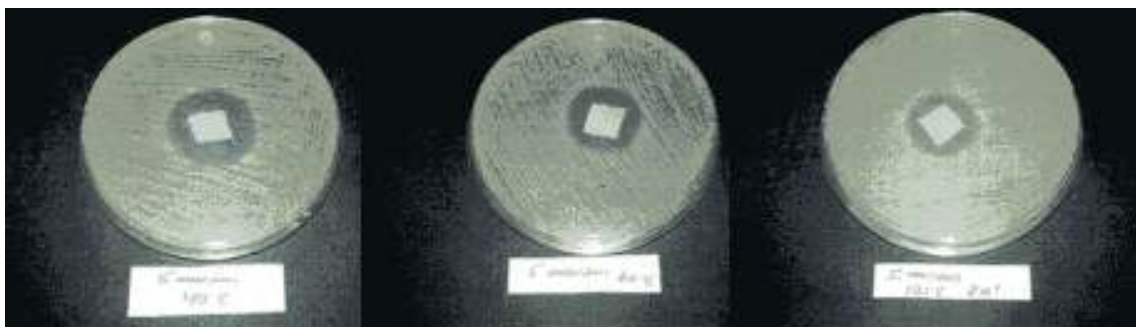
Staphylococcus aureus **96.15 %**

Puede considerarse el efecto antimicrobiano de **ELSANEK**® como muy elevado.

Efecto de la temperatura

Los tratamientos térmicos aplicados indujeron una relativa reducción de los halos de inhibición en aquellas especies en las que el producto era capaz de provocarlos tal y como se señala en la siguiente tabla:

	control	35°C 20'	40°C 20'	60°C 20'	90°C 20'	100°C 20'	121°C 20'
<i>S. aureus</i> 8h	34mm	34mm	30mm	24mm	24mm	23mm	24mm
<i>S. aureus</i> 24h	35mm	32mm	30mm	26mm	24mm	24mm	24mm
<i>S. epidermidis</i>	50mm	44mm	44mm	44mm	44mm	44mm	43mm
<i>C. albicans</i>	38mm	36mm	32mm	31mm	32mm	35mm	34mm



El efecto del tratamiento térmico sobre la actividad antibacteriana de **ELSANEK**® se puede visualizar claramente en la grafica que se expone a continuación en la que se representan los valores del índice bactericida frente a *Staphylococcus aureus* tras tratamientos a diversas temperaturas:

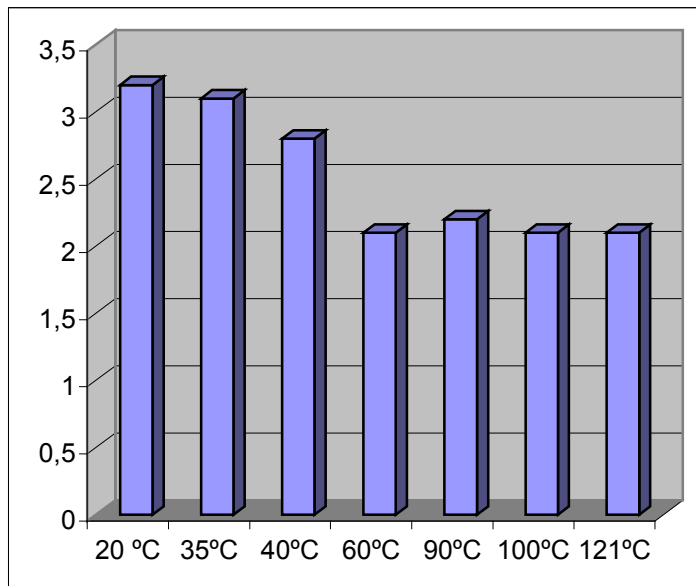


Fig 2. Valores de Ib (índice bactericida) sobre *Staph. aureus* tras tratamientos a diferentes temperaturas.

En ella se aprecia con claridad que a 60 °C se produce una relativa disminución del efecto bactericida (de 3,5 a 2,4). Sin embargo esta es la máxima reducción por efecto de la temperatura. A temperaturas superiores el efecto sobre la actividad antimicrobiana de **ELSANEK**® se mantiene inalterable

Efecto lavado

La actividad de **ELSANEK**® se ha determinado tras sucesivos lavados como se ha indicado en el apartado de Material y Métodos.

Los resultados (tabla) muestran que la actividad bactericida disminuye con el aumento del número de lavados, mientras que la actividad bacteriostática se mantiene.

Número de lavados	Índice bacteriostático	Reducción
60°C 2 lavados	1.9	26
60°C 3 lavados	1.5	21.7

Espectro de acción.

La actividad de **ELSANEK**® se ha comprobado en una gama amplia de microorganismos.

En las bacterias Grampositivas se comporta como bacteriostático en todas ellas y como bactericida en la mayoría. Mientras que en la Gramnegativas se comporta como bacteriostático. Es un buen fungicida y un buen fungistático. En las tablas expuestas a continuación se indican los resultados cualitativos de este apartado.

	BACTERICIDA	BACTERIOSTÁTICO
<i>S.aureus</i>	+	+
<i>S.epidermidis</i>	+	+
<i>St. mutans</i>	-	+

	BACTERICIDA	BACTERIOSTÁTICO
<i>E.coli</i>	-	+
<i>P.aeruginosa</i>	-	-
<i>E.faecalis</i>	-	+
<i>Kk.pneumoniae</i>	-	+

	FUNGICIDA	FUNGISTATICO
<i>C.albicans</i>	+	+

Actividad frente al patógeno *Acinetobacter baumannii*

Dado el especial interés del mundo clínico por las infecciones nosocomiales producidas por *A. baumannii*, se trató de modo especial la susceptibilidad de esta bacteria a **ELSANEK**®. Para ello se empleó la cepa CSUB 3245 de *A. baumannii*. Cepa aislada de un caso del hospital de Bellvitge.

Índice bactericida: **-2.3**

Índice bacteriostático: **1.69**

% de reducción (UFC/ml): **23.27**

A partir del análisis de estos resultados puede concluirse que se trata de un muy buen bacteriostático frente a *A. baumannii* CSUB 3245.

Toxicidad dérmica

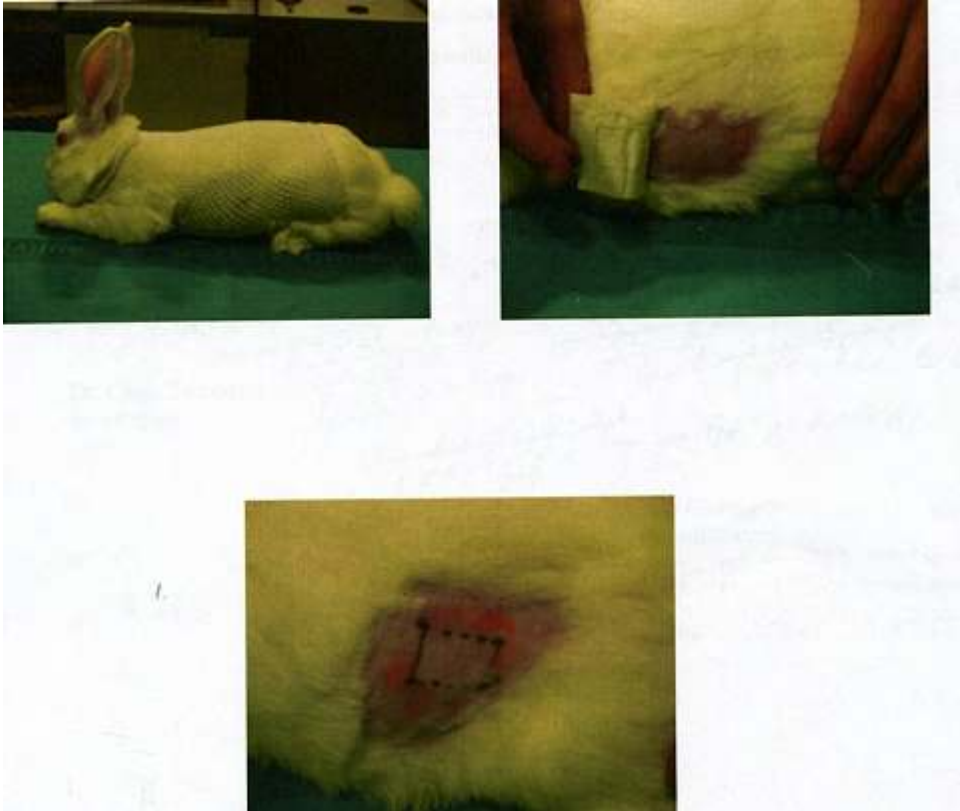
La toxicidad dérmica en conejo se determinó por el protocolo anteriormente citado con los siguientes resultados:

Valoración de la aparición de **EDEMAS**.

	0.5h	24h	48h	72h
Conejo 1	0	0	0	0
Conejo 2	0	0	0	0
Conejo 3	0	0	0	0

Valoración de la aparición de **ERITEMAS**:

	0.5h	24h	48h	72h
Conejo 1	0	0	0	0
Conejo 2	0	0	0	0
Conejo 3	0	0	0	0



CONCLUSIONES PROVISIONALES :

ELSANEK® es un material textil con excelentes propiedades antimicrobianas y exento de toxicidad. Es escasamente bactericida, con lo que se puede considerar que afectará pobremente a la flora normal de la superficie del cuerpo, mientras que mantiene, tras todos los tratamientos ensayados una buena actividad bacteriostática. Esta es la característica ideal en la fabricación de tejidos con actividad antimicrobiana y abre grandes perspectivas en la utilización de **ELSANEK**® en el entorno clínico y doméstico cuando sea necesario mantener estables las poblaciones microbianas, prevenir transmisión de

infecciones a través de los productos textiles (sábanas y otros productos en contacto con la piel), y evitar olores desagradables procedentes del metabolismo bacteriano. Asimismo es de destacar la acción antifúngica de **ELSANEK**® como se indica en el apartado de resultados.

Barcelona, 20 de Octubre de 2006

Dr. César Escribano
Investigador

VºBº
Prof. Miguel Viñas Ciordia
Catedrático de Microbiología

Bibliografia

Das I, Lambert P, Hill D, Noy M, Bion J, Elliott T. Carbapenem-resistant *Acinetobacter* and role of curtains in an outbreak in intensive care units. *Journal of Hospital Infection* **50**:110-114

United States Nacional Academy of Sciences, Comitee for the Review of NAS Publication 1138, Principles and Procedures for Evaluating the Toxicity of Household Substances, Washington, 1977

Draize, J.H., Woodward, G. and Calvery, H.O., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 83, 377-390, 1944.

Draize, J.H. The Appraisal of Chemicals in Foods, Drugs, and Cosmetics, pp 46-48. *Association of Food and Drug Officials of United States*, Austin, Texas 1959.

Lortholary O, Fagon JY, Buu Hoi A, Mahieu G, Gutmann L. 1998 Colonization by *Acinetobacter baumannii* in intensive-care-unit patients. *Infect Control Hosp Epidemiol.* Mar;19:188-90

Pina P, Guezenec P, Grosbuis S, Guyot L, Ghnassia JC, Allouch PY. 1998 An *Acinetobacter baumannii* outbreak at the Versailles Hospital Center. *Pathol Biol (Paris).* Jun;46:385-94.

Husni RN, Goldstein LS, Arroliga AC, Hall GS, Fatica C, Stoller JK, Gordon SM 1999 Risk factors for an outbreak of multi-drug-resistant *Acinetobacter* nosocomial pneumonia among intubated patients. *Chest.* May;115:1378-82.

Kalion BD, Olgun U 2001 Antibacterial efficacy of triclosan incorporated polymers. *American Journal of Infections control* 29: 124-125

Tunç K, Olgun U . 2005. Microbiology of public telephones. *Journal of Infection.* 53: 140-143