

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania  
w Języku Angielskim



Doktorant:

**mgr Anna Bukłaha**

Rozprawa doktorska pt.:

**„Zastosowanie metod dezynfekcji drogą powietrzną do dekontaminacji powierzchni  
kabinowych i układów klimatyzacji samochodowych”**

Promotor:

dr hab. n. med. Piotr Wieczorek

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej

Mentor:

mgr Dorota Rutkowska

„MEDILAB” Sp. z o.o.

Białystok, 2022

*Składam serdeczne podziękowania Promotorowi pracy  
Panu dr hab. Piotrowi Wieczorkowi  
za zaangażowanie i poświęcony czas oraz życzliwą atmosferę,  
która przyczyniła się do pomyślnego napisania mojej pracy naukowej.*

*Składam podziękowanie Kierownikowi  
Zakładu Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej  
Pani prof. dr hab. Elżbiecie Tryniszewskiej  
za możliwość rozwoju naukowego i cenne porady merytoryczne.*

Praca doktorska powstała w ramach projektu pt. „Krajowe Międzysektorowe Studia Doktoranckie na Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku” (POWR.03.02.00-00-I050/16) współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój 2014 – 2020, grant nr 01/MSD/2019.

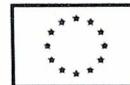


**Fundusze Europejskie**  
Wiedza Edukacja Rozwój



**Unia Europejska**  
Europejski Fundusz Społeczny





Białystok, dnia 11.01.2022

## ZAŚWIADCZENIE O POTENCJALE WDROŻENIOWYM

Dotyczy realizacji projektu o nr POWR.03.02.00-00-I050/16, ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego PO WER 2014-2020, nr grantu 01/MSD/2019 pt.: „Zastosowanie metod dezynfekcji drogą powietrzną do dekontaminacji powierzchni kabinowych i układów klimatyzacji samochodowych”

**Imię i nazwisko doktoranta:** Anna Bukłaha

**Przedsiębiorstwo:** Medilab Sp.z o. o.

**Imię i nazwisko mentora:** Dorota Rutkowska

W wyniku przeprowadzonych badań naukowych dotyczących zastosowania trzech metod fumigacji do dezynfekcji układów klimatyzacji samochodowych zostało stwierdzone działanie bójcze na drobnoustroje izolowane z układów klimatyzacji samochodowych produktu NDP Air Total Green, który jest w ofercie sprzedaży Firmy Medilab Sp. z o. o. W ofercie preparat ten jest dedykowany do dezynfekcji drogą powietrzną pomieszczeń medycznych oraz wyposażenia medycznego. Wykazanie skuteczności dezynfekcji produktu NDP Air Total Green w obszarze pozamedycznym daje możliwość Firmie Medilab Sp. z o. o. wprowadzenia do oferty tego preparatu w zupełnie nowym obszarze zastosowania.

**PREZES ZARZĄDU**  
„MEDILAB” Sp. z o.o.

dr n. med. Mihał Ząbłocki

## Spis treści

<b>1. Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską .....</b>	<b>6</b>
<b>2. Dorobek naukowy .....</b>	<b>7</b>
<b>3. Wstęp .....</b>	<b>8</b>
<b>4. Cele pracy.....</b>	<b>10</b>
<b>5. Materiał i metody .....</b>	<b>11</b>
<b>6. Wyniki .....</b>	<b>13</b>
<b>7. Wnioski: .....</b>	<b>18</b>
<b>8. Praca oryginalna: Air disinfection – from medical areas to vehicle.....</b>	<b>19</b>
<b>9. Praca przeglądowa: New trends in application of the fumigation method in medical and non-medical fields.....</b>	<b>30</b>
<b>10. Streszczenie .....</b>	<b>35</b>
<b>11. Summary .....</b>	<b>37</b>
<b>12. Piśmiennictwo .....</b>	<b>39</b>
<b>13. Informacja o charakterze udziału współautorów w publikacjach wraz z szacunkowym określeniem procentowego wkładu każdego z nich oraz oświadczenia o zgodzie na wykorzystanie publikacji w rozprawie doktorskiej .....</b>	<b>41</b>
<b>14. Zgoda Komisji Bioetycznej.....</b>	<b>57</b>

## 1. Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską

### 1.1 Praca oryginalna

1. **Anna Bukłaha**, Anna Wieczorek, Ewelina Kruszewska, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Trynieszewska, Piotr Wieczorek. Air Disinfection – From Medical Areas to Vehicle. Frontiers in Public Health. 2022 Feb 24;10:820816; doi: 10.3389/fpubh.2022.820816.  
**IF – 3.709, MNiSW – 100 pkt.**

### 1.2 Praca przeglądowa

1. **Anna Bukłaha**, Anna Wieczorek, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Trynieszewska, Piotr Wieczorek. New trends in application of the fumigation method in medical and non-medical fields. Annals of Agricultural and Environmental Medicine. 2022; doi: 10.26444/aaem/144136.  
**IF – 1.447, MNiSW – 100 pkt.**

## 2. Dorobek naukowy

<b>Rodzaj publikacji</b>	<b>Liczba</b>	<b>ImpactFactor</b>	<b>Punktacja MNiSW</b>
Prace włączone do rozprawy doktorskiej	2	5,156	200
Prace, które nie zostały włączone do rozprawy doktorskiej	3	11,262	380
Streszczenia zjazdowe	20	-	-
<b>Razem</b>	<b>25</b>	<b>16,418</b>	<b>580</b>

### 3. Wstęp

Klimatyzacja samochodowa w XXI wieku stała się typowym i normalnym wyposażeniem pojazdów. Z jednej strony zapewnia ona komfort jazdy, zmniejsza zmęczenie, wpływa na wyższą koncentrację kierowcy, a z drugiej strony tworzy sprzyjające warunki do gromadzenia się drobnoustrojów. Najbardziej powszechnymi gatunkami bakterii w kabinach samochodowych są Gram-dodatnie ziarniaki z rodzaju *Staphylococcus* i *Micrococcus/Kocuria* oraz Gram-dodatnie pałeczki z rodzaju *Bacillus*. Do najczęściej identyfikowanych grzybów należą grzyby z rodzajów *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* i *Penicillium* [1, 2]. Z czasem mikroorganizmy wraz z powietrzem przedostają się do wnętrza samochodu, wynikiem czego może być nieprzyjemny zapach, a także niepożądane skutki zdrowotne takie jak: infekcje i reakcje alergiczne [3, 4]. Aktywne zapachowo zostały zidentyfikowane alkohole, aldehydy i kwasy organiczne wytwarzane przez drobnoustroje [5, 6].

Rozwiązaniem do eliminacji niepożądanych drobnoustrojów z układów klimatyzacji samochodowych jest regularna dezynfekcja. Może ona być przeprowadzana na kilka sposobów: za pomocą aerozolu, urządzenia ultradźwiękowego, generatora ozonu lub fumigatora.

Dezynfekcja fumigacyjna polega na zamgławianiu pomieszczeń mgłą mikrozoolową, zawierającą preparat dezynfekcyjny za pomocą mobilnego generatora tzw. fumigatu, przeznaczonego do dezynfekcji powietrznej. Podczas procesu zamgławiania wytwarzana jest nieopadająca, drobnocząsteczkowa mgła, dzięki czemu dezynfekowana powierzchnia nie pozostaje zwilżona, a środek dezynfekcyjny dociera do wszystkich trudno dostępnych miejsc, których nie można zdezynfekować manualnie. Jest ona jednocześnie bezpieczna dla systemów elektronicznych sprzętów i aparatury [7].

Ze względu na bezpieczeństwo i wysoką skuteczność fumigacja jest szeroko stosowana w różnych obszarach, zarówno medycznych, jak i niemiedycznych. Dezynfekcja za pomocą tej metody znalazła zastosowanie w branży medycznej, farmaceutycznej, spożywczej oraz w transporcie, do fumigacji powietrza lub dezynfekcji powierzchni, takich jak sale szpitalne i laboratoryjne, pomieszczenia izolacyjne, inkubatory, magazyny, chłodnie, statki, ciężarówki, kontenery kolejowe oraz kabiny samolotowe [8, 9].

Najczęściej do fumigacji jest wykorzystywany kwas nadoctowy oraz nadtlenek wodoru, ze względu na ich wysoką skuteczność w zwalczaniu drobnoustrojów i nietoksyczne produkty uboczne [10]. Jednak kwas nadoctowy może wykazywać działanie korodujące w stosunku do metalowych części wyposażenia, ponadto pozostawia intensywny zapach octu.

Doniesienia literaturowe wskazują na synergistyczne oddziaływanie połączenia nadtlenu wodoru z kwasem nadoctowym w porównaniu do indywidualnego zastosowania każdego ze środków [11, 12]. Skuteczność kwasu nadoctowego w połączeniu z nadtlakiem wodoru wynika ze wspólnych mechanizmów działania tych związków, polegających na chemicznym utlenianiu składników komórkowych [13].

Innym popularnym środkiem do dezynfekcji drogą powietrzną jest chlorek didecyldimetyloamoniowy, a jego efekt dezynfekcyjny jest związany z działaniem na błony komórkowe drobnoustrojów. Ze względu na nieznaczną korozyjność i toksyczność chlorek didecyldimetyloamoniowy jest stosowany w zakładach opieki zdrowotnej, weterynarii i produkcji żywności [14]. Dodatkowo połączenie chlorku didecyldimetyloamoniowego z aldehydem cynamonowym wykazuje większe działanie dezynfekcyjne, które jest spowodowane efektem synergicznym tych związków. Aldehyd cynamonowy jest stosowany w perfumach, woskach, środkach czystości, kosmetykach, środkach higieny osobistej i produktach gospodarstwa domowego, farmaceutykach i biocydach [15].

Dzięki wysokiej skuteczności dezynfekcyjnej metoda fumigacji nabrała szczególnego znaczenia w obliczu pandemii COVID-19 i może mieć zasadnicze znaczenie w walce z rozprzestrzenianiem się wirusa SARS-CoV-2 poprzez zakłócanie jego szlaków transmisyjnych [16, 17].

Na podstawie danych literaturowych, wskazujących na skuteczność działania kwasu nadoctowego, nadtlenu wodoru oraz chlorku didecyldimetyloamoniowego w dezynfekcji drogą powietrzną zostały przeprowadzone badania skuteczności dezynfekcji fumigacyjnej układów klimatyzacji samochodowych. Szczególnie istotne z punktu widzenia wdrażania innowacyjnych rozwiązań wydaje się być aplikacyjne odniesienie otrzymanych przez mnie wyników badań.

#### **4. Cele pracy**

1. Ocena działania przeciwdrobnoustrojowego medycznych środków do dezynfekcji drogą powietrzną w nowych obszarach zastosowania jakimi są powierzchnie kabin samochodowych.
2. Porównanie skuteczności działania trzech środków w fazie gazowej wobec drobnoustrojów znajdujących się na powierzchniach kabin samochodowych.
3. Badanie działania środków dezynfekcyjnych na zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza wypływającego z układu klimatyzacji samochodowej.
4. Porównanie skuteczności działania trzech środków wobec drobnoustrojów znajdujących się w powietrzu wypływającym z układu klimatyzacji samochodowej.

## 5. Materiał i metody

Badanie przeprowadzono na 34 prywatnych, klimatyzowanych pojazdach samochodowych. Pojazdy te zostały losowo wybrane i przebadane w okresach letnich w latach 2018-2020 w Białymstoku.

Pobieranie próbek z powierzchni kabin samochodowych oraz próbek powietrza wpływającego z układu klimatyzacji samochodowej, pracującej w trybie zamkniętego obiegu powietrza, przeprowadzono przed i po dezynfekcji kabin trzema różnymi produktami do dezynfekcji w fazie gazowej. Były to:

1. preparat 1 (PAA/HPO) - kwas nadooctowy stabilizowany nadtlenkiem wodoru, aplikowany aparatem do fumigacji Aerosept produkcji Laboratoires Anios (Francja); produkt pozostawia intensywny zapach octu;
2. preparat 2 (DDAC/PHMB) - komercyjny „gotowy do użycia” środek w aerozolu z lokalnego supermarketu na bazie alkoholu, chlorku didecyldimetyloamoniowego i kompozycji aromatycznej przeznaczony do samodzielnej dezynfekcji klimatyzacji samochodowych; produkt pozostawia zapach świeżości;
3. preparat 3 (DDAC/CA) - chlorek didecyldimetyloamoniowy, 2-fenoksyetanol i aldehyd cynamonowy aplikowany atomizerem; środek przeznaczony do bezobsługowej dezynfekcji powierzchni oraz sprzętu medycznego; produkt pozostawia zapach zbliżony do cynamonu.

Drobnoustroje z powierzchni 25 cm<sup>2</sup> pobierano za pomocą płytek kontaktowych typu Rodac (Oxoid, Wielka Brytania). Płytkę dociskano do różnych powierzchni przy użyciu aplikatora Count-Tact (bioMérieux, Francja) przez 10 sekund. Płytki zawierały agar tryptozowo-sojowy (TSA) dla bakterii (Oxoid, Wielka Brytania) oraz agar Sabourauda (Oxoid, Wielka Brytania) dla grzybów. W każdym z samochodów przebadano następujące powierzchnie: kokpit, siedzenie kierowcy, drzwi kierowcy oraz podłogę.

Próbki powietrza pobierano za pomocą mikrobiologicznego systemu monitorowania powietrza MAS-100 (Merck, Niemcy) w ciągu 10 minut, odpowiada to cyrkulacji 1 m<sup>3</sup> powietrza. Do hodowli mikroorganizmów używano standardowych szalek Petriego: z agarem z krwią (COS-Columbia Agar+5% krew barania, bioMérieux, Francja) dla bakterii i agarem Sabourauda (Oxoid, Wielka Brytania) dla grzybów. Podczas eksperymentu próbnik MAS-100 był umieszczany na środku kabiny pomiędzy siedzeniami w taki sposób, aby powietrze

napływające z systemu klimatyzacji było kierowane na głowicę MAS-100 i szalki Petriego, przy zamkniętych wszystkich drzwiach i oknach.

Całkowitą liczbę jednostek tworzących kolonie (JTK) bakterii i grzybów określano w próbkach powietrza pobieranego zgodnie z opisem powyżej. Klimatyzacja w każdym samochodzie działała w temperaturze 20 °C, przy średniej prędkości wentylatora i z recyrkulacją powietrza w kabinie przez układ klimatyzacji. Próbki powietrza pobierano w ten sam sposób przed i po procesie dezynfekcji.

Próbki inkubowano w warunkach tlenowych w temperaturze 35 °C przez 24-48 godzin dla bakterii i w temperaturze 30 °C przez 48-72 godzin dla grzybów, po czym zliczano JTK bakterii i grzybów na płytkach agarowych. Bakterie różnicowano metodą barwienia Grama (fiolet krystaliczny, fuksyna Aqua-med, Polska; alkohol Hipernet Sp. z o.o., Polska). Liczbę JTK dostosowywano za pomocą tabeli przeliczeniowej Feller'a i wyrażano w JTK/m<sup>3</sup> dla próbek powietrza zgodnie z protokołem opracowanym przez producenta próbnika powietrza. W wybranych przypadkach identyfikacja drobnoustrojów została przeprowadzona za pomocą spektrometru masowego Vitek MS (bioMerieux, Francja) zgodnie z instrukcją zalecaną przez producenta. Identyfikowane drobnoustroje nanoszono w niewielkiej ilości za pomocą plastikowych ez na okrągłe pola szklanych płytek. Następnie sektory te pokrywano odpowiednimi odczynnikami dla bakterii i grzybów. Tak przygotowane płytki umieszczano w komorze badawczej aparatu. Do kalibracji urządzenia wykorzystywano szczep referencyjny *Escherichia coli* ATCC 25922.

Uzyskane wyniki poddawano analizie statystycznej przy użyciu nieparametrycznych testów Wilcoxon'a do porównania zanieczyszczenia mikrobiologicznego powierzchni i powietrza przed i po dezynfekcji oraz analizy wariancji Kruskala-Wallis'a i testu post-hock do porównania skuteczności trzech preparatów dezynfekcyjnych. Do przeprowadzenia obliczeń wykorzystano program Statistica 13.3 (StatSoft Polska).

Badania nie wymagały zgody Komisji Bioetycznej UMB - decyzja nr APK.002.486.2021.

## 6. Wyniki

6.1. Ocena działania przeciwdrobnoustrojowego trzech preparatów do dezynfekcji drogą powietrzną na powierzchnie kabin samochodowych.

**Tabela I.** Mediana, kwartyle oraz wartość  $p$  drobnoustrojów wyhodowanych z odcisków powierzchni przed i po dezynfekcji; poziom istotności statystycznej  $p < 0.05$

	Preparat 1 (PAA/HPO)		Preparat 2 (DDAC/PHMB)		Preparat 3 (DDAC/CA)	
	Me (Q1-Q3)	$p$	Me (Q1-Q3)	$p$	Me (Q1-Q3)	$p$
<b>Kokpit bakterie przed</b>	26 (18-44)	0.0029	15 (12-45)	0.5048	36 (25-58)	0.0069
<b>Kokpit bakterie po</b>	1 (0-2)		25 (11-40)		13.5 (10-30)	
<b>Kokpit grzyby przed</b>	17 (4-52)	0.0022	4 (3-11)	0.0178	33 (14-49)	0.0243
<b>Kokpit grzyby po</b>	0 (0-0)		1 (1-3)		15.5 (8-40)	
<b>Siedzenia bakterie przed</b>	54 (34-62)	0.0014	22 (13-54)	0.328	30.5 (15-53)	0.0366
<b>Siedzenia bakterie po</b>	5 (2-13)		21 (15-43)		22.5 (11-30)	
<b>Siedzenia grzyby przed</b>	7 (0-10)	0.0144	2 (2-4)	0.1141	6 (3-10)	0.6464
<b>Siedzenia grzyby po</b>	0 (0-1)		1 (1-1)		4 (3-8)	
<b>Drzwi bakterie przed</b>	42 (28-51)	0.0014	33 (18-53)	0.328	65.5 (18-92)	0.0093
<b>Drzwi bakterie po</b>	2 (0-6)		35 (20-41)		27.5 (20-76)	
<b>Drzwi grzyby przed</b>	22 (7-33)	0.0014	4 (1-5)	0.0166	6.5 (4-37)	0.0414
<b>Drzwi grzyby po</b>	0 (0-0)		3 (0-4)		6 (2-12)	
<b>Podłoga bakterie przed</b>	51 (35-87)	0.0014	29 (16-78)	1	84.5 (58-112)	0.005
<b>Podłoga bakterie po</b>	7 (1-17)		27 (18-78)		48 (40-80)	
<b>Podłoga grzyby przed</b>	36 (10-48)	0.0018	8 (3-23)	0.2863	30 (17-48)	0.0125
<b>Podłoga grzyby po</b>	0 (0-1)		6 (4-13)		15.5 (11-29)	

**Me** – mediana, **Q1** – pierwszy kwartył, **Q3** – trzeci kwartył, **Preparat 1 (PAA/HPO)** – kwas nadcoctowy stabilizowany nadtleniem wodoru, **Preparat 2 (DDAC/PHMB)** – preparat na bazie alkoholu, chlorku didecylodimetyloamoniowego i kompozycji aromatycznej, **Preparat 3 (DDAC/CA)** - chlorek didecylodimetyloamoniowy, 2-fenoksyetanol i aldehyd cynamonowy

Badania wykazały istotną statystycznie redukcję drobnoustrojów ( $p < 0,05$ ) na wszystkich testowanych powierzchniach po zastosowaniu preparatu 1. Preparat 2 istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) redukował jedynie liczbę grzybów na kokpicie i drzwiach. Preparat 3 istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) redukował liczbę drobnoustrojów na wszystkich testowanych powierzchniach, z wyjątkiem grzybów na siedzeniach.

6.2. Porównanie skuteczności działania trzech środków w fazie gazowej wobec drobnoustrojów znajdujących się na powierzchniach kabin samochodowych.

**Tabela II.** Mediana, kwartyly oraz wartość  $p$  różnic działania preparatów na powierzchni; poziom istotności statystycznej  $p < 0.05$

	Preparat 1 (PAA/HPO) Me (Q1-Q3)	Preparat 2 (DDAC/PHMB) Me (Q1-Q3)	Preparat 3 (DDAC/CA) Me (Q1-Q3)	Analiza <i>post hoc</i>		
				$p$		
				1-2	2-3	1-3
<b>Kokpit bakterie</b>	22 (16-43)	3 (-3-7)	18.5 (9-28)	0.0026	0.0171	1.0000
<b>Kokpit grzyby</b>	16 (4-52)	3 (0-4)	7.5 (1-20)	0.0310	0.7234	0.6016
<b>Siedzenia bakterie</b>	45 (27-56)	2 (-6-11)	8 (3-27)	0.0001	0.8928	0.0118
<b>Siedzenia grzyby</b>	7 (0-8)	1 (0-2)	0 (-2-5)	0.4849	1.0000	0.3140
<b>Drzwi bakterie</b>	41 (26-47)	6 (-3-18)	16,5 (4-31)	0.0005	0.5705	0.0686
<b>Drzwi grzyby</b>	22 (7-33)	1 (1-2)	3 (2-25)	0.0001	0.2623	0.0730
<b>Podłogi bakterie</b>	50 (25-76)	4 (-10-9)	29 (18-41)	0.0001	0.0091	1.0000
<b>Podłoga grzyby</b>	36 (9-47)	0 (-2-6)	6 (2-31)	0.0017	0.2319	0.3843
<p><b>Me</b> – mediana, <b>Q1</b> – pierwszy kwartyl, <b>Q3</b> – trzeci kwartyl, <b>Preparat 1 (PAA/HPO)</b> – kwas nadctowy stabilizowany nadtleniem wodoru, <b>Preparat 2 (DDAC/PHMB)</b> – preparat na bazie alkoholu, chlorku didecyldimetyloamoniowego i kompozycji aromatycznej, <b>Preparat 3 (DDAC/CA)</b> - chlorek didecyldimetyloamoniowy, 2-fenoksyetanol i aldehyd cynamonowy</p>						

Porównanie skuteczności działania trzech środków wobec drobnoustrojów znajdujących się na powierzchniach kabin samochodowych wykazało istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) większe działanie bójcze wobec wszystkich grup drobnoustrojów (z wyjątkiem grzybów na siedzeniach) preparatu 1 w porównaniu do preparatu 2 oraz większe działanie bójcze na bakterie znajdujące się na siedzeniach w porównaniu do preparatu 3. Działanie

preparatu 3 w porównaniu do preparatu 2 było istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) bardziej skuteczne w przypadku bakterii na kokpicie i podłodze. W pozostałych przypadkach różnice były nieistotne statystycznie.

6.3. Badanie działania środków dezynfekcyjnych na zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza wpływającego z układu klimatyzacji samochodowej.

**Tabela III.** Mediana, kwartyłe oraz wartość  $p$  drobnoustrojów pobranych z powietrza wpływającego z układów klimatyzacyjnych samochodów przed i po dezynfekcji; poziom istotności statystycznej  $p < 0,05$

	PAA/HPO		DDAC/PHMB		DDAC/CA	
	Me (Q1-Q3)	$p$	Me (Q1-Q3)	$p$	Me (Q1-Q3)	$p$
<b>Bakterie przed</b>	7 (5-19)	0.0033	13 (10-22)	0.0665	21 (15-35)	0.005
<b>Bakterie po</b>	1 (0-2)		11 (8-16)		6 (4-8)	
<b>Gram-dodatnie przed</b>	2 (0-7)	0.0179	0 (0-10)	0.4445	8.5 (2-14)	0.0926
<b>Gram-dodatnie po</b>	0 (0-0)		6 (1-12)		5 (0-7)	
<b>Gram-ujemne przed</b>	0 (0-0)	0.2733	0 (0-0)	0.1797	1 (0-23)	0.2367
<b>Gram-ujemne po</b>	0 (0-0)		0 (0-0)		0.5 (0-2)	
<b>Gram-dodatnie laseczki przed</b>	5 (1-7)	0.0506	6 (3-14)	0.2621	4 (3-8)	0.0218
<b>Gram-dodatnie laseczki po</b>	1 (0-3)		2 (2-8)		1 (1-2)	
<b>Grzyby przed</b>	12 (6-16)	0.0014	5 (4-8)	0.4412	11 (6-23)	0.0128
<b>Grzyby po</b>	0 (0-0)		6 (3-7)		4.5 (3-6)	
<b>Grzyby drożdżopodobne przed</b>	0 (0-0)	-	0 (0-0)	0.4184	0.5 (0-2)	0.2075
<b>Grzyby drożdżopodobne po</b>	0 (0-0)		0 (0-1)		0 (0-1)	
<b>Grzyby pleśniowe przed</b>	12 (6-16)	0.0014	5 (3-8)	0.7597	10 (6-21)	0.0125
<b>Grzyby pleśniowe po</b>	0 (0-0)		5 (3-7)		4 (2-6)	

**Me** – mediana, **Q1** – pierwszy kwartył, **Q3** – trzeci kwartył, **Preparat 1 (PAA/HPO)** – kwas nadctoowy stabilizowany nadtlenkiem wodoru, **Preparat 2 (DDAC/PHMB)** – preparat na bazie alkoholu, chlorku didecyldimetyloamoniowego i kompozycji aromatycznej, **Preparat 3 (DDAC/CA)** - chlorek didecyldimetyloamoniowy, 2-fenoksyetanol i aldehyd cynamonowy

Badanie działania środków dezynfekcyjnych na zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza wpływającego z układu klimatyzacji samochodowej wykazało istotną statystycznie ( $p < 0,05$ ) redukcję wszystkich testowanych grup drobnoustrojów, z wyjątkiem bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich pałeczek po zastosowaniu preparatu 1. W przypadku preparatu 2 nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic ( $p < 0,05$ ) w liczebności drobnoustrojów przed i po jego zastosowaniu. Wykorzystanie preparatu 3 istotnie statystycznie redukowało liczbę wszystkich testowanych grup drobnoustrojów, z wyjątkiem bakterii Gram-dodatnich, Gram-ujemnych i drożdży.

6.4. Porównanie skuteczności działania trzech środków w fazie gazowej wobec drobnoustrojów znajdujących się w powietrzu wpływającym z układów klimatyzacji samochodowych

**Tabela IV.** Mediana, kwartyle oraz wartość  $p$  różnic działania preparatów na powietrze wpływające z układów klimatyzacyjnych samochodów; poziom istotności statystycznej  $p < 0.05$

	PAA/HPO Me (Q1-Q3)	DDAC/PHMB Me (Q1-Q3)	DDAC/CA Me (Q1-Q3)	Analiza <i>post hoc</i>		
				$p$		
				1-2	2-3	1-3
<b>Bakterie</b>	7 (1-16)	2 (0-3)	16.5 (10-23)	0.0799	0.0005	0.2402
<b>Gram-dodatnie</b>	2 (0-7)	-1 (-8-2)	4.5 (2-8)	0.2289	0.0976	1.0000
<b>Gram-ujemne</b>	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (-1-6)	1.0000	1.0000	1.0000
<b>Gram-dodatnie laseczki</b>	0 (0-6)	2 (-2-9)	3 (2-8)	1.0000	0.857	1.0000
<b>Grzyby</b>	12 (6-16)	-1 (-3-2)	8 (1-14)	0.0000	0.0149	0.6322
<b>Drożdże</b>	0 (0-0)	0 (-1-0)	0.5 (-1-2)	0.8156	0.3991	1.0000
<b>Pleśnie</b>	12 (6-16)	-1 (-3-3)	7 (3-11)	0.0001	0.0306	0.5285

Me – mediana, Q1 – pierwszy kwartył, Q3 – trzeci kwartył, **Preparat 1 (PAA/HPO)** – kwas nadocetowy stabilizowany nadtlenkiem wodoru, **Preparat 2 (DDAC/PHMB)** – preparat na bazie alkoholu, chlorku didecyldimetyloamoniowego i kompozycji aromatycznej, **Preparat 3 (DDAC/CA)** - chlorek didecyldimetyloamoniowy, 2-fenoksyetanol i aldehyd cynamonowy

Porównanie skuteczności działania trzech preparatów wobec drobnoustrojów znajdujących się w powietrzu wypływającym z układu klimatyzacji samochodowej wykazało istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) większe działanie bójcze na bakterie preparatu 3 w porównaniu do preparatu 2. Preparat 1 i preparat 3 w porównaniu do preparatu 2 były istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) bardziej skuteczne wobec ogólnej liczby grzybów oraz grzybów pleśniowych. W pozostałych przypadkach różnice w efektywności działania trzech badanych preparatów były statystycznie nieistotne.

#### 6.5. Identyfikacja bakterii za pomocą aparatu VITEK MS

Dokonano identyfikacji bakterii za pomocą aparatu VITEK MS i wykazano, że wśród izolowanych rodzajów 30% bakterii należało do gatunków *Bacillus*, 20% - *Staphylococcus*, 10% - *Exiguobacterium*, po 5% - *Paenibacillus pabuli*, *Serratia marcescens*, *Pantoea agglomerans*, *Kocuria rosea*, *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus luteus*, *Sphingomonas paucimobilis* i niezidentyfikowane gatunki (dane nie publikowane).

## 7. Wnioski

- 1) Procedury dezynfekcji klimatyzacji samochodowej znacząco wpływają na jakość powietrza w kabinach samochodowych poprzez redukcję liczby drobnoustrojów.
- 2) W badaniach potwierdzono skuteczność działania dezynfekcyjnego w kabinach samochodowych kwasu nadoctowego stabilizowanego nadtlakiem wodoru aplikowanym za pomocą aparatu do fumigacji oraz mieszanki chlorku didecyldimetyloamoniowego, 2-fenoksyetanolu w połączeniu z aldehydem cynamonowym aplikowanym za pomocą atomizera, wykorzystywanych w obszarach medycznych.
- 3) Preparat 1 na bazie kwasu nadoctowego jest skutecznym środkiem dezynfekcyjnym, ale wymaga użycia specjalistycznych urządzeń, kwas nadoctowy ma działanie korodujące w stosunku do metalowych powierzchni i pozostawia intensywny zapach octu.
- 4) Preparat 3 na bazie chlorku didecyldimetyloamoniowego z dodatkiem aldehydu cynamonowego jest również dobrym i skutecznym środkiem dezynfekcyjnym. Do zalet tej metody należy brak potrzeby używania dodatkowych urządzeń do rozpylania preparatu oraz cynamonowy zapach pozostający po jego użyciu.
- 5) Uzyskane wyniki pozwalają na praktyczne ich wykorzystanie poprzez wprowadzenie do oferty MEDILAB Sp. z o.o nowego obszaru zastosowania preparatu 3 jakim jest dezynfekcja powietrza kabin samochodowych.



# Air Disinfection—From Medical Areas to Vehicle

Anna Bukłaha<sup>1\*</sup>, Anna Wieczorek<sup>1</sup>, Ewelina Kruszewska<sup>2</sup>, Piotr Majewski<sup>1</sup>,  
Dominika Iwaniuk<sup>1</sup>, Paweł Sacha<sup>1</sup>, Elżbieta Tryniszewska<sup>1</sup> and Piotr Wieczorek<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Microbiological Diagnostics and Infectious Immunology, Medical University of Białystok, Białystok, Poland,

<sup>2</sup> Department of Infectious Diseases and Neuroinfections, Medical University of Białystok, Białystok, Poland

## OPEN ACCESS

### Edited by:

Xinming Wang,  
Guangzhou Institute of Geochemistry  
(CAS), China

### Reviewed by:

Helene Niculita-Hirzel,  
University Center of General Medicine  
and Public Health, Switzerland  
M. Jahangir Alam,  
University of Houston, United States

### \*Correspondence:

Anna Bukłaha  
anna.bukłaha@umb.edu.pl

### Specialty section:

This article was submitted to  
Environmental Health and Exposome,  
a section of the journal  
Frontiers in Public Health

Received: 24 November 2021

Accepted: 28 January 2022

Published: 24 February 2022

### Citation:

Bukłaha A, Wieczorek A,  
Kruszewska E, Majewski P, Iwaniuk D,  
Sacha P, Tryniszewska E and  
Wieczorek P (2022) Air  
Disinfection—From Medical Areas to  
Vehicle.  
Front. Public Health 10:820816.  
doi: 10.3389/fpubh.2022.820816

Cars with air conditioning systems have become the norm, but these systems can be dangerous for human health as a result of the accumulation of different microorganisms, including pathogenic ones, causing severe allergy or inflammation problems. The novel purpose of this study is 2-fold: on the one hand, to test different disinfection agents on a new area, that is, automobile cabins, and on the other, to compare activity in the gas phase of these agents for disinfection of car air conditioning and cabin surfaces. This study shown that tested disinfectant agents dedicated for decontamination medical areas (agent based on peracetic acid and an agent containing didecyltrimethylammonium chloride, 2-phenoxyethanol with cinnamaldehyde) can be successfully used for disinfection car air conditioning and cabin surfaces. Both disinfectants were examined in comparison to a commercial “ready-to-use” spray from a local supermarket dedicated to car air conditioning disinfection. Our research found that very effective agents in this regard were acid stabilized by hydrogen peroxide applied by fumigator, and a combination of didecyltrimethylammonium chloride, 2-phenoxyethanol, and cinnamaldehyde applied by atomizer. Tested disinfection procedures of car air conditioning significantly influence the quality of cabin air and surfaces by reducing the amount of microorganisms. The comparison of disinfection properties studied agents in the gas phase reveal statistically significant differences between it effect for disinfection car air conditioning and cabin surfaces. Our research found that very effective agents in this regard were acid stabilized by hydrogen peroxide applied by fumigator, and a combination of didecyltrimethylammonium chloride, 2-phenoxyethanol, and cinnamaldehyde applied by atomizer. Tested disinfection procedures of car air conditioning significantly influence the quality of cabin air and surfaces by reducing the amount of microorganisms.

**Keywords:** car, disinfection, didecyltrimethylammonium chloride, peracetic acid (PAA), cinnamaldehyde

## INTRODUCTION

Air conditioners are equipment used in modifying air temperature inside buildings and vehicles. The present work focuses on car air conditioning systems, because air conditioning in cars has become the norm (1).

Many individuals spend significant percentages of their lives traveling inside vehicles. Vehicles are used for commuting from home to work, traveling, and pleasure and business activities. For the

average person of driving age in the developed world, the automobile has become indispensable to daily life. Furthermore, professional drivers, including taxi drivers, public transportation drivers, and truckers, spend significantly more time inside motor vehicles compared to other individuals (2). Current health research in the area of in-vehicle air has intensified, but no standards have been drawn for automobile indoor air so far.

A car cabin is a specific environment with different surfaces that accumulate a variety of microorganisms. The high humidity and dust particles in car air conditioning systems create conditions conducive to growth of harmful microorganisms (3–5). Several studies have reported that passengers are exposed to different species of microbes and fungi in these indoor environments (2, 6, 7). However, passengers' immune systems play a crucial role in the exposure risk of passengers to airborne microorganisms within air conditioned vehicles. Depending on the immune system, adverse health effects can range from simple irritations, through allergic reactions, to infectious diseases or toxic response (2, 7, 8).

As early as 1987 scientists observed a relationship between bronchial disease and bacterial or fungal proliferation by the operation of air conditioning systems. Moreover, automobile heaters and air conditioning can induce air turbulence, which would suspend microorganisms from floor mats, seat covers, and occupants' clothes, thereby elevating microbiological pollution levels. In most cases, elevated microbiological concentrations occurred between 5 and 15 min after turning on the automobile air conditioning (9, 10).

Bacteria and fungi inside cars can emit organic compounds and affect vehicle cabin air quality. Many of these compounds are not harmful to human health; however, some of them are toxic. People sometimes can verify air quality on the basis of odor in a car cabin. One of the most sensitive odor detectors is the human nose. Perceivable malodor associated with mold is caused by odorous volatile compounds. The effects of odors usually spread faster than irritation and sensitization consequences (11, 12). The human nose is capable of sensing odorous substances at very low concentration levels. Conversely, odor detection is very subjective; thus, people can perceive differently the same smells (12).

There are many ways that airborne fungi affect human health: they can produce infection in humans, they may cause allergy reactions, fungi can be toxigenic, or they may be a determinant factor in inflammatory reactions (8). However, even non-pathogenic species have the ability to act as allergens and mycotoxin producers. Inhalation exposure to mycotoxins can turn dangerous when it follows inhalation of mycotoxin-containing mold or dust particles, because mycotoxins are relatively stable and do not evaporate from the mold spore. The literature data indicate that it is unlikely that a mycotoxin dose breathed in an indoor home, office, or school environment would produce an acute toxic response, even under the models with extreme conditions (13), although sometimes mycotoxins are involved in pathogenesis (14). Once colonized by fungi, automobiles emit different odors or sensitizing products that

affect the passengers of the cars. The major factors of fungal colonization are undoubtedly airborne fungal populations and high air humidity (11).

The second group of microorganisms inside vehicles is bacteria. It has been proven that frequently touched surfaces and infrequently cleaned sites accumulate a higher concentration of biological contamination (15, 16).

Several research works have shown that bacteria in car air conditioning form biofilms that might release into the cabin air different microorganisms, including environmental strains as well as pathogens such as *Legionella*, but we have not found published studies linking cases of legionellosis with infection through the car air conditioning (17, 18). Results of biofilm formation tests by bacteria isolated from car air conditioning revealed that all bacterial species produced biofilms (19, 20). When these microorganisms enter the vehicle cabin air they can produce adverse health effects for the car users. The consequences of this effect may be nose and eye hypersensitivity, asthmatic reactions, and allergic inflammation (5). It is a public health issue that viable and non-viable microorganisms adversely affect humans in the cabin environment of automobiles (21).

Car air conditioning systems involve filter systems protecting the passengers from biological and industrial air pollution. However, filters become a source of danger to the health of vehicle users if they are not regularly exchanged in a correct way (19, 22). Car cabin filters are capable of accumulating contaminants, including pollen, fungi, and microbial fragments, such as proteins (23).

To prevent the negative effects of air conditioning through the emission of microorganisms into the vehicle cabin, disinfection may be performed in different ways. Disinfection is a procedure that relies on killing infectious agents on a surface by direct exposure to chemical or physical agents. For example, fumigation decontamination is advantageous for disinfecting the inside of buildings because fumigation agents are easily dispersed, diffuse into difficult to access areas, decontaminate air and surfaces, and are less labor intensive than spray-based products (24). Fumigant consists of high particle densities of small droplets larger than 1  $\mu\text{m}$  suspended in air (25). Fumigation is so effective that sterilization with fogging application is implemented in the food and pharmaceutical industries, at health care facilities, and other large-area decontamination sites (25, 26).

Fogging technology has the advantage over liquid forms of disinfectants in that the fogging particle size allows the use of lower amounts of disinfectant to be effective (25).

The aim of this study was to estimate the level of microorganism contamination before and after disinfection of car air conditioning systems and cabin surfaces by three different disinfectant agents. The evaluation is based on qualitative and quantitative analysis of microorganisms (bacteria and fungi) isolated from the air and surface samples.

## EXPERIMENTAL PROCEDURES

### Vehicle Characteristics

Thirty four air conditioned private vehicles were recruited and tested in our study. Vehicles were randomly selected and studied

during the period of 2018 to 2020 in Białystok (Poland). Cars were tested in the summer period. Air conditioning systems were turned on during the air measurements. Before cabin air testing samples were taken from such cabin surfaces as the dashboard, driver's seat, driver's door, and flooring behind the driver.

## Disinfection Process Characteristics

Three types of air disinfectants were studied in this research. All disinfectants are registered with the Office for Registration of Medicinal Products, Medical Devices, and Biocidal Products.

1. PAA/HPO–Peracetic acid stabilized by hydrogen peroxide, applied with Aerosept fumigator produced by Laboratoires Anios (France). This method is normally used for the last stage of decontamination in hospitals. The product has a smell similar to vinegar. The disinfection taken place in such a way that a peracetic acid stabilized by hydrogen peroxide in the amount of 350 mL was fumigated by Airborne disinfection device in the closed car cabin.
2. DDAC/PHMB–Commercial “ready-to-use” 200 mL spray from a local supermarket based on alcohol, didecyl dimethylammonium chloride, polyheksametylenebiguanide and aromatic composition intended for domestic car air conditioning disinfection. The spray smells very intense and it leaves a fresh scent. In accordance with the directions for use, the container was placed on the floor behind the driver's seat, the agent was sprayed for about 3 min. with a closed car cabin.
3. DDAC/CA–Didecyl dimethylammonium chloride, 2-phenoxyethanol, and cinnamaldehyde applied with an atomizer. This agent is dedicated for maintenance-free surfaces and medical equipment disinfection. The product has a smell similar to cinnamon. The disinfection process took place as follows: 50 mL pack with disinfectant was applied by a one-time-use disinfection device in the closed car cabin, like as DDAC/PHMB.

The cars remained closed with the switched air conditioning (20 min for PAA/HPO and DDAC/CA and 15 min for DDAC/PHMB) at the medium level of air circulation speed in closed mode (3rd or 4th level of fan speed). After the disinfection process the cabins were opened and aired for 30 min.

## Sampling Procedure

Air and surface sampling were conducted before and after disinfection. Bacteria and fungi were sampled from a 25 cm<sup>2</sup> surface with Rodac contact plates (Oxoid, UK). A plate was pressed to the different surfaces using the Count-Tact Applicator (bioMérieux, France) for 10 s.

The total numbers colony forming units (CFU) of bacteria and fungi were determined by sampling the air with a MAS at 100 l/min for 10 min directly on plates with specific bacterial/fungal medium. The air conditioning system in each car was running at a temperature of 20°C, at average fan speed, and with cabin air recirculating through the air conditioning system.

Air samples were taken in the same way before and after the disinfection process.

## Equipment for Sampling

The CFU of bacteria and fungi on the surfaces were tacked with Count-Tact Applicator (pressure 500 g, 10 s). Rodac contact plates were used for investigation of surface microbial pollution on the surface of 25 cm<sup>2</sup>. The plates contained trypticase soy agar (TSA) for bacteria (Oxoid, UK) and Sabouraud agar (Oxoid, UK) for fungi.

Air samples were taken using Microbial Air Monitoring System MAS-100 (Merck, Germany) based on impaction systems, with sampling times of 10 min equivalent to circulation of 1 m<sup>3</sup> of air. Standard Petri dishes were used for growing microorganisms: with blood agar (COS-Columbia Agar + 5% sheep blood, bioMérieux, France) for bacteria and Sabouraud agar (Oxoid, UK) for fungi. During the experiment, the MAS-100 was placed in the middle of seats in such a way that air flowing from the air conditioning system was directed at the MAS-100 head and Petri dishes, with all doors and windows closed.

## Sample Analysis

Airborne bacterial CFU/m<sup>3</sup> were determined with blood agar and fungi CFU/m<sup>3</sup> with Sabouraud agar; surface bacterial CFU/25 cm<sup>2</sup> were determined with TSA and Sabouraud agar. After aerobic incubation at 35°C for 24–48 h for bacteria and at 30°C for 48–72 h for fungi, the bacterial and fungi colony units on the agar plates were counted. Bacteria were identified by Gram staining (Aqua-med, Poland; denatured alcohol, Hipernet Sp. z o.o., Poland). The number of colony forming units (cfu) was adjusted using Feller's conversion table, and expressed in CFU/m<sup>3</sup> for air samples.

## Statistical Analysis

Non-parametric statistics were used for hypothesis testing. Kruskal-Wallis one-way analysis of variance and *post hoc* test were used for comparing the three disinfection techniques.

The Wilcoxon signed-rank test was used for comparison of the microbiological pollution of in-cabin air and surfaces before disinfection and after disinfection. Statistical analyses were performed with the STATISTICA software package, version 13.3 (StatSoftPolska Sp. z o.o., Poland). A *p*-value <0.05 was considered as the level of significance. Results are expressed as median, first (lower) quartile, and third (upper) quartile.

## RESULTS

Comparison of the Biocidal Effect on Air and Surface Samples in the Car Cabin Before and After Application of Three Agents by Different Techniques.

1. In vehicle air: PAA/HPO showed a statistically significant reduction all examined groups of microorganisms, except for Gram-negative bacteria and Gram-positive Rod. In the case of DDAC/PHMB, we did not observe significant statistical differences in the amounts of microorganisms before and after its application. DDAC/CA statistically significantly reduced

**TABLE 1** | Median, quartiles and *p*-value of microorganism numbers in vehicle air before and after application of disinfectants (CFU/m<sup>3</sup>), level of statistical significance *p* < 0.05.

	PAA/HPO		DDAC/PHMB		DDAC/CA	
	Me (Q1–Q3)	<i>p</i> -value	Me (Q1–Q3)	<i>p</i> -value	Me (Q1–Q3)	<i>p</i> -value
Bacteria before	7 (5–19)	0.0033	13 (10–22)	0.0665	21 (15–35)	0.005
Bacteria after	1 (0–2)		11 (8–16)		6 (4–8)	
Gram-positive before	2 (0–7)	0.0179	0 (0–10)	0.4445	8.5 (2–14)	0.0926
Gram-positive after	0 (0–0)		6 (1–12)		5 (0–7)	
Gram-negative before	0 (0–0)	0.2733	0 (0–0)	0.1797	1 (0–23)	0.2367
Gram-negative after	0 (0–0)		0 (0–0)		0.5 (0–2)	
Gram-positive rod-shaped before	5 (1–7)	0.0506	6 (3–14)	0.2621	4 (3–8)	0.0218
Gram-positive rod-shaped after	1 (0–3)		2 (2–8)		1 (1–2)	
Fungi before	12 (6–16)	0.0014	5 (4–8)	0.4412	11 (6–23)	0.0128
Fungi after	0 (0–0)		6 (3–7)		4.5 (3–6)	
Yeasts before	0 (0–0)	–	0 (0–0)	0.4184	0.5 (0–2)	0.2075
Yeasts after	0 (0–0)		0 (0–1)		0 (0–1)	
Molds before	12 (6–16)	0.0014	5 (3–8)	0.7597	10 (6–21)	0.0125
Molds after	0 (0–0)		5 (3–7)		4 (2–6)	

Me, median; Q1, first quartile; Q3, third quartile; PAA/HPO, peracetic acid stabilized by hydrogen peroxide; DDAC/PHMB, didecyltrimethylammonium chloride, polyhexamethylene biguanide, and aromatic composition; DDAC/CA, didecyltrimethylammonium chloride, 2-phenoxyethanol, and cinnamaldehyde.

**TABLE 2** | Median, quartiles and *p*-value of number of microorganisms on vehicle surfaces before and after application of disinfectants (CFU/25 cm<sup>2</sup>), level of statistical significance *p* < 0.05.

	PAA/HPO		DDAC/PHMB		DDAC/CA	
	Me (Q1–Q3)	<i>p</i> -value	Me (Q1–Q3)	<i>p</i> -value	Me (Q1–Q3)	<i>p</i> -value
Dashboard bacteria before	26 (18–44)	0.0029	15 (12–45)	0.5048	36 (25–58)	0.0069
Dashboard bacteria after	1 (0–2)		25 (11–40)		13.5 (10–30)	
Dashboard fungi before	17 (4–52)	0.0022	4 (3–11)	0.0178	33 (14–49)	0.0243
Dashboard fungi after	0 (0–0)		1 (1–3)		15.5 (8–40)	
Seats bacteria before	54 (34–62)	0.0014	22 (13–54)	0.328	30.5 (15–53)	0.0366
Seats bacteria after	5 (2–13)		21 (15–43)		22.5 (11–30)	
Seats fungi before	7 (0–10)	0.0144	2 (2–4)	0.1141	6 (3–10)	0.6464
Seats fungi after	0 (0–1)		1 (1–1)		4 (3–8)	
Doors bacteria before	42 (28–51)	0.0014	33 (18–53)	0.328	65.5 (18–92)	0.0093
Doors bacteria after	2 (0–6)		35 (20–41)		27.5 (20–76)	
Doors fungi before	22 (7–33)	0.0014	4 (1–5)	0.0166	6.5 (4–37)	0.0414
Doors fungi after	0 (0–0)		3 (0–4)		6 (2–12)	
Floors bacteria before	51 (35–87)	0.0014	29 (16–78)	1	84.5 (58–112)	0.005
Floors bacteria after	7 (1–17)		27 (18–78)		48 (40–80)	
Floors fungi before	36 (10–48)	0.0018	8 (3–23)	0.2863	30 (17–48)	0.0125
Floors fungi after	0 (0–1)		6 (4–13)		15.5 (11–29)	

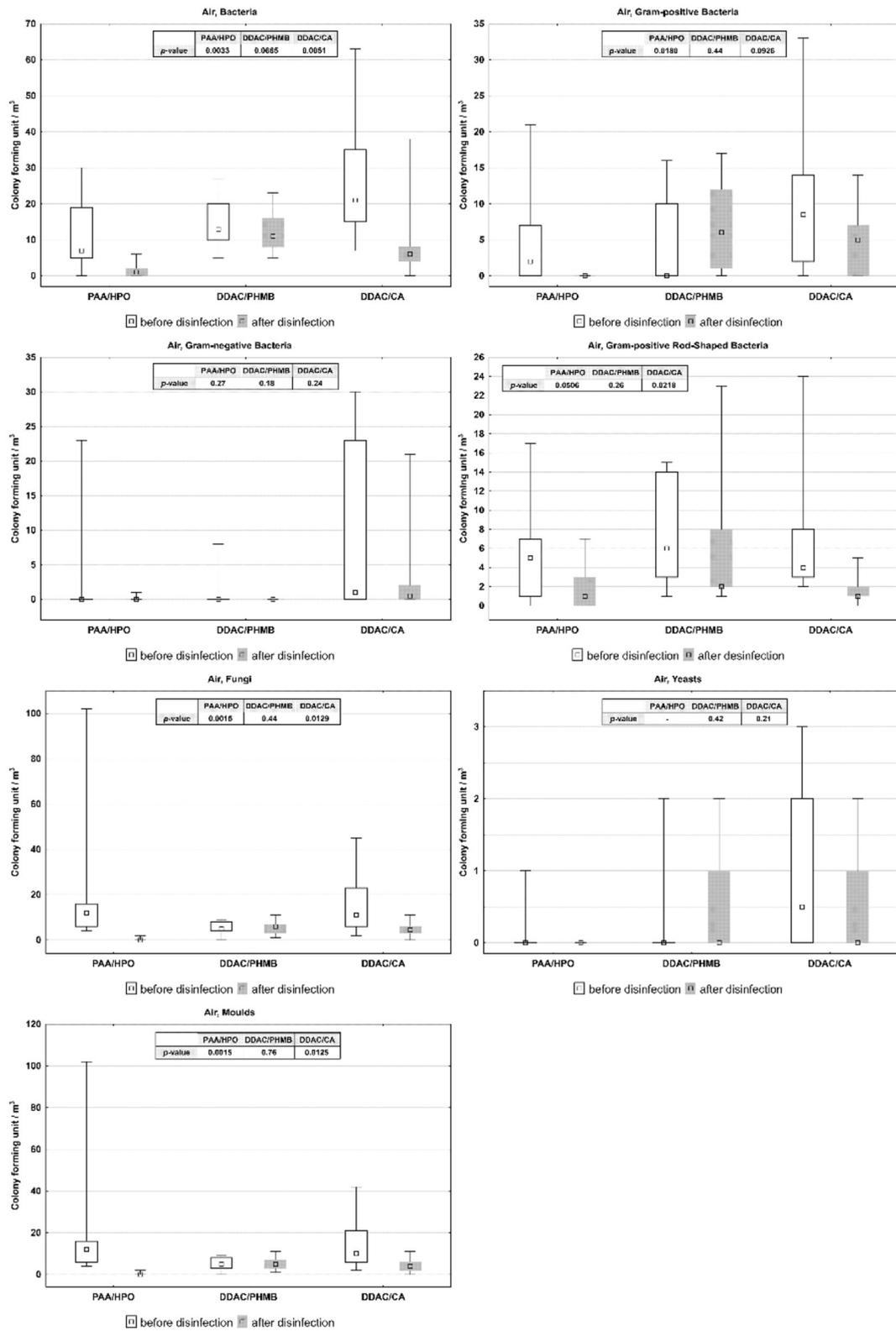
Me, median; Q1, first quartile; Q3, third quartile; PAA/HPO, peracetic acid stabilized by hydrogen peroxide; DDAC/PHMB, didecyltrimethylammonium chloride, polyhexamethylene biguanide, and aromatic composition; DDAC/CA, didecyltrimethylammonium chloride, 2-phenoxyethanol, and cinnamaldehyde.

the number of microorganisms, except for Gram-negative bacteria and Yeasts.

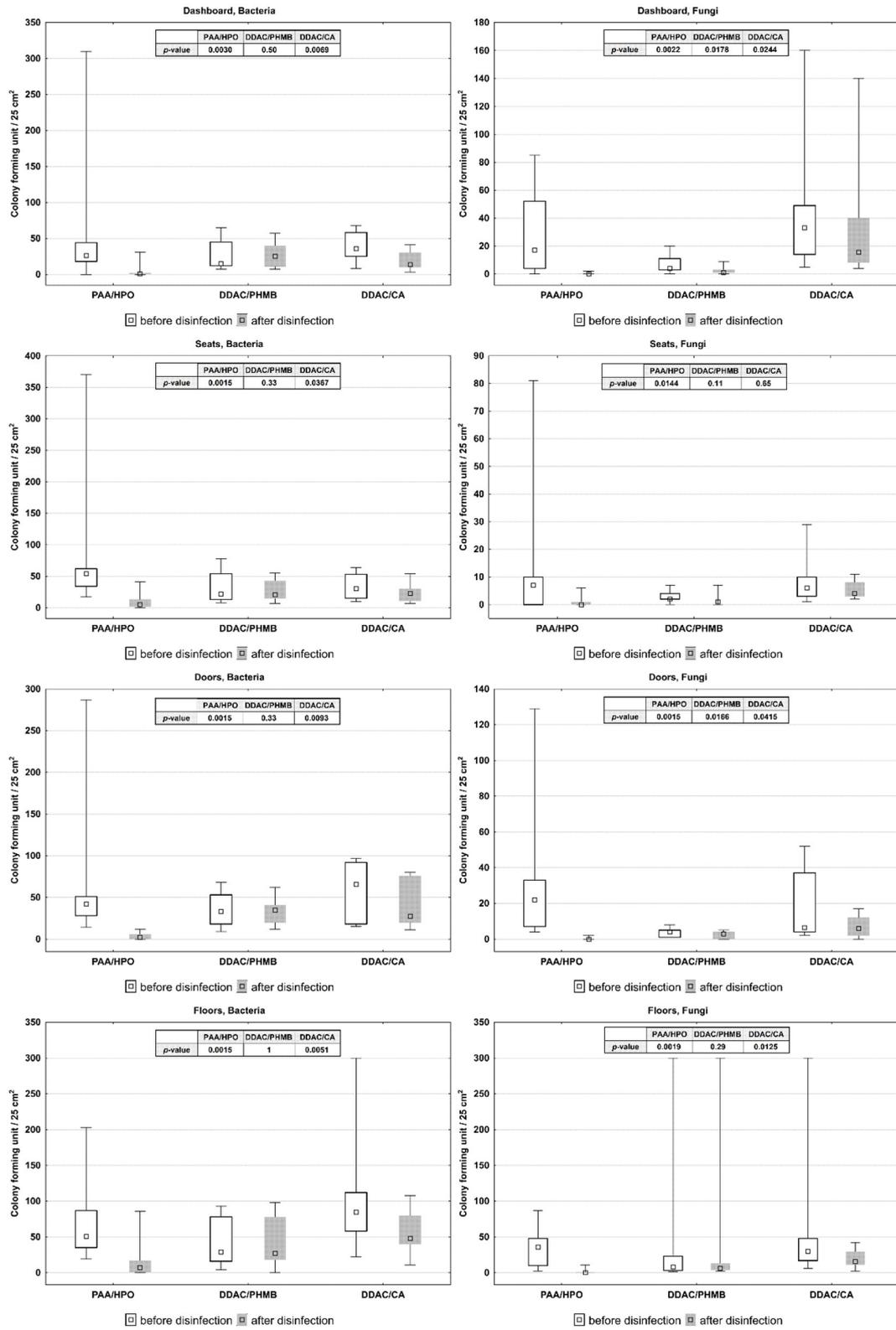
2. Cabin surfaces: after applying PAA/HPO on all examined surfaces, we observed a statistically significant reduction of microorganisms. After the application of DDAC/PHMB, statistically significant differences were noted only in the case of Fungi on the dashboard and on the door. After applying

DDAC/CA on all tested surfaces, except seats, we observed statistically significant differences.

The summary of results obtained during studies on air quality before and after application of agents by different techniques in the cabin of vehicles is presented in **Table 1** (for air) and **Table 2** (for surfaces).



**FIGURE 1** | CFU of microorganisms in vehicle air before and after application of disinfectants.



**FIGURE 2 |** CFU of microorganisms on vehicle surfaces before and after application of disinfectants.

**TABLE 3** | Median, quartiles and *p*-value of differences among disinfectants affecting the air (CFU/m<sup>3</sup>), level of statistical significance *p* < 0.05.

	Air					
	PAA/HPO Me (Q1–Q3)	DDAC/PHMB Me (Q1–Q3)	DDAC/CA Me (Q1–Q3)	post hoc		
				p-value		
			1-2	2-3	1-3	
Bacteria	7 (1–16)	2 (0–3)	16.5 (10–23)	0.0799	0.0005	0.2402
Gram-positive	2 (0–7)	–1 (–8 to 2)	4.5 (2–8)	0.2289	0.0976	1
Gram-negative	0 (0–0)	0 (0–0)	0 (–1 to 6)	1	1	1
Gram-positive rod-Shaped	0 (0–6)	2 (–2 to 9)	3 (2–8)	1	0.857	1
Fungi	12 (6–16)	–1 (–3 to 2)	8 (1–14)	0	0.0149	0.6322
Yeast	0 (0–0)	0 (–1 to 0)	0.5 (–1 to 2)	0.8156	0.3991	1
Molds	12 (6–16)	–1 (–3 to 3)	7 (3–11)	0.0001	0.0306	0.5285

Me, median; Q1, first quartile; Q3, third quartile; PAA/HPO, peracetic acid stabilized by hydrogen peroxide; DDAC/PHMB, didecyldimethylammonium chloride, polyheksamethylene biguanide, and aromatic composition; DDAC/CA, didecyldimethylammonium chloride, 2-phenoxyethanol, and cinnamaldehyde.

**TABLE 4** | Median, quartiles and *p*-value of differences among disinfectants affecting surfaces (CFU/25 cm<sup>2</sup>), level of statistical significance *p* < 0.05.

	Surfaces					
	PAA/HPO Me (Q1–Q3)	DDAC/PHMB Me (Q1–Q3)	DDAC/CA Me (Q1–Q3)	post hoc		
				p-value		
			1-2	2-3	1-3	
Dashboard bacteria	22 (16–43)	3 (–3 to 7)	18.5 (9–28)	0.0026	0.0171	1
Dashboard fungi	16 (4–52)	3 (0–4)	7.5 (1–20)	0.031	0.7234	0.6016
Seats bacteria	45 (27–56)	2 (–6 to 11)	8 (3–27)	0.0001	0.8928	0.0118
Seats fungi	7 (0–8)	1 (0–2)	0 (–2 to 5)	0.4849	1	0.314
Doors bacteria	41 (26–47)	6 (–3 to 18)	16.5 (4–31)	0.0005	0.5705	0.0686
Doors fungi	22 (7–33)	1 (1–2)	3 (2–25)	0.0001	0.2623	0.073
Floors bacteria	50 (25–76)	4 (–10 to 9)	29 (18–41)	0.0001	0.0091	1
Floors fungi	36 (9–47)	0 (–2 to 6)	6 (2–31)	0.0017	0.2319	0.3843

Me, median; Q1, first quartile; Q3, third quartile; PAA/HPO, peracetic acid stabilized by hydrogen peroxide; DDAC/PHMB, didecyldimethylammonium chloride, polyheksamethylene biguanide, and aromatic composition; DDAC/CA, didecyldimethylammonium chloride, 2-phenoxyethanol, and cinnamaldehyde.

Obtained data were evaluated using graphical method, box-plots showing the results of the Wilcoxon test in **Figure 1** (for air) and **Figure 2** (for surfaces).

The Comparison of Three Disinfection Technics and Their Effects on Air and Surface Samples in Car Cabin.

1. The comparison of the effectiveness of three disinfection technics on air from car cabins reveal statistically significant differences between the effects of agents DDAC/PHMB - DDAC/CA on bacteria and agents PAA/HPO - DDAC/PHMB and DDAC/PHMB - DDAC/CA on fungi. In other cases the differences in the effects of the three disinfecting agents were statistically insignificant.
2. The comparison of the effectiveness of three disinfection technics on surfaces show statistically significant differences between the effects of agents PAA/HPO - DDAC/PHMB on all microorganisms on surfaces, except Fungi on seats; statistically significant differences between the effects of agents DDAC/PHMB - DDAC/CA on dashboard

Bacteria and floors Bacteria and PAA/HPO - DDAC/CA on seats Bacteria. In other cases the differences were statistically insignificant.

Using the Kruskal-Wallis test, the disinfection effects of three agents on the air from air conditioning systems and on in-cabin surfaces were compared. The effects of three disinfectants on vehicle air and surfaces are shown in **Table 3** (for air) and **Table 4** (for surfaces).

It was found that the data were non-normally distributed, so the Kruskal-Wallis test was used to determine whether there was a significant difference among the effects of the three agents. Significant differences suggested only that at least one group differed from the other groups. Therefore, *post hoc* tests were performed to determine which groups differed from one another.

Obtained data were evaluated using graphical method, box-plots showing the results of the Kruskal-Wallis test in **Figure 3** (for air) and **Figure 4** (for surfaces).

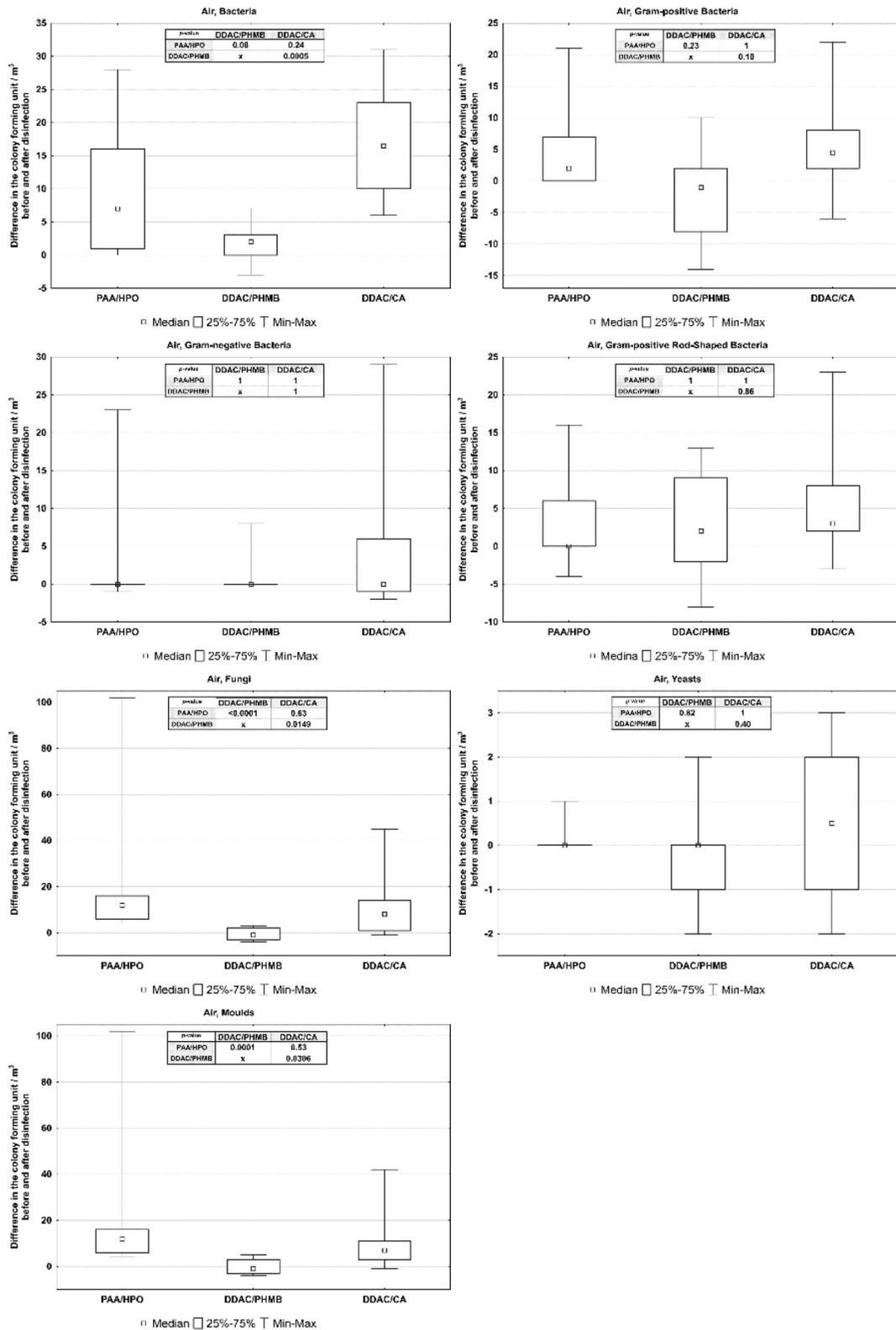
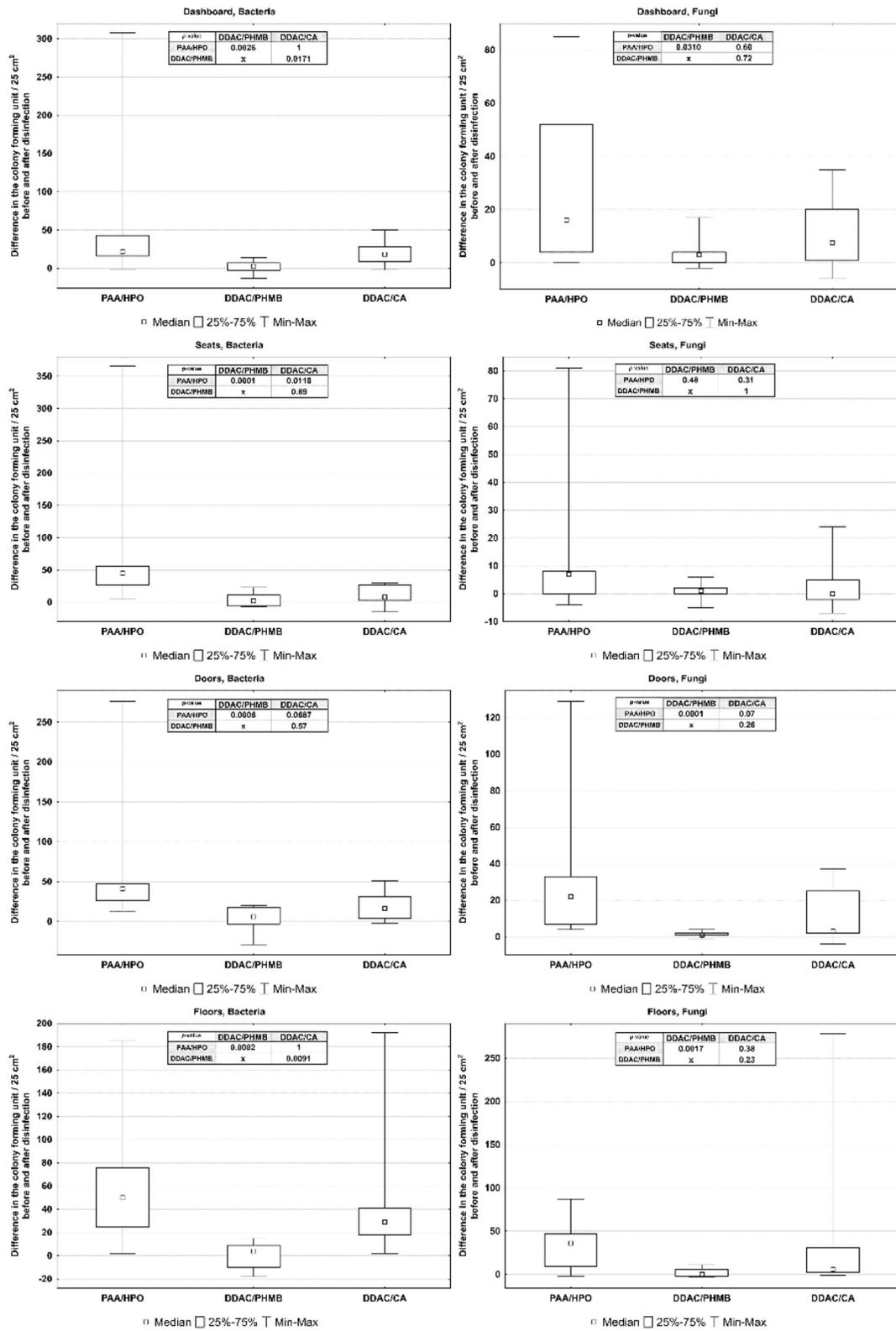


FIGURE 3 | Differences among disinfectants affecting air disinfection.



**FIGURE 4 |** Differences among disinfectants affecting surface disinfection.

## DISCUSSION

The effectiveness of PAA/HPO is demonstrated by the synergistic activity of peracetic acid in combination with hydrogen peroxide. Reports in the literature indicate that the combination of peracetic acid and hydrogen peroxide acts synergistically in comparison to using either agent alone, improving their bactericidal and sporicidal activities (27, 28). The effectiveness of peracetic acid and hydrogen peroxide when used separately is profoundly different, although the substances share mechanisms of action consisting of chemical oxidation of cellular components (29, 30). The advantage of PAA/HPO is its high effectiveness and eco-friendly properties, because its decomposition products are water, oxygen, and carbon dioxide. However, it can be aggressive for metal equipment parts, causing corrosion and leaving an intense vinegar smell after disinfection.

DDAC/PHMB produces a didecyldimethylammonium chloride effect, because this compound is a membrane-active agent resulting in disinfectant properties (31). Literature data have shown that didecyldimethylammonium chloride-based disinfectants produced significant activity against Gram-positive bacteria and were ineffective against Gram-negative strains. Due to its antimicrobial effect and its low irritation, corrosiveness, and toxicity, didecyldimethylammonium chloride is used in healthcare, veterinary, and food facilities (32). However, our research showed no statistical significance differences between the number of bacteria and fungi before and after air and surface disinfection. Our results suggested an ineffectiveness by DDAC/PHMB application on the studied microorganisms in-vehicle.

The disinfection properties of DDAC/CA are the result of the combination of didecyldimethylammonium chloride and cinnamaldehyde. The cinnamaldehyde component is characterized by anti-inflammatory, antioxidant, and antimicrobial properties (33). Cinnamaldehyde can be used in air care products, perfumes, waxes, washing and cleaning products, cosmetics, personal care and household products, pharmaceuticals, and biocides. A higher reduction of microorganisms was observed when biocide containing a combination of didecyldimethylammonium chloride with cinnamaldehyde in comparison with didecyldimethylammonium chloride alone was used. This synergistic effect between a biocidal product and cinnamaldehyde was previously known to scientists (34).

The low level of disinfection observed on seats could be caused by the soft surface of the seats, which reduces the disinfecting effect, because many small holes and gaps in the material allow pathogens to hide.

The use of a combination of disinfectant and cinnamaldehyde with didecyldimethylammonium chloride to improve efficiency in air and surface disinfection in-vehicle is also approved for food use, as it is harmless for humans in addition to leaving a pleasant cinnamon flavour. It was noted for the vehicles that received fragrance in our study that disinfectant with cinnamaldehyde reduced bad odours. An additional advantage of using a biocide in combination with phytochemical is reducing

the concentration of synthetic disinfectants and its negative environmental and public health impacts (34).

## CONCLUSIONS

Our study presented evidence that disinfection of car environments is very important for users to prevent the health risks associated with using air conditioning systems. Neglect or over-used car air conditioning can result in dust and microorganism accumulations. For this reason, vehicle users are exposed to different harmful species. Disinfection procedures of car air conditioning significantly influence the quality of cabin air and surfaces by reducing the amount of microorganisms. Our research found that very effective agents in this regard were acid stabilized by hydrogen peroxide applied by fumigator, and a combination of didecyldimethylammonium chloride, 2-phenoxyethanol, and cinnamaldehyde applied by atomizer. PAA/HPO it is an effective disinfectant but requires the use of a specialized device, peracetic acid is aggressive toward metal surfaces and leaves intense vinegar smell. On the other hand, the DDAC/CA is also effective, does not require any additional device and leaves a pleasant cinnamon scent.

With frequent use of car air conditioning, it is important to practice regular maintenance; otherwise, car drivers and passengers may be exposed to the unhealthy influence of microorganisms, which is especially dangerous in the context of COVID-19 pandemic.

## DATA AVAILABILITY STATEMENT

The original contributions presented in the study are included in the article/supplementary material, further inquiries can be directed to the corresponding author/s.

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

AB: research concept and design, collection of data, data analysis and interpretation, and writing the article. AW and EK: collection of data and data analysis. PM: data analysis and interpretation. DI: collection of data. PS and ET: critical revision of the article. PW: research concept and design and final approval of article. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

## FUNDING

This work was supported by the Project entitled National intersectoral doctoral studies at the Medical University of Bialystok (POWR.03.02.00-00-I050/16) co-funded from European Union funds within the framework of European Social Fund as part of Knowledge Education Development 2014-2020 Operational Programme, through the grant no 01/MSD/2019.

## ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to Steven Snodgrass for editorial assistance.

## REFERENCES

- Barnes NM, Ng TW, Ma KK, Lai KM. In-cabin air quality during driving and engine idling in air-conditioned private vehicles in Hong Kong. *Int J Environ Res and Public Health*. (2018) 15:611. doi: 10.3390/ijerph15040611
- Gołofit-Szymczak M, Stobnicka-Kupiec A, Górny RL. Impact of air-conditioning system disinfection on microbial contamination of passenger cars. *Air Qual Atmos Health*. (2019) 12:1127–35. doi: 10.1007/s11869-019-00731-7
- Grzybowski P. Ocena i kontrola czystości mikrobiologicznej powietrza w samochodowych układach klimatyzacyjnych. *Inz Ap Chem*. (2011) 50:34–5.
- Anas G, Aligbe DS, Suleiman G, Warodi FA. Studies on microorganisms associated with air-conditioned environments. *J Env Sci*. (2016) 10:16–8. doi: 10.9790/2402-1007011618
- Gołofit-Szymczak M, Górny RL, Ławniczek-Wałczyk A, Stobnicka A, Cyprowski M, Bakal A. Automobile air-conditioning systems as a source of microbial contaminants. *Ecol Safety*. (2017) 11:165–72.
- Lee J-H, Jo W-K. Exposure to airborne fungi and bacteria while commuting in passenger cars and public buses. *Atmosph Environ*. (2005) 39:7342–50. doi: 10.1016/j.atmosenv.2005.09.013
- Gołofit-Szymczak M, Stobnicka-Kupiec A, Górny RL, Cyprowski M, Ławniczek-Wałczyk A. Microbial air quality in municipal buses before and after disinfection of their air-conditioning systems. *J Ecol Eng*. (2019) 20:189–94. doi: 10.12911/22998993/113408
- Udaya Prakash NK, Bhuvanewari S, Ranjith Kumar M, Lankesh S, Rupesh K. A study on the prevalence of indoor mycoflora in air conditioned buses. *Br Microb Res J*. (2013) 4:282–92. doi: 10.9734/BMRJ/2014/5380
- Jo W-K, Lee J-H. Airborne fungal and bacterial levels associated with the use of automobile air conditioners or heaters, room air conditioners, and humidifiers. *Arch Environ Occup Health*. (2008) 63:101–7. doi: 10.3200/AEOH.63.3.101-107
- Li J, Li M, Shen F, Zou Z, Yao M, Wu C. Characterization of biological aerosol exposure risks from automobile air conditioning system. *Environ Sci Technol*. (2013) 47:10660–6. doi: 10.1021/es402848d
- Simmons RB, Noble JA, Rose L, Price DL, Crow SA, Aheam DG. Fungal colonization of automobile air conditioning systems. *J Industr Microbiol Biotechnol*. (1997) 19:150–3. doi: 10.1038/sj.jim.2900451
- Faber J, Brodzik K. Air quality inside passenger cars. *AIMS Environ Sci*. (2017) 4:112–33. doi: 10.3934/envirosci.2017.1.112
- Kelman BJ, Robbins CA, Swenson LJ, Hardin BD. Risk from inhaled mycotoxins in indoor office and residential environments. *Int J Toxicol*. (2003) 23:3–10. doi: 10.1080/10915810490265423
- Fischer D, Dott W. Relevance of airborne fungi and their secondary metabolites for environmental, occupational and indoor hygiene. *Arch Microbiol*. (2003) 179:75–82. doi: 10.1007/s00203-002-0495-2
- Otter JA, French GL. Bacterial contamination on touch surfaces in the public transport system and in public areas of a hospital in London. *Lett Appl Microbiol*. (2009) 49:803–5. doi: 10.1111/j.1472-765X.2009.02728.x
- Stephenson RE, Gutierrez D, Peters C, Nichols M, Boles BR. Elucidation of bacteria found in car interiors and strategies to reduce the presence of potential pathogens. *Biofouling*. (2014) 30:337–46. doi: 10.1080/08927014.2013.873418
- Gołofit-Szymczak M, Stobnicka-Kupiec A. Mikrobiologiczna jakość powietrza w klimatyzowanych samochodach osobowych. *Ann Set Environ Protect*. (2018) 20:1564–82.
- Sattar SA, Wright KE, Zargar B, Rubino JR, Khalid Ijaz M. Airborne infectious agents and other pollutants in automobiles for domestic use: potential health impacts and approaches to risk mitigation. *J Environ Public Health*. (2016) 2016:2–12. doi: 10.1155/2016/1548326
- Vonberg R-P, Gastmeier P, Kenneweg B, Holdack-Janssen H, Sohr D, Chaberny IF. The microbiological quality of air improves when using air conditioning systems in cars. *BMC Infect Dis*. (2010) 10:146. doi: 10.1186/1471-2334-10-146
- Rahman S. Detection of bacterial population in air conditioner and determine the ability to produce biofilm. *Iraqi J Sci*. (2019) 60:432–7. doi: 10.24996/ijss.2019.60.3
- Sowiak M, Kozajda A, Jezak K, Szadkowska-Stanczyk I. Does the air conditioning system in buses spread allergic fungi into driver space? *Environ Sci Poll Res*. (2017) 25:5013–23. doi: 10.1007/s11356-017-0830-4
- Fiegel J, Clarke R, Edwards D. Airborne infectious disease and the suppression of pulmonary bioaerosols. *Drug Discov Today*. (2016) 11:51–7. doi: 10.1016/S1359-6446(05)03687-1
- Hurley KV, Wharton L, Wheeler MJ, Skjoth CA, Niles C, Hanson MC. Car cabin filters as sampling devices to study bioaerosols using eDNA and microbiological methods. *Aerobiologia*. (2019) 35:215–25. doi: 10.1007/s10453-018-09554-y
- Meyer KM, Calfee MW, Wood JP, Mickelsen L, Attwood B, Clayton M, et al. Fumigation of a laboratory-scale HVAC system with hydrogen peroxide for decontamination following a biological contamination incident. *J Appl Microbiol*. (2013) 116:533–41. doi: 10.1111/jam.12404
- Hayrapetyan H, Nederhoff L, Vollebregt M, Mastwijk H, Groot MN. Inactivation kinetics of *Geobacillus stearothermophilus* spores by a peracetic acid or hydrogen peroxide fog in comparison to the liquid form. *Int J Food Microbiol*. (2020) 316:1–9. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108418
- Richter WR, Wood JP, Wendling MQS, Rogers JV. Inactivation of *Bacillus anthracis* spores to decontaminate subway railcar and related materials via the fogging of peracetic acid and hydrogen peroxide sporicidal liquids. *J Environ Manage*. (2018) 206:800–6. doi: 10.1016/j.jenvman.2017.11.027
- Boyce JM. Modern technologies for improving cleaning and disinfection of environmental surfaces in hospitals. *Antimicrob Resist Infect Control*. (2016) 5:1–10. doi: 10.1186/s13756-016-0111-x
- Leggett MJ, Schwarz S, Burke PA, McDonnell G, Denyer SP, Maillard J-Y. Mechanism of sporicidal activity for the synergistic combination of peracetic acid and hydrogen peroxide. *Appl Environ Microbiol*. (2016) 82:1035–9. doi: 10.1128/AEM.03010-15
- Finnegan M, Linley E, Denyer SP, McDonnell G, Simons C, Maillard J-Y. Mode of action of hydrogen peroxide and other oxidizing agents: differences between liquid and gas forms. *J Antimicrob Chemother*. (2010) 65:2108–15. doi: 10.1093/jac/dkq308
- Korany AM, Hua Z, Green T, Hanrahan I, El-Shinawy SH, El-kholy A, et al. Efficacy of ozonated water, chlorine, chlorine dioxide, quaternary ammonium compounds and peroxyacetic acid against *Listeria monocytogenes* biofilm on polystyrene surfaces. *Front Microbiol*. (2018) 9:2296. doi: 10.3389/fmicb.2018.02296
- Ioannou CJ, Hanlon GW, Danyer SP. Action of disinfectant quaternary ammonium compounds against *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. (2007) 51:296–306. doi: 10.1128/AAC.00375-06
- Montagna MT, Triggiano F, Barbuti G, Bartolomeo N, Giglio O, Diella G, et al. Study on the in vitro activity of five disinfectants against nosocomial bacteria. *Int J Environ Res Public Health*. (2019) 16:1–9. doi: 10.3390/ijerph1611895
- Fabra MJ, Castro-Mayorga JL, Randazzo W, Lagarón JM, López-Rubio A, Aznar R, et al. Efficacy of cinnamaldehyde against enteric viruses and activity after incorporation into biodegradable multilayer systems of interest in food packing. *Food Environ Virol*. (2016) 8:125–32. doi: 10.1007/s12560-016-9235-7
- Malheiro JF, Oliveira K, Cagide F, Borges F, Simoes M, Maillard J-Y. Surface wiping test to study biocide-cinnamaldehyde combination to improve efficiency in surface disinfection. *Int J Mol Sci*. (2020) 21:1–14. doi: 10.3390/ijms21217852

**Conflict of Interest:** The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

**Publisher's Note:** All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Copyright © 2022 Buklaha, Wiczorek, Kruszewska, Majewski, Iwaniuk, Sacha, Tryniszewska and Wiczorek. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.



# New trends in application of the fumigation method in medical and non-medical fields

Anna Bukłaha<sup>1,A-E</sup>, Anna Wieczorek<sup>1,B</sup>, Piotr Majewski<sup>1,C</sup>, Dominika Iwaniuk<sup>1,B</sup>,  
Paweł Sacha<sup>1,E</sup>, Elżbieta Tryniszewska<sup>1,E</sup>, Piotr Wieczorek<sup>1,F</sup>

<sup>1</sup> Medical University, Białystok, Poland

A – Research concept and design, B – Collection and/or assembly of data, C – Data analysis and interpretation, D – Writing the article, E – Critical revision of the article, F – Final approval of the article

Bukłaha A, Wieczorek A, Majewski P, Iwaniuk D, Sacha P, Tryniszewska E, Wieczorek P. New trends in application of the fumigation method in medical and non-medical fields. *Ann Agric Environ Med*. doi: 10.26444/aaem/144136

## Abstract

**Introduction.** In the twentieth century, fumigation became a very popular method of disinfection, although in the same century many agents used as fumigants were withdrawn for ecological reasons. Fogging (fumigation) is a relatively new disinfection technology using dry fog, which behaves more like a gas and easily fills the sanitized space, reaching all surfaces in the room. The undoubted advantage of fumigation is the possibility of disinfecting difficult to clean areas. Fumigation has become particularly important in the twenty-first century due to procedures related to combating and preventing the spread of the coronavirus that causes COVID-19.

**Objective.** The aim of this review article is to summarize the current state of knowledge in the field of fumigation on the basis of past results of original research, taking into account new trends and possibilities of its application.

**Brief description of the state of knowledge.** Due to the fact that fumigation is safe for apparatus, equipment, and electronics, while simultaneously enabling the highest possible bactericidal and virucidal levels, this method is widely used in various areas, both medical and non-medical. Fogging technology is used in the medical, pharmaceutical, and food industries, as well as in transportation, for air fumigation or surface disinfection in closed spaces, such as hospital and laboratory rooms, incubators, refrigerators, ships, trucks, railway containers, and aircraft, to name only a few. The most common fumigants are hydrogen peroxide and peracetic acid, and their mechanism of action is related to their oxidizing properties.

**Summary.** Hydrogen peroxide and peracetic acid are highly effective and non-toxic fumigants that can be safely used for fogging laboratory and medical equipment, pharmaceutical facilities, hospital rooms, and animal breeding rooms.

## Key words

hydrogen peroxide, peracetic acid, fogging, fumigation, Formaldehyde

## INTRODUCTION

In the twentieth century in this century, as well as in this century, fumigation has become a very popular method of disinfection, whereas many agents used as fumigants have been withdrawn for ecological reasons. Dry fogging (fumigation) is a relatively new decontamination technology using a mist that behaves more like a gas and easily fills the sanitized space. In contrast to wet fog, ultra-fine particles of the dry mist settle on the surfaces after some time; hence, dry mist does not wet surfaces with which they are in contact [1]. The undoubted advantage of fumigation is the ability to disinfect areas that are difficult or even impossible to clean manually by wiping.

Disinfection is a process conditioned by many factors. Its effectiveness depends mainly on the duration of action and concentration of the disinfectant, as well as on temperature, humidity and surface target. Widely used decontamination methods are based on liquids or gases, and the preparations used in them are divided into bactericidal, virucidal, and fungicidal, depending on their antimicrobial activity [2, 3].

Modern fumigant research is not concerned with establishing a lethal dose, as is already known for most compounds, but is more geared towards finding ways to minimize effective doses of available disinfectants by studying their mechanisms

of action and physical conditions, and combating microbial resistance [4]. Due to the fact that fumigation is safe for equipment, and at the same time enables the highest possible bactericidal level, this method is widely used in various areas, both medical and non-medical [5]. Fogging technology is used in the medical, pharmaceutical, and food industries, as well as in transportation for air fumigation or surface disinfection in closed spaces, such as hospital and laboratory rooms, isolation rooms, incubators, warehouses, refrigerators, ships, trucks, railway containers, and aircraft [4, 6].

In the twenty-first century, in the era of a global pandemic, fumigation may play one of the key roles in fighting and preventing the spread of COVID-19. Fumigation can also be performed in public places and medical areas. Infection with the SARS-CoV-2 virus occurs primarily through secretion or droplets from the respiratory tract, which are released when infected people cough, sneeze, talk, or sing. The particles released from the respiratory system contain the virus and can reach the mouth, nose or eyes of a healthy person by the air-droplet path and cause infection. Another equally important mode of transmission of the virus is the contact route, and hands are its essential element. After touching contaminated surfaces and objects, the hands carry the virus to the areas of the mouth, nose, and eyes; the virus remains in an active, infectious form from several hours to several days on various surfaces. Fogging can disrupt such virus transmission pathways, and fumigation is therefore used to disinfect public places as well as medical areas [7].

Address for correspondence: Anna Bukłaha, Medical University, Białystok, Poland  
E-mail: anna.buklaha@umb.edu.pl

Received: 07.10.2021; accepted: 22.11.2021; first published: 09.12.2021

## OBJECTIVE

The aim of this review article is to summarize the current state of knowledge in the field of disinfection by air, based on the results of original scientific research, and to identify new trends in its application.

## DESCRIPTION OF THE STATE OF KNOWLEDGE

**Methods of disinfecting the environment.** Disinfection of the environment is performed by direct or indirect methods using various products and processes. Direct methods are carried out using a liquid disinfectant that is spread over the surface to be disinfected. Indirect methods include fumigation, defined as an antimicrobial process performed indirectly in a closed space. An example of fumigation is fogging, the indirect application of a biocidal liquid in the form of a dry fog. A variety of oxidants is often used in the fumigation process, such as ozone, chlorine dioxide, and hydrogen peroxide. Hydrogen peroxide is a widely used disinfectant and exhibits particularly rapid antimicrobial activity in gaseous form. The dry mist fogging technique ensures that the disinfectant does not condense and keeps the gas phase below the dew point, while the wet mist fogging process wets the surfaces being disinfected. The two processes differ in antimicrobial activity, compatibility with surfaces, and safety [1].

## AREAS OF APPLICATION OF FUMIGATION

**Medical areas.** Although thorough cleaning and disinfection of surfaces are essential for the implementation of infection prevention programmes, traditional manual cleaning and disinfection in medical laboratories and healthcare settings are often insufficient. A non-contact method that very effectively complements manual disinfection is fumigation [3]. Most medical devices are complex and constructed from a wide variety of chemically and physically sensitive materials. A good solution in this situation is use of the fumigation method due to the fine size of the dry drops of non-falling fog and excellent bactericidal activity. The bactericidal effect and the lack of a negative functional effect on the equipment was proven by exposing personal computers to the effect of dry peracetic acid mist for a period of 6 months [1].

**Hospital environment.** The hospital environment can be a reservoir and source of transmission of various pathogens, including those that are antibiotic-resistant, e. g., methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, among others. Many microorganisms are able to survive for long periods on a variety of surfaces. The use of the correct concentration of the disinfectant is essential in the effectiveness of the disinfection process, which can be achieved without the involvement of cleaning personnel. Most importantly, airborne hydrogen peroxide can reach places inaccessible to typical manual cleaning [8].

Hydrogen peroxide in the form of mist can be an effective method of disinfecting a hospital environment. Viruses belonging to the family *Caliciviridae* may also be controlled by fumigation with hydrogen peroxide. To carry

out an effective process, it is sufficient to spray 50 ml of 30% hydrogen peroxide within 24 minutes. Noroviruses are the leading cause of the non-bacterial gastroenteritis in humans and are common in hospitals, institutions, cruise ships, hotels, and other places where large groups of people are present in a relatively small confined area, allowing the virus to spread rapidly [9].

In addition, the possibility of using disinfectants based on hydrogen peroxide to reduce multi-drug resistant pathogens on surfaces, such as beds, curtains and furniture, has been identified. The advantage of the fumigation method was two-fold in a hospital setting: a patient care area could be disinfected quickly without moving patients to adjacent rooms [10, 11, 12].

**Medical laboratories.** In clinical laboratories, pathogens are routinely cultured which can contaminate air and surfaces and are highly resistant to disinfection. Laboratory tests have confirmed the effectiveness of fogging with hydrogen peroxide on surfaces experimentally contaminated with different pathogens. On the basis of the obtained results, it was found that fumigation with hydrogen peroxide can be an alternative to traditional cleaning [13].

Another area of risk in the medical sphere are air filters, where microorganisms and dust accumulate. One study assessed the effectiveness of hydrogen peroxide fogging without closing disinfected areas, such as ventilation systems and ambulance vehicles [10]. In this case, fumigation is also a good option because of the ease of spreading the mist and its ability to penetrate through small filter holes. Virucidal, bactericidal, and fungicidal activity on air filters was demonstrated in the tests conducted with hydrogen peroxide vapour at a concentration of 30–35%. At the same time, hydrogen peroxide proved safe in terms of its environmental friendliness due to its final decomposition into oxygen and water [6].

Adenovirus contamination is a big problem in life science laboratories and during pharmaceutical production processes due to the fact that adenoviruses are widely used in the biomedical and industrial environment, as they are an excellent tool for gene transfer. Research confirms the effectiveness of inactivation of recombinant adenovirus with 45-minute exposure to hydrogen peroxide mist [14]. Other studies also proved that peracetic acid is an effective agent for inactivating viruses in cell culture laboratories via fumigation [15].

In laboratories with a high level of biosafety, all used materials must be effectively disinfected. This can be a problem for items that cannot be autoclaved or subjected to disinfectant fluids. Tests have been carried out with various viral agents, including representatives of several families of *Orthomyxoviridae*, *Reoviridae*, *Flaviviridae*, *Paramyxoviridae*, *Herpesviridae*, *Picornaviridae*, *Caliciviridae*, and highly infectious bacterial agents such as *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. Hydrogen peroxide vapour is a potentially useful fumigant for the decontamination of materials exiting the laboratory. One study showed that this agent could be an excellent substitute for formaldehyde fumigant. Hydrogen peroxide in the form of a mist very effectively destroys any potential viral and bacterial contamination (in liquid or dried state) on objects, and at the same time does not damage laboratory equipment [16]. The activity of evaporated hydrogen peroxide against exotic animal viruses has been demonstrated. In other

studies evaluating the inactivation of *Francisella tularensis* on surfaces made of various materials (acrylic, glass, polyamide, polyethylene, polypropylene, silicone rubber, and stainless steel) using hydrogen peroxide fumigation, the bactericidal effect was observed within two hours [17]. This is particularly advantageous due to the possibility of using this pathogen as a potential biological weapon [16, 18].

In laboratory animal housing, fumigation with hydrogen peroxide has also proven to be effective. It can be used in this environment due to the broad spectrum of antimicrobial activity, environmental friendliness, and minimal burden for employees. Apart from virucidal, bactericidal, fungicidal, and sporicidal activity, no signs of corrosion or functional damage were detected after repeated disinfection. Bio-decontamination with hydrogen peroxide in the fog phase has proven to be a very effective method of decontamination of animal rooms and laboratory equipment [19]. In another study, in addition to the effectiveness of hydrogen peroxide fumigation in disinfecting rooms, its usefulness demonstrated has been demonstrated in the decontamination of laboratory equipment, such as ultracentrifuges, freeze dryers, and dental instruments [20].

**Food industry.** The main challenge in the food industry is to avoid contamination of raw materials and finished products by spoilage microorganisms [21]. Fogging ensures even delivery of an appropriate dose of disinfectant to all areas. Research on the operation of the fogging method in the food industry was not very popular and its beginnings are quite distant. The antimicrobial effect of chlorine mist sprayed in the air was discovered in 1975. In 1995, it was established that fogging is less effective than other disinfection methods, such as the use of ozone or ultraviolet radiation. In 1999, fogging was shown to reduce the number of microorganisms on upward facing surfaces relative to incident rays, while it was proven to be ineffective on vertical or downward facing surfaces [22].

Fumigation is used quite extensively by producers of salads, sandwiches, ready meals, and dairy products. It is also used in food equipment such as freezers and refrigerators, in cheese maturation rooms, production areas, and process lines. Studies have shown that the fog should be most effective when the diameter of the peracetic acid droplets is between 10–20 µm. Droplets of this size range are well dispersed and fall off in about 45 minutes [23]. In addition, fumigation is often used for pest control in warehouses of agricultural products (cereals, cherries, strawberries, apples, tomato). The high permeability of dry fog increases the shelf life and promotes the rapid elimination of pests. For example, studies found that acetic acid not only prevented tomatoes from rotting, but also had no apparent phytotoxic effects on the fruit [24]. No other method achieves immediate effect without having to transfer the products and the contents of a room [25].

**Transportation.** Despite the fairly widespread use of disinfectant mist in the food industry, most of the research related to transportation focuses on vehicles of the medical and pharmaceutical industries [23]. Based on the literature, it can be concluded that fumigant hydrogen peroxide is effective against a wide spectrum of microorganisms and is safe for general use and for sensitive equipment, including those found inside aircraft and vehicles [26].

Studies conducted to inactivate *B. anthracis* spores in the metro system by fogging with peracetic acid and hydrogen peroxide have shown that the effectiveness of the fog largely depends on the decontaminated material. Several published studies have compared the effectiveness of various disinfectants on smooth surfaces, such as glass and steel, and porous materials such as concrete. For example, fumigation has been found to be effective when decontaminating rooms or buildings that contain different surfaces in a sealed area. In addition, the use of fogging can provide an easier and cheaper decontamination solution in the event of *B. anthracis* being released over a large area [27, 28, 29].

## ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF FUMIGATION AGENTS

**Hydrogen peroxide.** The interest in environmentally friendly non-toxic biocides has never been so high as it is today. The non-toxicity of hydrogen peroxide has been valued for a long time, especially in disinfectant applications on antiseptic and general surfaces. It has been confirmed that different mechanisms of action of hydrogen peroxide in gaseous and liquid form have different effects on bacteria and viruses, which translates into their differential effectiveness [30].

Most of the described studies of the mechanism of hydrogen peroxide action on DNA have been carried out using low concentrations with long exposure times; thus, the biocidal mechanism under study calls into question the effective use of hydrogen peroxide as a surface disinfectant. The killing of microbes due to DNA damage depends on iron ions tightly binding to DNA at high concentrations of hydrogen peroxide; however, the importance of hydrogen peroxide's reactions with cellular components, including proteins, is also gaining importance [3].

According to a report of the World Health Organization, hydrogen peroxide is among the most widely used disinfectants that have been shown to be effective against SARS-CoV-2 [31]. In tackling the COVID-19 pandemic, some countries have approved non-contact methods of spraying chemical disinfectants (e.g., evaporated hydrogen peroxide) in healthcare facilities. However, fogging methods complement, but do not replace manual decontamination procedures in the fight against this disease [32].

**Peracetic acid.** Peracetic acid is a clear, colourless solution with an astringent acetic odour. Typically, it is formed by reacting hydrogen peroxide with acetic acid in the presence of a catalyst, such as sulfuric acid. To prevent the reverse reaction, the solution is fortified with an excess of acetic acid and hydrogen peroxide [33]. Although peracetic acid is the product of the chemical reaction between hydrogen peroxide and acetic acid, it is more effective than hydrogen peroxide because of its lipid solubility and strong antimicrobial activity at low temperatures [1].

Peracetic acid is widely used as a disinfectant, *inter alia*, because its bactericidal effect occurs after 30 minutes of exposure to dry fog, while spores and viruses require an hour's exposure. After contact with dry fog, no visible damage or changes were found to computers, cables, and hard drives. However, metal screws that were initially shiny and smooth turned dull [1].

**Table 1.** Effectiveness of three chemical agents for disinfection

Disinfectant	Advantages	Disadvantages	Mechanism of action
Hydrogen peroxide	Decomposition into non-toxic byproducts (water and oxygen).	Hydrogen peroxide in the form of a mist has shown an inability to oxidize amino acids. Resistance of micro-organisms to hydrogen peroxide depends largely on the production of superoxide dismutase, catalase, and other peroxidases.	Oxidizing agent reacts with cellular biomolecules. Produces reactive oxygen species (hydroxyl radicals, superoxide anions) that attack essential cellular components such as DNA, lipids, and proteins. Liquid hydrogen peroxide oxidizes cysteine, methionine, and other amino acids, and damages the microbial cell membrane.
Peracetic acid	Low temperature performance. Non-toxic by products: water, oxygen, and carbon dioxide. Lipid solubility and strong antimicrobial activity at low temperatures.	Ordinary steel, non-galvanized iron, copper, and bronze are susceptible to corrosion.	Antimicrobial effect to strong oxidizing properties and oxidative potential. Oxidation of amino acid residues as a result of binding free radicals with cellular proteins of microorganisms. Reactions between radicals and proteins cause a loss of protein activity, resulting in inhibition of the vital functions of microorganisms.
Formaldehyde	Very effective against a variety of microorganisms, including very stable viruses.	Toxic and carcinogenic effects, and potentially explosive. Formaldehyde for fumigation is made from granular paraformaldehyde. The gas formed under the influence of temperature is neutralized with ammonium carbonate, which leads to the formation and deposition of a white powder on all disinfected surfaces.	Chemically modifies vital cell components, including DNA and proteins, thereby leading to cellular dysfunction. Covalently modify proteins, inhibiting their functions.

Compiled using 20, 30, 33, 35, 36 and 37.

**Formaldehyde.** The earliest reports of the use of formaldehyde as a fumigant date back to 1880 and it has been used for decades in the fumigation of laboratories [34]. In fact, in the past, equipment and heat-sensitive materials that otherwise could not be disinfected were decontaminated with formaldehyde [2]. Hydrogen peroxide is a safe alternative to the use of these toxic gases that require neutralization before release to the atmosphere [19]. Comparison of three chemical agents for disinfection is shown in Table 1.

## SUMMARY

Nowadays, disinfectants are widely used in households, hospitals, drug production, and food processing, which contributes to the formation of microorganisms resistant to these types of substances [38, 39]. The emergence of resistance to disinfectants also contributes to the rise of antibiotic resistance through a common selection of genes [9]. With the increasing resistance of microorganisms to antibiotics, it is essential to rationally use disinfectants with an appropriately selected active substance. Among the microorganisms that are particularly difficult to control are spore-forming bacteria, which have a structure and sensitivity to physical and chemical factors that differ from vegetative forms. Studies have shown that peracetic acid and hydrogen peroxide are effective disinfectants against spores, but the use of hydrogen peroxide requires high temperatures and high concentrations [12].

The effectiveness of fogging with hydrogen peroxide and peracetic acid has been proven in numerous scientific studies [29, 40]. Their additional advantage is their environmental friendliness due to the resulting non-toxic decomposition products and their broad spectrum of action [26]. Hydrogen peroxide and peracetic acid can safely be used as a mist to disinfect laboratory and medical equipment, pharmaceutical facilities, hospital rooms, and animal housing, but a greater antimicrobial effect can be obtained on hard and smooth surfaces than on porous surfaces. On smooth objects, microorganisms rest on the surface, therefore their

direct contact with the disinfectant is possible, which is unfortunately difficult in the case of materials such as fabrics, carpets, or wood. In the case of porous materials, the fumigant must additionally penetrate the fabric, carpet, or wood fibre before it comes into contact with microorganisms or their spore forms, which undoubtedly influence its effectiveness [18, 41].

The COVID-19 pandemic hit even the most powerful economies in the world, and the sectors most affected appear to be sales, production, transportation, and tourism. As a result of the easy transmission of the SARS-CoV-2 virus, the disinfection of specialized vehicles (ambulances) and public transportation has become particularly important. In addition, spray disinfection allows for rapid decontamination of large areas, such as public transit stations, airports, shopping malls, theatres, and medical care facilities. Fumigation can play one role among the many ways to tackle the societal challenges of the COVID-19 pandemic [42].

## Acknowledgements

We are grateful to Steven Snodgrass for editorial assistance. This work was supported by the Project entitled „National intersectoral doctoral studies at the Medical University of Białystok” (POWR.03.02.00-00-1050/16) co-funded from European Union funds within the framework of European Social Fund as part of Knowledge Education Development 2014-2020 Operational Programme, through the grant no 01/MSD/2019.

## REFERENCES

- Krishnan J, Fey G, Stansfield C. Evaluation of a Dry Fogging System for Laboratory Decontamination. *Appl Biosafety*. 2012; 17(3): 132–141. <http://doi.org/10.1177/153567601201700305>
- Horn H MSc, Niemeyer B. Aerosol disinfection of bacterial spores by peracetic acid on antibacterial surfaces and other technical materials. *Am J of Inf Conrtol*. 2020; 48: 1200–1203. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2020.01.019>
- Boyce JM. Modern technologies for improving cleaning and disinfection of environmental surfaces in hospitals. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2016; 5: 10. <https://doi.org/10.1186/s13756-016-0111-x>

4. Shin HJ, Kim H, Beuchat LR, Ryu J-H. Antimicrobial activities of organic acid vapors against *Acidovorax citrulli*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* on Cucurbitaceae seeds. *Food Microbiol.* 2020; 19: 103569. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103569>
5. Humayun T, Qureshi A, Rowley SFA, et al. Efficacy of hydrogen peroxide fumigation in improving disinfection of hospital rooms and reducing the number of microorganisms. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2019; 31(4 Suppl 1)(4): 646–650. PMID: 31965767
6. Quan JH, Ju LY, Bei S, et al. Evaluation of Vaporized Hydrogen Peroxide Fumigation as a Method for the Bio-decontamination of the High Efficiency Particulate Air Filter Unit. *Biomed Environ Sci.* 2013; 26(2): 110–117. <http://dx.doi.org/10.3967/0895-3988.2013.02.005>
7. Oyeyemi A, Adesina A, Ogoina D. Fumigation of Schools for COVID-19 Prevention in Nigeria: The Need for a Rethink. *Am J Trop Med Hyg.* 2020; 103(4): 1370–1371. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-1037>
8. Amaeze NJ, Sharef MU, Henriquez FL, et al. Influence of delivery system on the efficacy of low concentrations of hydrogen peroxide in the disinfection of common healthcare-associated infection pathogens. *Journal of Hospital Infection.* 2020; 106: 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.06.031>
9. Bentley K, Dove BK, Parks SR, et al. Hydrogen peroxide vapour decontamination of surfaces artificially contaminated with norovirus surrogate feline calicivirus. *J Hospital Infect.* 2012; 80: 116–121. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2011.10.010>
10. Goyal SM, Chander Y, Yezli S, Otter JA. Evaluating the virucidal efficacy of hydrogen peroxide vapour. *J Hospital Inf.* 2014; 86: 255–259. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2014.02.003>
11. Rutala WA, Gergen MF, Sickbert-Bennett EE, et al. Effectiveness of improved hydrogen peroxide in decontaminating privacy curtains contaminated with multidrug-resistant pathogens. *Am J Inf Control.* 2014; 42: 426–428. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2013.11.022>
12. Wallace RL, Quellette M, Jean J. Effect of UV-C light or hydrogen peroxide wipes on the inactivation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile* spores and norovirus surrogate. *J Appl Microbiol.* 2019; 127(2): 586–597. <https://doi.org/10.1111/jam.14308>
13. Kenters N, Gottlieb T, Hopman J, et al. An international survey of cleaning and disinfection practices in the healthcare environment. *J Hospital Inf.* 2018; 236–241. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2018.05.008>
14. Berrie E, Andrews L, Yezli S, Otter JA. Hydrogen peroxide vapour inactivation of adenovirus. *Lett Appl Microbiol.* 2011; 52: 555–558. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03033.x>
15. Kindermann J, Karbiener M, Leydold SM, et al. Virus disinfection for biotechnology applications: Different effectiveness on surface versus in suspension. *Biologicals.* 2020; 64: 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2020.02.002>
16. Pottage T, Lewis S, Lansley A, et al. Hazard Group 3 agent decontamination using hydrogen peroxide vapour in a class III microbiological safety cabinet. *J Appl Microbiol.* 2020; 128(1): 116–123. <https://doi.org/10.1111/jam.14461>
17. Rogers JV, Choi YW. Inactivation of *Francisella tularensis* Schu S4 in a Biological Safety Cabinet Using Hydrogen Peroxide Fumigation. *Appl Biosafety.* 2008; 13(1): 15–20. <http://doi.org/10.1177/153567600801300103>
18. Mickelse RL, Wood J, Calfee MW, et al. Low-concentration hydrogen peroxide decontamination for *Bacillus* spore contamination in buildings. *Remediation J.* 2019; 30(1): 47–56. <https://doi.org/10.1002/rem.21629>
19. Stuart J, Chewins J, Tearle J. Comparing the efficacy of formaldehyde with hydrogen peroxide fumigation on infectious bronchitis virus. *Appl Biosafety.* 2020; 25(2): 83–89. <https://doi.org/10.1177/15356760200909998>
20. Achmed R, Mulder R. A Systematic Review on the Efficacy of Vaporized Hydrogen Peroxide as a Non-Contact Decontamination System for Pathogens Associated with the Dental Environment. *Int J Environ Res Public Health.* 2021; 18,4748. <https://doi.org/10.3390/ijerph18094748>
21. Knight GC, Craven HM. A model system for evaluating surface disinfection in dairy factory environments. *Int J Food Microbiol.* 2010; 137: 161–167. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.028>
22. Bore E, Langsrud S. Characterization of micro-organisms isolated from dairy industry after cleaning and fogging disinfection with alkyl amine and peracetic acid. *J Appl Microbiol.* 2005; 98: 96–105. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02436.x>
23. Ochowiak M, Krupińska A, Włodarczyk S, Matuszak M, Woziwodzki S, Szulc T. Analysis of the possibility of disinfecting surfaces using portable foggers in the era of the SARS-CoV-2 epidemic. *Energies.* 2021; 14(7): 2019. <https://doi.org/10.3390/en14072019>
24. Alawlaqi MM, Alarbi Askaa A. Impact of Acetic Acid on controlling Tomato Fruit Decay. *Life Sci J.* 2014; 11(3s): 114–119
25. Velde FV, Grace MH, Pirovani ME, Lila MA. Impact of a new postharvest disinfection method based on peracetic acid fogging on the phenolic profile of strawberries. *Postharvest Biol Technol.* 2016; 117: 197–205. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.03.005>
26. Rios-Castillo AG, González-Rivas F, Rodríguez-Jerez J. Bactericidal Efficacy of Hydrogen Peroxide-Based Disinfectants Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria on Stainless Steel Surfaces. *J Food Sci.* 2017; 82(10): 2351–2356. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13790>
27. Celebi O, Buyuk F, Pottage T, et al. The use of germinants to potentiate the sensitivity of *Bacillus anthracis* spores to peracetic acid. *Front Microbiol.* 2016; 29; 7:18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00018>
28. Richter WR, Wood JP, Wendling MQS, Rogers J. Inactivation of *Bacillus anthracis* spores to decontaminate subway railcar and related materials via the fogging of peracetic acid and hydrogen peroxide sporicidal liquids. *J Environ Manage.* 2017; 206: 800–806. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.11.027>
29. Wood JP, Calfee MW, Clayton M, et al. Evaluation of peracetic acid fog for the inactivation of *Bacillus anthracis* spore surrogates in a large decontamination chamber. *J Hazardous Materials.* 2013; 250–251: 61–67. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.01.068>
30. Malik DJ. Effect on biocidal efficacy of hydrogen peroxide vapour by catalase activity of nosocomial bacteria. *J Hospital Infect.* 2013; 83(4): 353–354. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2012.11.014>
31. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19). Situation Report – 115. 2020. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332090>
32. World Health Organization. Cleaning and disinfection of environmental surfaces in the context of COVID-19. WHO/2019-nCoV/Disinfection/2020.
33. Kumira T, Yahata H, Uchiyama Y. Examination of material compatibilities with ionized and vaporized hydrogen peroxide decontamination. *J Am Assoc Lab Animal Sci.* 2020; 59(6): 703–711. <https://doi.org/10.30802/AALAS-JAALAS-19-000165>
34. Beswick AJ, Farrant J, Makison C, et al. Comparison of Multiple Systems for Laboratory Whole Room Fumigation. *Appl Biosaf.* 2011; 3: 139–157. <http://doi.org/10.1177/153567601101600303>
35. Costa SAS, Paula OFP, Silva CRC, et al. Stability of antimicrobial activity of peracetic acid solutions used in the final disinfection process. *Braz Oral Res.* 2015; 29(1): 1–6. <https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2015.vol29.0038>
36. Nielsen GD, Larsen ST, Wolkoff P. Re-evaluation of the WHO (2010) formaldehyde indoor air quality guideline for cancer risk assessment. *Arch Toxicol.* 2017; 91: 35–61. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1733-8>
37. DenbyKJ, IwigJ, Bisson C, et al. The mechanism of a formaldehydesensing transcriptional regulator. *Sci Rep.* 2016; 9;6: 38879. <https://doi.org/10.1038/srep38879>
38. Alfa MJ, Lo E, Olson N, et al. Use of a daily disinfectant cleaner instead of a daily cleaner reduced hospital-acquired infection rates. *Am J Inf Control.* 2015; 43: 141–146. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2014.10.016>
39. Yang X, Liu Y-B. Nitric oxide fumigation for postharvest pest control on lettuce. *Pest Manag Sci.* 2019; 75: 390–395. <https://doi.org/10.1002/ps.5123>
40. Hao I, Wu J, Zhang E, et al. Disinfection efficiency of positive pressure respiratory protective hood using fumigation sterilization cabinet. *Biosafety and Health.* 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bsheal.2019.02.006>
41. Vannier M, Chewins J. Hydrogen peroxide vapour is an effective replacement for Formaldehyde in a BSL4 Foot and mouth disease vaccine manufacturing facility. *Letters in Applied Microbiol.* 2019; 69: 237–245. <http://dx.doi.org/10.1111/lam.13203>
42. Goel S, Hawi S, Goel G, et al. Resilient and agile engineering solutions to address societal challenges such as coronavirus pandemic. *Mat Today Chemistry.* 2020; 17: 100300. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2020.100300>

## 10. Streszczenie

Klimatyzacja samochodowa zapewnia komfort podróżowania, zmniejsza zmęczenie i poprawia koncentrację, jednak klimatyzacja może być szkodliwa dla organizmu człowieka. Jeśli klimatyzacja nie jest regularnie poddawana dezynfekcji, wraz z powietrzem do kabiny dostają się niepożądane bakterie i grzyby, które wytwarzają nieprzyjemny zapach. Sposobem na zwalczanie niepożądanych drobnoustrojów jest dezynfekcja, która może być przeprowadzana na kilka sposobów: za pomocą aerozolu, urządzenia ultradźwiękowego, generatora ozonu lub fumigatora.

Dezynfekcja fumigacyjna polega na zamgławianiu pomieszczeń mgłą mikrocząsteczkową, zawierającą preparat dezynfekcyjny za pomocą mobilnego aparatu do fumigacji. Ze względu na bezpieczeństwo i wysoką skuteczność fumigacja jest szeroko stosowana w różnych obszarach, zarówno medycznych, jak i niemiedycznych. Najczęściej do fumigacji jest stosowany kwas nadoctowy, nadtlenek wodoru oraz chlorek didecyldimetyloamoniowy.

Celem pracy była ocena działania przeciwdrobnoustrojowego medycznych środków do dezynfekcji drogą powietrzną w nowych obszarach zastosowania jakimi są powierzchnie kabin samochodowych; porównanie skuteczności działania trzech środków w fazie gazowej wobec drobnoustrojów znajdujących się na powierzchniach kabin samochodowych; badanie działania środków dezynfekcyjnych na zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza wpływającego z układu klimatyzacji samochodowej; porównanie skuteczności działania trzech środków wobec drobnoustrojów znajdujących się w powietrzu wpływającym z układu klimatyzacji samochodowej.

Badanie przeprowadzono na 34 prywatnych, klimatyzowanych pojazdach samochodowych. Pojazdy zostały losowo wybrane i przebadane w okresach letnich w latach 2018-2020 w Białymstoku.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu nieparametrycznych testów Wilcozona do porównania zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza przed i po dezynfekcji oraz analizy wariancji Kruskala-Wallisa i testu post-hock do porównania skuteczności trzech preparatów dezynfekujących.

W badaniach potwierdzono skuteczność działania dezynfekcyjnego w kabinach samochodowych kwasu nadoctowego stabilizowanego nadtlenkiem wodoru aplikowanym za pomocą fumigatora oraz mieszanki chlorku didecyldimetyloamoniowego, 2-fenoksyetanolu w połączeniu z aldehydem cynamonowym aplikowanym za pomocą atomizera. Preparat na

bazie kwasu nadoctowego jest skutecznym środkiem dezynfekcyjnym, ale wymaga użycia specjalistycznego urządzenia, ma działanie korodujące w stosunku do metalowych powierzchni i pozostawia intensywny zapach octu. Preparat na bazie chlorku didecyldimetyloamoniowego z dodatkiem aldehydu cynamonowego jest również skuteczny i posiada dodatkowy atut w postaci braku potrzeby używania urządzeń do rozpylania preparatu oraz pozostawia po użyciu przyjemny, cynamonowy zapach.

Uzyskane wyniki pozwalają na ich aplikacyjne wykorzystanie, które będzie polegało na tym, że do oferty firmy MEDILAB Sp. z o.o zostanie wprowadzony nowy obszar zastosowania preparatu dezynfekcyjnego drogą powietrzną na bazie chlorku didecyldimetyloamoniowego z dodatkiem aldehydu cynamonowego. Nowym obszarem będzie dezynfekcja powietrza wypływającego z układów klimatyzacji samochodowych oraz powierzchni kabinowych.

## 11. Summary

Car air conditioning provides travel comfort, reduces fatigue and improves concentration, but it can be harmful to the human body. If it is not regularly disinfected, unwanted bacteria and fungi get into the cabin along with the air, producing an unpleasant odor. Disinfection fights unwanted microbes and can be carried out in several ways: with an aerosol, an ultrasonic device, an ozone generator or a fumigator.

Fumigation disinfection consists in fogging rooms with a micro-spray mist containing a disinfecting preparation using a mobile fumigation device. Due to its safety and high efficiency, fumigation is widely used in various areas, both medical and non-medical. The most common fumigation products are peracetic acid, hydrogen peroxide and didecyldimethylammonium chloride.

The aim of this study was to assess the antimicrobial effect of medical air disinfectants in new areas of application, such as car cabin surfaces; comparison of the effectiveness of the three agents in the gas phase towards microorganisms on the surfaces of car cabins; testing the effect of disinfectants on microbiological contamination of the air flowing from the car air conditioning system; comparison of the effectiveness of the action of three agents towards microorganisms in the air flowing out of the car air conditioning system.

The study was conducted on 34 air-conditioned vehicles. The vehicles were randomly selected and tested during the summer periods of 2018-2020 in Białystok.

The obtained results were statistically analyzed using non-parametric Wilcoxon tests to compare the microbial contamination of the air before and after disinfection. The Kruskal-Wallis analysis of variance and a post-hoc test were used to compare the effectiveness of three disinfectants.

Our research confirmed the effectiveness of disinfecting car cabins with peracetic acid stabilized with hydrogen peroxide applied with a fumigator and a mixture of didecyldimethylammonium chloride, 2-phenoxyethanol in combination with cinnamaldehyde applied with an atomizer. The preparation based on peracetic acid is an effective disinfectant, but requires the use of a specialized device, is corrosive to metal surfaces and leaves an intense vinegar smell. The preparation based on didecyldimethylammonium chloride with the addition of cinnamaldehyde is also effective and has the additional advantage of not requiring additional spraying devices. Also, it leaves a cinnamon smell.

The obtained results allow for their applicability. MEDILAB Sp. z o.o will introduce a new area of application of the disinfectant preparation by air based on

didecyldimethylammonium chloride with the addition of cinnamaldehyde. A new area of its application will be the disinfection of air flowing from car air-conditioning systems and cabin surfaces.

## 12. Piśmiennictwo

1. Gołofit-Szymczak M, Stobnicka-Kupiec A, Górny RL. Impact of air-conditioning system disinfection on microbial contamination of passenger cars. *Air Qual Atmos Health* 2019;12:1127–1135.
2. Jo WK, Lee JH. Airborne fungal and bacterial levels associated with the use of automobile air conditioners or heaters, room air conditioners, and humidifiers. *Arch Environ Occup Health*. 2008;63(3):101–107.
3. Rose LJ, Simmons RB, Crow SA, Ahearn DG. Volatile organic compounds associated with microbial growth in automobile air conditioning systems. *Curr Microbiol*. 2000 Sep;41(3):206-9
4. Li JL, Mingzhen S, Fangxia ZZ, Yao M, Wu CY. Characterization of biological aerosol exposure risks from automobile air conditioning system. *Environ Sci Technol*. 2013;47:10660–10666.
5. Diekmann N, Burghartz M, Remus L, Kaufholz AL, Nawrath T, Rohde M, Schulz S, Roselius L, Schaper J, Mamber O, Jahn D, Jahn M. Microbial communities related to volatile organic compound emission in automobile air conditioning units. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2013 Oct;97(19):8777-93.
6. Kim KH, Kim SH, Jung YR, Kim MG. Evaluation of malodor for automobile air conditioner evaporator by using laboratory-scale test cooling bench. *Journal of Chromatography*. 2008;1204:72-80.
7. Krishnan J, Fey G, Stansfield C. Evaluation of a Dry Fogging System for Laboratory Decontamination. *Appl Biosafety*. 2012;17(3):132–141.
8. Shin HJ, Kim H, Beuchat LR, Ryu J-H. Antimicrobial activities of organic acid vapors against *Acidovorax citrulli*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* on Cucurbitaceae seeds. *Food Microbiol*. 2020;19:103569.
9. Orlando P, Cristina ML, Dallera M, Ottria G, Vitale A, Badolati G. Surface disinfection: evaluation of the efficacy of a nebulization system spraying hydrogen peroxide. *J Prev Med Hyg*, 2008,49:116-119.
10. Quan JH, Ju LY, Bei S, et al. Evaluation of Vaporized Hydrogen Peroxide Fumigation as a Method for the Bio-decontamination of the High Efficiency Particulate Air Filter Unit. *Biomed Environ Sci*. 2013;26(2):110-117.

11. Leggett M, Schwarz S, Burke P, McDonnell G, Denyer S, Maillard J. Mechanism of Sporicidal Activity for the Synergistic Combination of Peracetic Acid and Hydrogen Peroxide. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015,82(4):1035-1039.
12. Boyce JM. Modern technologies for improving cleaning and disinfection of environmental surfaces in hospitals. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2016;5:1–10.
13. Finnegan M, Linley E, Denyer SP, McDonnell G, Simons C, Maillard J-Y. Mode of action of hydrogen peroxide and other oxidizing agents: differences between liquid and gas forms. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65:2108– 15.
14. Montagna MT, Triggiano F, Barbuti G, Bartolomeo N, Giglio O, Diella G, et al. Study on the in vitro activity of five disinfectants against nosocomial bacteria. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16:1–9.
15. Malheiro JF, Oliveira K, Cagide F, Borges F, Simoes M, Maillard J-Y. Surface wiping test to study biocide-cinnamaldehyde combination to improve efficiency in surface disinfection. *Int J Mol Sci*. 2020;21:1–14.
16. Cutts T, Kasloff S, Safronetz D, Krishnan J. Decontamination of common healthcare facility surfaces contaminated with SARS-CoV-2 using peracetic acid dry fogging. *J Hosp Infect*. 2021;109:82-87.
17. Teifke JP, Scheinmann H, Schinkothe J, Eschbaumer M, Meluh A, Streitz M, Freese H, Reiche S. Dry-fog decontamination of microbiological safety cabinets after activities with SARS-CoV-2: cycle development and process validation for dry fogging with peroxyacetic acid. *GMS Hyg Infect Control*. 2021 Aug 31;16:Doc26.

**Informacja o charakterze udziału współautorów w publikacji wraz z szacunkowym określeniem procentowego wkładu**

„Air Disinfection – From Medical Areas to Vehicle” autorów Anna Bukłaha, Anna Wieczorek, Ewelina Kruszewska, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Tryniszewska, Piotr Wieczorek, opublikowanej w *Frontiers in Public Health*. 2022: 10:820816. doi: 10.3389/fpubh.2022.820816.

Imię i nazwisko współautora	Charakter udziału	Procentowy wkład
doktorant – mgr Anna Bukłaha	wybranie odpowiednich pojazdów do badań; przeprowadzenie procedur dezynfekcyjnych; gromadzenie danych; przeprowadzenie oznaczeń; analiza otrzymanych wyników; przegląd literatury; tworzenie manuskryptu	70%
dr Anna Wieczorek	pomoc przy gromadzeniu danych do publikacji	2%
mgr Ewelina Kruszewska	pomoc przy gromadzeniu danych do publikacji	2%
dr Piotr Majewski	pomoc w analizie i interpretacji danych do publikacji	2%
dr Dominika Iwaniuk	pomoc przy gromadzeniu danych do publikacji	2%
dr hab. Paweł Sacha	krytyczny przegląd publikacji	2%
prof. Elżbieta Tryniszewska	krytyczny przegląd publikacji	2%

dr hab. Piotr Wieczorek	opracowanie koncepcji badawczej i ostateczna akceptacja publikacji	18%
-------------------------	--	-----

Oświadczam, że wszyscy współautorzy wyrazili zgodę na wykorzystanie powyższych publikacji w pracy doktorskiej mgr Anny Bukłaha.

*Anno Bukłaha*

Anna Wieczorek

.....  
*imię i nazwisko współautora*

Białystok, dn. 16.05.2022.  
*miejsowość, data*

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej

.....  
*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. J. Kilińskiego 1  
15-089 Białystok

### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

„Air Disinfection – From Medical Areas to Vehicle” autorów Anna Bukłaha, Anna Wieczorek, Ewelina Kruszewska, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Tryniszewska, Piotr Wieczorek, opublikowanej w czasopiśmie pt.: „Frontiers in Public Health”, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej pt.: „Zastosowanie metod dezynfekcji drogą powietrzną do dekontaminacji powierzchni kabinowych i układów klimatyzacji samochodowych”, wynoszący 2 % polegał na gromadzeniu danych do publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Annę Bukłaha publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Anna Wieczorek

Ewelina Kruszewska

.....  
*imię i nazwisko współautora*

Białystok, 04.05.2022  
.....  
*miejsowość, data*

Klinika Chorób Zakaźnych I Neuroinfekcji

.....  
*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. J. Kilińskiego 1  
15-089 Białystok

### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

„Air Disinfection – From Medical Areas to Vehicle” autorów Anna Bukłaha, Anna Wieczorek, Ewelina Kruszewska, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Tryniszewska, Piotr Wieczorek, opublikowanej w czasopiśmie pt.: „Frontiers in Public Health”, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej pt.: „Zastosowanie metod dezynfekcji drogą powietrzną do dekontaminacji powierzchni kabinowych i układów klimatyzacji samochodowych”, wynoszący 2 % polegał na gromadzeniu danych do publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Annę Bukłaha publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Kruszewska Ewelina

Piotr Majewski

.....  
*imię i nazwisko współautora*

Białystok 16/01/2022

.....  
*miejsowość, data*

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej

.....  
*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. J. Kilińskiego 1  
15-089 Białystok

### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

„Air Disinfection – From Medical Areas to Vehicle” autorów Anna Bukłaha, Anna Wieczorek, Ewelina Kruszewska, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Tryniszewska, Piotr Wieczorek, opublikowanej w czasopiśmie pt.: „Frontiers in Public Health”, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej pt.: „Zastosowanie metod dezynfekcji drogą powietrzną do dekontaminacji powierzchni kabinowych i układów klimatyzacji samochodowych”, wynoszący 2 % polegał na analizie i interpretacji danych do publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Annę Bukłaha publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

*W Majewski*

Dominika Iwaniuk

.....  
*imię i nazwisko współautora*

Białystok, 16.05.2022r.  
.....  
*miejsowość, data*

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej

.....  
*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. J. Kilińskiego 1  
15-089 Białystok

### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

„Air Disinfection – From Medical Areas to Vehicle” autorów Anna Bukłaha, Anna Wieczorek, Ewelina Kruszewska, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Tryniszewska, Piotr Wieczorek, opublikowanej w czasopiśmie pt.: „Frontiers in Public Health”, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej pt.: „Zastosowanie metod dezynfekcji drogą powietrzną do dekontaminacji powierzchni kabinowych i układów klimatyzacji samochodowych”, wynoszący 2 % polegał na gromadzeniu danych do publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Annę Bukłaha publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

*Dominika Iwaniuk*

Paweł Sacha

.....  
*imię i nazwisko współautora*

Białystok, 16.05.2022  
.....  
*miejsowość, data*

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej

.....  
*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. J. Kilińskiego 1  
15-089 Białystok

### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

„Air Disinfection – From Medical Areas to Vehicle” autorów Anna Bukłaha, Anna Wieczorek, Ewelina Kruszewska, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Tryniszewska, Piotr Wieczorek, opublikowanej w czasopiśmie pt.: „Frontiers in Public Health”, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej pt.: „Zastosowanie metod dezynfekcji drogą powietrzną do dekontaminacji powierzchni kabinowych i układów klimatyzacji samochodowych”, wynoszący 2 % polegał na krytycznym przeglądzie artykułu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Annę Bukłaha publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

*Paweł Sacha*

Elżbieta Tryniszewska

.....  
*imię i nazwisko współautora*

Białystok, 16.05.2022  
.....  
*miejsowość, data*

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej

.....  
*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. J. Kilińskiego 1  
15-089 Białystok

### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

„Air Disinfection – From Medical Areas to Vehicle” autorów Anna Bukłaha, Anna Wieczorek, Ewelina Kruszewska, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Tryniszewska, Piotr Wieczorek, opublikowanej w czasopiśmie pt.: „Frontiers in Public Health”, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej pt.: „Zastosowanie metod dezynfekcji drogą powietrzną do dekontaminacji powierzchni kabinowych i układów klimatyzacji samochodowych”, wynoszący 2 % polegał na krytycznym przeglądzie artykułu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Annę Bukłaha publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

*Elżbieta Tryniszewska*

Piotr Wieczorek

.....

*imię i nazwisko współautora*

Białystok, 16.05.2002  
.....  
*miejsowość, data*

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej

.....

*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

ul. J. Kilińskiego 1

15-089 Białystok

### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

„Air Disinfection – From Medical Areas to Vehicle” autorów Anna Bukłaha, Anna Wieczorek, Ewelina Kruszewska, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Tryniszewska, Piotr Wieczorek, opublikowanej w czasopiśmie pt.: „Frontiers in Public Health”, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej pt.: „Zastosowanie metod dezynfekcji drogą powietrzną do dekontaminacji powierzchni kabinowych i układów klimatyzacji samochodowych”, wynoszący 18 % polegał na opracowaniu koncepcji badawczej i ostatecznej akceptacji artykułu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Annę Bukłaha publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

*Piotr Wieczorek*

## Informacja o charakterze udziału współautorów w publikacji wraz z szacunkowym określeniem procentowego wkładu

„New trends in application of the fumigation method in medical and non-medical fields” autorów Anna Bukłaha, Anna Wieczorek, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Tryniszewska, Piotr Wieczorek, opublikowanej w *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2022: doi: 10.26444/aaem/144136.

Imię i nazwisko współautora	Charakter udziału	Procentowy wkład
doktorant – mgr Anna Bukłaha	przegląd literatury; tworzenie manuskryptu	70%
dr Anna Wieczorek	pomoc w analizie literatury	2%
dr Piotr Majewski	pomoc w analizie literatury	2%
dr Dominika Iwaniuk	pomoc w analizie literatury	2%
dr hab. Paweł Sacha	krytyczny przegląd publikacji	2%
prof. Elżbieta Tryniszewska	krytyczny przegląd publikacji	2%
dr hab. Piotr Wieczorek	opracowanie koncepcji badawczej i ostateczna akceptacja publikacji	20%

Oświadczam, że wszyscy współautorzy wyrazili zgodę na wykorzystanie powyższych publikacji w pracy doktorskiej mgr Anny Bukłaha.

*Anna Bukłaha*

Anna Wieczorek

.....  
*imię i nazwisko współautora*

Białystok, dn. 16.05.2022r.  
*miejsowość, data*

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej

.....  
*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. J. Kilińskiego 1  
15-089 Białystok

### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

„New trends in application of the fumigation method in medical and non-medical fields” autorów Anna Bukłaha, Anna Wieczorek, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Tryniszewska, Piotr Wieczorek, opublikowanej w czasopiśmie pt.: „Annals of Agricultural and Environmental Medicine”, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej pt.: „Zastosowanie metod dezynfekcji drogą powietrzną do dekontaminacji powierzchni kabinowych i układów klimatyzacji samochodowych”, wynoszący 2 % polegał na analizie literatury.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Annę Bukłaha publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Anna Wieczorek

Piotr Majewski

.....  
*imię i nazwisko współautora*

*16 Białystok, 16/05/2022*

.....  
*miejsowość, data*

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej

.....  
*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. J. Kilińskiego 1  
15-089 Białystok

### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

„New trends in application of the fumigation method in medical and non-medical fields” autorów Anna Bukłaha, Anna Wieczorek, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Tryniszewska, Piotr Wieczorek, opublikowanej w czasopiśmie pt.: „Annals of Agricultural and Environmental Medicine”, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej pt.: „Zastosowanie metod dezynfekcji drogą powietrzną do dekontaminacji powierzchni kabinowych i układów klimatyzacji samochodowych”, wynoszący 2 % polegał na analizie literatury.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Annę Bukłaha publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

*majewski*

Dominika Iwaniuk

.....  
*imię i nazwisko współautora*

Białystok, 16.05.2022.  
.....  
*miejsowość, data*

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej

.....  
*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. J. Kilińskiego 1  
15-089 Białystok

### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

„New trends in application of the fumigation method in medical and non-medical fields” autorów Anna Bukłaha, Anna Wieczorek, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Tryniszewska, Piotr Wieczorek, opublikowanej w czasopiśmie pt.: „Annals of Agricultural and Environmental Medicine”, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej pt.: „Zastosowanie metod dezynfekcji drogą powietrzną do dekontaminacji powierzchni kabinowych i układów klimatyzacji samochodowych”, wynoszący 2 % polegał na analizie literatury.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Annę Bukłaha publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Dominika Iwaniuk

Paweł Sacha

.....

*imię i nazwisko współautora*

Białystok, 16.05.2022

.....

*miejsowość, data*

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej

.....

*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

ul. J. Kilińskiego 1

15-089 Białystok

### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

„New trends in application of the fumigation method in medical and non-medical fields” autorów Anna Bukłaha, Anna Wieczorek, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Tryniszewska, Piotr Wieczorek, opublikowanej w czasopiśmie pt.: „Annals of Agricultural and Environmental Medicine”, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej pt.: „Zastosowanie metod dezynfekcji drogą powietrzną do dekontaminacji powierzchni kabinowych i układów klimatyzacji samochodowych”, wynoszący 2 % polegał na krytycznym przeglądzie artykułu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Annę Bukłaha publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Paweł Sacha

Elżbieta Tryniszewska

.....  
*imię i nazwisko współautora*

Białystok, 16.05.2022  
.....  
*miejsowość, data*

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej

.....  
*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. J. Kilińskiego 1  
15-089 Białystok

### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

„New trends in application of the fumigation method in medical and non-medical fields” autorów Anna Bukłaha, Anna Wieczorek, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Tryniszewska, Piotr Wieczorek, opublikowanej w czasopiśmie pt.: „Annals of Agricultural and Environmental Medicine”, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej pt.: „Zastosowanie metod dezynfekcji drogą powietrzną do dekontaminacji powierzchni kabinowych i układów klimatyzacji samochodowych”, wynoszący 2 % polegał na krytycznym przeglądzie artykułu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Annę Bukłaha publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

*Elżbieta Tryniszewska*

Piotr Wieczorek

.....  
*imię i nazwisko współautora*

Białystok, 16.05.2022  
.....  
*miejsowość, data*

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej i Immunologii Infekcyjnej

.....  
*nazwa jednostki*

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
ul. J. Kilińskiego 1  
15-089 Białystok

### Oświadczenie

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

„New trends in application of the fumigation method in medical and non-medical fields” autorów Anna Bukłaha, Anna Wieczorek, Piotr Majewski, Dominika Iwaniuk, Paweł Sacha, Elżbieta Tryniszewska, Piotr Wieczorek, opublikowanej w czasopiśmie pt.: „Annals of Agricultural and Environmental Medicine”, wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej pt.: „Zastosowanie metod dezynfekcji drogą powietrzną do dekontaminacji powierzchni kabinowych i układów klimatyzacji samochodowych”, wynoszący 20 % polegał na opracowaniu koncepcji badawczej i ostatecznej akceptacji artykułu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie przez Annę Bukłaha publikacji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne.

Piotr Wieczorek

**KOMISJA BIOETYCZNA  
PRZY UNIWERSYTECIE MEDYCZNYM W BIAŁYMSTOKU**

ul. Jana Kilińskiego 1  
15-089 Białystok  
tel. 85 748 54 07, fax 85 748 55 08  
komisjabioetyczna@umb.edu.pl

---

Białystok, dn. 16.12.2021 r.

APK.002.486.2021

Sz.P.

Dr hab. Piotr Wieczorek

Wniosek do Komisji Bioetycznej o temacie badawczym: „Zastosowanie metod dezynfekcji drogą powietrzną do dekontaminacji powierzchni kabinowych i układów klimatyzacji samochodowych” nie wymaga zgody Komisji Bioetycznej.

Przewodnicząca Komisji Bioetycznej przy UMB

prof. dr hab. Otylia Kowal-Bielecka

