

Mikrobiell vekst og desinfisering i klatresenter

Microbial Growth and Disinfection in a Climbing Centre

Bacheloroppgave

Prosjektnummer: IMA-B-05-2022

Innleveringsdato: 20.05.2022

Gradering: Lukket

Forfattere: Dilovan Khalil og Marius Bragstad Gulstad

Intern veileder: Lene Østby

Oppdragsgiver: SIAT – Senter for idrettsanlegg og teknologi

Kontaktperson: Bjørn Aas




Institutt for materialteknologi

Forord

Bacheloroppgaven er skrevet av kjemiingeniørstudenter fra institutt for materialteknologi, fakultet for naturvitenskap ved Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU). Oppgaven ble utført i tidsrommet 10.01.22 – 20.05.22 i samarbeid med Senter for idrettsanlegg og teknologi (SIAT). Den har omhandlet renhold og desinfisering i et innendørs klatreanlegg. Det har vært interessant, utfordrende og lærerikt å jobbe med denne oppgaven.

Klatring som idrett har hatt en eksplosiv vekst i Norge de senere år, men det er i dag lite kunnskap om mikrobiell vekst i klatresentre og hvordan dette påvirker brukerne. Hensikten med oppgaven har vært å undersøke behovet for rengjøring og finne egnet metode for desinfisering.

Vi vil takke vår veileder Bjørn Aas ved SIAT for en interessant og lærerik oppgave. Vi vil også rette en stor takk til Arve Stavø ved Grip Sluppen for å ha stilt lokale tilgjengelig for oss gjennom dette semesteret. Vi vil takke vår interne veileder ved NTNU, Lene Østby for god veiledning og oppfølging gjennom denne perioden. Vi vil takke Hege Sundgård ved NTNU for opplæring på laboratoriet, og hjelp med bestilling av reagenser og utstyr.


Dilovan Khalil


Marius Bragstad Gulstad

Sammendrag

Klatring er en idrett som har hatt eksplosiv vekst i Norge de senere år og det bygges stadig nye innendørs klatresentre og behovet for nye er økende. Mikrobiell vekst er et generelt problem i idrettsanlegg og spesielt den patogene bakterien *Staphylococcus aureus* som kan medføre alvorlig infeksjon. Det er i dag lite forskning på mikrobiell vekst i klatresentre og det har utledet følgende problemstillinger:

Hvordan er miljøet for mikrobiell vekst i et klatresenter?

*Er det tilstedeværelse av *Staphylococcus aureus* på klatretak?*

Hvilke desinfeksjonsmetoder er best egnet i en klatrevegg?

Det er tatt prøver i Grip Klatrings anlegg ved Sluppen i Trondheim våren 2022. I hovedforsøket ble det tatt åtte prøver fra seks ulike områder i klatresenteret, både i anleggets barneavdeling og voksenavdeling. Det ble tatt prøver av klatretak av tre og plast, det ble tatt prøver høyt og lavt i klatreveggen. De fleste prøver ble tatt midt på dagen, men i tillegg ble det tatt to prøver ved anleggets åpningstid. Det ble tatt prøver fra klatrevegg hvor klatretak var montert noen dager før prøvedagen og fra vegg hvor klatretak var montert flere uker i forveien.

Det ble tatt fem paralleller av hver prøve og hver parallell ble replisert fire ganger. Det ble brukt 3M Swab-Samplers med tilhørende transportvæske til å ta prøver. Prøvene ble tatt fra et område på 10x10 cm. Prøvene ble overført til Tryptic Soy Agar-plater, inkubert ved 37 °C og kolonier ble telt etter 24 og 48 timer. Prøvene hadde gjennomsnitt på 655 (± 638) – 5865 (± 1771) CFU/dm². Det er tendenser som indikerer at det er mer vekst på klatretak av plast kontra klatretak av tre. Det var en tendens til mer vekst på klatretak som var nylig montert enn de som var montert flere uker i forveien.

Det ble gjennomført et forsøk med desinfisering av klatretak med Nüscosept PRO, det er et desinfiseringsmiddel som påføres med en sprayflaske og som tørker inn i løpet av noen minutter. Det ble tatt prøve av klatretak før og etter desinfisering. Prøven før desinfisering viste 2750 (± 2436) CFU/dm² og prøven 10 minutter etter desinfisering viste 109 (± 95) CFU/dm², noe som er en nedgang på 96,0%.

Det er gjort forsøk i laboratoriet for å undersøke om klatrekalken har en desinfiserende effekt. Klatretak ble lånt av Grip Klatring på Sluppen for å gjenskape et mest mulig realistisk miljø. Klatretakene ble forsøkt kontaminert ved å gnu hender mot klatretakene, de ble ikke kontaminert tilstrekkelig til å få god nok vekst på Tryptic Soy Agar-plater. Det ble gjort et tilsvarende forsøk hvor klatrekalken var byttet ut med UV-stråling, også her var det problemer med å kontaminere klatretakene tilstrekkelig.

Det er gjort forsøk på å identifisere *Staphylococcus aureus* og det er indikasjoner på at den er tilstedeværende i klatresenteret, det kreves riktignok mer avanserte metoder som PCR for å kunne slå fast med sikkerhet at bakterien er tilstede, PCR ble ikke utført pga. tidsbegrensning.

Abstract

Climbing is a sport that has had an explosive growth in Norway in the recent years and there are still new climbing centers opening and the demand for new climbing centers is increasing. Microbial growth is a general problem in sport facilities and especially the pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* which can cause serious infection. There is currently little research on microbial growth in climbing centers and this has led to following research questions:

How is the environment for microbial growth in a climbing center?

*Is there presence of *Staphylococcus aureus* on climbing holds?*

Which disinfection methods are best suited in a climbing wall?

Samples were taken at Grip Klatrings facility at Sluppen in Trondheim in the spring of 2022. In the main experiment, eight samples were taken from six different areas in the climbing center, both in the facility's pediatric section and the adult section. Samples were taken of climbing holds made of wood and plastic, samples were taken high and low on the climbing wall. Most samples were taken in the middle of the day, but in addition, two samples were taken when the facility opened. Samples were taken from the climbing wall where the climbing holds had been installed a few days before the test day and from the wall where the climbing hold had been installed several weeks in advance.

Five parallels were taken from each sample and each parallel were replicated four times. 3M Swab-Samplers with the included transport fluid were used to take the samples. The samples were taken from an area of 10x10 cm. The samples were transferred to Tryptic Soy Agar plates, incubated at 37 °C and colonies were counted after 24 and 48 hours. The samples averaged 655 (± 638) – 5865 (± 1771) CFU/dm². There were trends that indicated that there was more growth in plastic climbing holds compared to wooden climbing holds. There was a tendency for more growth on newly installed climbing holds compared to those who had been installed several weeks in advance.

An experiment was carried out with disinfection of climbing holds with Nüscosept PRO, which is a disinfectant that is applied with a spray bottle and dries in a few minutes. Climbing holds were sampled before and after disinfection. The sample before disinfection showed 2750 (± 2436) CFU/dm² and the sample 10 minutes after disinfection showed 109 (± 95) CFU dm², which is a decrease of 96.0%.

Experiments have been carried out in the laboratory to investigate whether the climbing chalk has a disinfecting effect. Climbing holds were borrowed by Grip Klatring in Sluppen to recreate the most realistic environment possible. Attempts were made to contaminate the climbing holds by rubbing hands against the climbing holds but they were not sufficiently contaminated to get a sufficient

growth on the Tryptic Soy Agar plates. A similar attempt was made where the climbing chalk had been replaced with UV radiation, but there were problems with contaminating the climbing holds sufficiently here as well.

Attempts have been made to identify *Staphylococcus aureus* and there were indications that it was present in the climbing center, although more advanced methods such as Polymerase Chain Reaction are required to be able to establish with certainty that the bacterium is present, PCR was not performed due to time restraints.

Liste over forkortelser og akronymer

| | |
|------------------------------------|--|
| TSA | Tryptic Soy Agar |
| TSB | Tryptic Soy Broth |
| MSA | Mannitol salt agar |
| PCR | Polymerase Chain Reaction |
| CFU | Colony Forming Unit |
| UV | Ultraviolet |
| MRSA | Meticillin-resistant Staphylococcus aureus |
| <i>S. aureus</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| <i>S. epidermis</i> | Staphylococcus epidermis |
| SIAT | Senter for idrettsanlegg og teknologi |
| NTNU | Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet |
| PE | Polyester |
| PU | Polyuretan. |
| γ-stråler | Gammastråler |
| nm | Nanometer |

Ordforklaringer

| | |
|----------------------------|---|
| Buldring: | Klatring uten å bruke tau |
| S. aureus: | En gram positiv stafylokokk som har koagulase i celleveggen. |
| S. epidermis: | En gram positiv stafylokokk uten koagulase. |
| Selektive agerer: | Agar som inneholder bestemte næringsstoffer som kun enkelte bakteriestammer trenger. |
| Inokulering: | Å overføre organismer til et medium for å starte vekst. |
| Hudlesjoner: | En hud lesjon er en del av huden med en vekst eller et unormalt utseende enn den omkringliggende hud, for eksempel et sår. |
| Koagulase: | Et plasma-koaguleringsenzym utskilt av <i>S. Aureus</i> . Det bidrar til virulens og er involvert i å danne en fibinvegg som omgir stafylokokker. |
| PCR: | En in vitro-metode for eksponensielt amplifiserende DNA. |
| Podenål: | Redskap som brukes for å spre bakteriesuspensjon på agar. |
| Renkultur: | En populasjon av bakterier som alle har vokst fra en enkelt celle. |
| Patogen: | Organismer som bakterier, virus og sopp som kan indusere sykdom. |
| Antimikrobiell: | Stoff som dreper eller hemmer vekst av mikroorganismer. |
| Kimtall: | Totalt antall mikroorganismer i en prøve fra et definert område. Kimtallet registreres etter oppdyrking på et næringsmedie. |
| Klatretak: | Lages vanligvis av plast og festes på vegger i klatresenter. |
| Aseptisk teknikk: | Å jobbe under sterile forhold uten tilstedeværelse av mikroorganismer fra omgivelsen. |
| Fakultativ anaerob: | Mikroorganismer kan vokse og leve både med og uten oksygen, men er mest effektiv med oksygen. |
| Fagocytose: | Beskytter cellen ved å bryte ned fremmedlegemer til mindre ufarlige bestanddeler. |
| Aerob: | Avhengig av oksygen |

Figurer

Figur 1: Buldrevegg ved Grip Klatring Sluppen.

Figur 2: Klatrekalk hjelper klatreren å skape friksjon mellom hender og kalk.

Figur 3: En bakterie celle består av 70% vann og 30% kjemikalier.

Figur 4: Desimalreduksjonstid (D) som mål av mikrobiell dødsrate og autoklav.

Figur 5: MSA som rent medium, med Staphylococcus aureus og Staphylococcus epidermidis.

Figur 6: Dannelse av O₂(g) ved katalase tilstedeværelse.

Figur 7: Oksidasetest, oksidase positiv er blå farge, mens oksidase negativ er grå/hvit farge.

Figur 8: En skadelig tymindimer pga. UV-lys, UV-skap.

Figur 9: 3M Swab-Samplers.

Figur 10: Svaberen ble sveipet i et sikksakk mønster, horisontalt og vertikalt.

Figur 11: Oversikt over klatresenter, tall i hvit skrift viser hvor prøvene er samlet inn.

Figur 12: Klatrevegg av tre i barneavdeling.

Figur 13: Klatrevegg av plast i barneavdeling.

Figur 14: Klatrevegg av plast i barneavdeling.

Figur 15: Klatrevegg i voksenavdeling.

Figur 16: Klatrevegg i voksenavdeling.

Figur 17: Kolonier dyrket på TSA-agarplater, fra venstre prøve 1 og 7.

Figur 18: Kolonier dyrket på TSA-agarplater, fra venstre prøve 6 og 2.

Figur 19: Gjennomsnittlig CFU/dm² fra barneavdeling.

Figur 20: Kolonier dyrket på TSA-agarplater, fra venstre prøve 3 og 8.

Figur 21: Kolonier dyrket på TSA-agarplater, fra venstre prøve 4 og 5.

Figur 22: Gjennomsnittlig CFU/dm² fra voksenavdeling.

Figur 23: Kolonier dyrket på TSA-agarplater, fra venstre før desinfisering, 10 minutter etter og 30 minutter etter.

Figur 24: Gjennomsnittlig CFU/dm² før og etter desinfisering med Nüscosept PRO.

Figur 25: Gjennomsnittlig CFU/dm² ved desinfisering med UV-stråling

Figur 26: Gjennomsnittlig CFU/dm² ved desinfisering med kalk

Figur 27: Vekst på MSA plater, fra venstre før desinfisering, etter desinfisering og påført S.aureus.

Figur 28: Positiv katalasetest.

Figur 29: fra venstre, positiv oksidasetest og negativ oksidasetest.

Tabeller

Tabell 1: Utstyr og reagenser brukt i eksperimentelt arbeid.

Tabell 2: Tillaging av TSA plater.

Tabell 3: Antall kolonier telt på TSA-agarplate ved fortykning 1:10.

Tabell 4: Antall kolonier telt på TSA-agarplate ved fortykning 1:100.

Tabell 5: Antall kolonier telt på TSA-agarplate ved fortykning 1:1000.

Tabell 6: Prøver før desinfisering.

Tabell 7: Prøver 10 minutter etter desinfisering.

Tabell 8: Katalasetest utført på kolonier som er dyrket på MSA-plater.

Tabell 9: Oksidasetest på kolonier som er oppdyrket på MSA-plater.

Tabell 10: Prøve 1 fra barneavdelingens klatrevegg ble prøvene tatt lav på trevegg midt på dagen.

Tabell 11: Prøve 7 fra barneavdelingens klatrevegg ble prøvene tatt lav på trevegg i barneavdeling ved anleggets åpningstid.

Tabell 12: Prøve 6 fra barneavdelings klatrevegg ble prøvene tatt høy på trevegg midt på dagen.

Tabell 13: Prøve 2 fra barneavdelingens klatrevegg ble prøvene tatt på lave klatretak av plast.

Tabell 14: Prøve 3 fra voksenavdelings klatrevegg ble prøvene tatt fra klatretak av plast midt på dagen.

Tabell 15: Prøve 8 fra voksenavdelingens klatrevegg ble prøvene tatt fra klatretak av plast ved anleggets åpningstid.

Tabell 16: Prøve 4 fra voksenavdelingens klatrevegg ble prøvene tatt fra lav i klatrevegg, klatretak av plast midt på dagen.

Tabell 17: Prøve 5 fra voksenavdelingens klatrevegg ble prøvene tatt høy i klatrevegg, klatretak av plast midt på dagen.

Tabell 18: CFU/cm² før desinfisering.

Tabell 19: CFU/cm² 10 minutter etter desinfisering.

Tabell 20: CFU/cm² 30 minutter etter desinfisering.

Tabell 21: CFU/dm² prøve før desinfisering.

Tabell 22: CFU/dm² etter 30 minutter stråling.

Tabell 23: CFU/dm² etter 60 minutter med stråling.

Tabell 24: CFU/dm² før desinfisering.

Tabell 25: CFU/dm² 30 minutter etter desinfisering.

Tabell 26: CFU/dm² før desinfisering.

Tabell 27: CFU/dm² 30 minutter etter desinfisering.

Tabell 28: CFU/dm² ved start.

Tabell 29: CFU/dm² etter 30 minutter.

Innholdsfortegnelse

| | |
|---|-----------|
| Forord | 3 |
| Sammendrag | 5 |
| Abstract | 8 |
| Liste over forkortelser og akronymer | 11 |
| Ordforklaringer | 13 |
| Figurer | 15 |
| Tabeller | 17 |
| Innholdsfortegnelse | 19 |
| 1. Innledning | 23 |
| 2. Teori | 24 |
| 2.1 Klatreanlegg | 24 |
| 2.1.1 Grip Klatring Sluppen | 24 |
| 2.1.2 Rengjøringsmetoder i klatresenter i dag | 25 |
| 2.1.3 Klatretak | 25 |
| 2.1.4 Klatrekalk | 26 |
| 2.1.5 Tilstedeværelse av mikroorganismer i treningsfasiliteter og offentlig rom | 26 |
| 2.2 Mikroorganismer | 27 |
| 2.2.1 Kroppens normalflora | 27 |
| 2.2.2 Stafylokokker | 27 |
| 2.2.3 Meticillinresistens | 27 |
| 2.2.4 Vekst | 28 |
| 2.3 Aseptisk teknikk: | 28 |
| 2.4 Næringsmedier | 30 |
| 2.4.1 Tryptic Soy Agar/Broth | 30 |
| 2.4.2 Mannitol Salt Agar for isolering av <i>Staphylococcus aureus</i> (MSA) | 30 |
| 2.5 Kvantifisering ved colony forming units på agarplate | 31 |
| 2.6.1 Katalasetest | 32 |
| 2.6.2 Oksidase test | 32 |
| 2.7 Desinfisering | 32 |
| 2.7.1 Nüscosept PRO | 33 |
| 2.7.2 Ultrafiolett stråler (UV-lys) | 33 |
| 3. Materialer og metode | 34 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 3.1 | Utstyr og reagenser | 34 |
| 3.2 | Fremgangsmetode..... | 35 |
| 3.2.1 | Tillaging av dyrkningsmedium | 35 |
| 3.2.1.1 | Tryptic Soy Agar | 35 |
| 3.2.1.2 | Tryptic Soy Broth | 35 |
| 3.2.1.3 | Mannitol Salt agar..... | 35 |
| 3.2.2 | Innsamling og oppdyrking av prøver | 36 |
| 3.2.2.1 | Innsamling av prøver..... | 36 |
| 3.2.2.1.1 | Forforsøk..... | 36 |
| 3.2.2.1.2 | Hovedforsøk..... | 37 |
| 3.2.2.2 | Overføring av prøve til agarplate | 40 |
| 3.2.3 | Desinfisering | 41 |
| 3.2.3.1 | Desinfisering med Nüscosept PRO i klatresenter..... | 41 |
| 3.2.3.2 | Desinfisering med UV-stråling i laboratoriet..... | 41 |
| 3.2.3.3 | Desinfisering med klatrekalk i laboratoriet | 41 |
| 3.2.4 | Finne indikasjon på tilstedeværelse av <i>Staphylococcus aureus</i> | 42 |
| 3.2.4.1 | Oppdyrking av <i>Staphylococcus aureus</i> | 42 |
| 3.2.4.2 | Mannitol Salt agar..... | 42 |
| 3.2.4.3 | Oksidase | 42 |
| 3.2.4.4 | Katalase..... | 42 |
| 4. | Resultat | 43 |
| 4.1 | Forforsøk..... | 43 |
| 4.2 | Hovedforsøk..... | 44 |
| 4.2.1 | Prøver fra barneavdelingens klatrevegg..... | 44 |
| 4.2.2 | Voksenavdelingens klatrevegg | 46 |
| 4.3 | Desinfiseringsmetoder | 48 |
| 4.3.1 | Desinfisering med Nüscosept PRO | 48 |
| 4.3.2 | Desinfisering med UV-stråling | 49 |
| 4.3.3 | Desinfisering med klatrekalk | 49 |
| 4.4 | Undersøkelser for å indikere tilstedeværelse av <i>Staphylococcus aureus</i> | 50 |
| 4.4.1 | Oppdyrking på MSA-plater | 50 |
| 4.4.2 | Katalasetest | 51 |
| 4.4.3 | Oksidasetest | 52 |
| 5 | Diskusjon | 54 |
| 5.1 | Forforsøk..... | 54 |
| 5.2 | Hovedforsøk..... | 54 |

| | | |
|----------------|--|-----------|
| 5.2.1 | <i>Feilkilder og begrensninger ved CFU metode</i> | 56 |
| 5.2.2 | <i>Faktorer i klatresenteret som kan påvirke vekstforholdene</i> | 57 |
| 5.3 | <i>Desinfisering</i> | 57 |
| 5.3.1 | <i>Desinfisering av klatrevegg med Nüscosept PRO</i> | 57 |
| 5.3.2 | <i>UV-stråling</i> | 58 |
| 5.3.3 | <i>Klatrekalk</i> | 58 |
| 5.4 | <i>Indikasjon på tilstedeværelse av Staphylococcus aureus</i> | 59 |
| 5.5 | <i>Tiltak som kan forebygge infeksjon som følge av Staphylococcus aureus</i> | 60 |
| 5.6 | <i>Anbefalinger til videre arbeid</i> | 60 |
| 6 | Konklusjon | 62 |
| | <i>Referanseliste</i> | 63 |
| Vedlegg | | I |
| | <i>Vedlegg 1. Gjennomsnittlig kimtall på TSA-plater</i> | <i>I</i> |
| | <i>Vedlegg 2. Beregning av standardavvik</i> | <i>VI</i> |

1. Innledning

Klatring er en idrett som blir stadig mer populær. Vær og klima i Norge gjør at mye av klatringen foregår innendørs. Derfor har det blitt bygget en rekke nye klatreanlegg her i landet de senere årene. Med idrettens eksplorative vekst vil det være et stort behov for nye klatreanlegg i årene som kommer. Alt som trengs for å starte med klatring i et klatresenter er klatrekalk og sko. Klatrekalk er et pulver som består av magnesiumkarbonat, kalsiumkarbonat eller en blanding av de to. Ved klatring kan det lett oppstå rifter i hud som kan medføre infeksjon. Under Covid-19 pandemien ble det stort fokus på hygiene og tiltak mot spredning av mikroorganismer. Under pandemien har det kommet en undersøkelse fra De Montfort Universitet Leicester som viser at koronavirus ikke overlever på klatretak og hender om det er klatrekalk på dem (1). Spørsmål er om klatrekalk har samme effekt på bakterier?

En pilotstudie ved Kent State University 2019 viste at tilstedeværelse av *Staphylococcus aureus* forekommer i stor grad ved flere forskjellige treningsfasiliteter (2). Bakterien er patogen og kan føre til alvorlig infeksjon om den kommer i kontakt med åpne sår, som kan oppstå på armer og hender under klatring. MRSA er en variant av *S.aureus* som har utviklet antibiotika resistens (3).

Senter for idrettsanlegg og teknologi (SIAT) ved Norges teknisk naturvitenskapelige universitetet (NTNU) er en virksomhet som utforsker temaer både angående anleggene der idrett utøves og teknologi knyttet til idretter. Klatreanlegg er et av deres fokusområde hvor de er opptatt av mikrobiell vekst og utvikling av desinfiseringsmetode for slike klatreanlegg (4). Det er valgt å sette søkelys på mikrobiell vekst på overflater og desinfisering. Dette har utledet følgende problemstillinger.

Hvordan er miljøet for mikrobiell vekst i et klatresenter?

*Er det tilstedeværelse av *Staphylococcus aureus* på klatretak?*

Hvilke desinfeksjonsmetoder er best egnet i en klatrevegg?

2. Teori

2.1 Klatreanlegg

Klatring er blant de idrettene som har størst vekst i Norge, det er en konkurranseidrett og en treningsaktivitet. Utfordrende vær og klima i Norge har ført klatringen innendørs og det er bygget mange nye klatreanlegg de senere år og det er et stort behov for flere (5). Buldring er en type klatrestil hvor det klatres uten tau. Buldring innendørs utføres på vegger som er bygd for formålet. Buldrevegger er bygd opp med ulike vinkler og klatretak av forskjellig størrelse, farge og fasong. Fallsone sikres med crash pads, som er tjukke madrasser (6).

2.1.1 Grip Klatring Sluppen

Anlegget på Sluppen åpnet i juni 2020 og er en av Norges mest moderne buldrehaller. Grip Sluppen er et arealeffektivt klatresenter og har et godt tilbud til erfarne klatrere, nybegynnere og i tillegg en egen barneavdeling (7). Figur 1 viser en buldrevegg ved Grip Klatring sitt anlegg på Sluppen i Trondheim.



Figur 1: Buldrevegg ved Grip Klatring Sluppen.

2.1.2 Rengjøringsmetoder i klatresenter i dag

Klatreveggen på Grip Klatring på Sluppen rengjøres ved å børste av kalk som setter seg på klatretakene. Det brukes klorin for å tørke bort blod fra klatretak og vegg. Det brukes støvsuger for å fjerne kalk som faller ned på gulvet og madrassen. Med noen ukers mellomrom blir klatretak tatt ned fra veggen og rengjort med høytrykkspyler uten bruk av kjemikalier. Tidligere er det prøvd ut ultralyd for rengjøring, dette ga ikke like gode resultater som høytrykksspyler og er tidkrevende.

2.1.3 Klatretak

De to mest brukte materialer i klatretak er polyuretan (PU) og polyester (PE) (8). Polyester er sterk siden monomer-enhetene knyttes sammen ved sterk esterbinding, som gjør at PE tåler høy temperatur og trykk. PE har høyt smeltepunkt på 265 °C, klatretak tåler varme, lys og fuktighet veldig godt (9).

Sammenlignet med polyester er polyuretan et lettere materiale som er mindre utsatt for avskaling. Polyuretan er mer fleksibelt og kan monteres på vegg som ikke er helt flate. Klatretak laget av polyuretan koster mer enn klatretak av polyester. Polyuretan benyttes ikke utendørs, da det kan ta skade av sol/UV-stråling og nedbør (8).

I tillegg til polyester og polyuretan brukes det noe klatretak av tre. Tre inneholder antimikrobielle forbindelser og det binder opp vann som bakterier er avhengig av for å vokse (10). Klatretak av tre har en glattere overflate, i tillegg er de dekt med maling og pigmenter som beskytter overflaten mot fuktighet og sopp. Maling inneholder flere additiver, og en av dem er fungicid som motvirker svertesopp og alger på overflaten, noe som kan motvirke bakterier (11).

2.1.4 Klatrekalk

Klatrekalk er et pulver som er bestående av magnesium karbonat, kalsiumkarbonat eller en blanding av de to. Under klatringen får hendene svette og fuktighet som medfører dårlig friksjon mellom hendene og klatretak. Dette problemet kan løses takket være klatrekalken som skaper mer tørre miljø og mer fraksjon mellom hendene og klatretak ved å lett absorbere vann. Klatrekalkene kan komme på ulike former, pulverisert kritt, krittball, krittblokk og flytende kritt. Men innholdet er nesten det samme (12). Det blir undersøkt to ulike typer kalkkritt. Den ene var Grip Climbing Chalk som er krittblokk, mens den andre var OCUN Chalk Ball som er krittball. Begge produkter er laget av magnesium karbonat (13).



Figur 2: Klatrekalk hjelper klatreren å skape friksjon mellom hender og kalk.

Magnesium karbonat ($MgCO_3$) er et hvit og tungt løselig uorganisk stoff. Den dannes basisk magnesiumkarbonat ved reaksjon med vann $4Mg.CO_3.Mg(OH)_2.4H_2O$ eller $5H_2O$ såkalt magnesia alba. Under Covid-19 pandemien kom en undersøkelse ved De Montfort University Leicester som viste at Covid-19 viruset ikke overlever i klatrekalk (1). det fleste mikroorganismer trives godt ved nøytral pH-verdi rundt 7, og siden kalken er basisk og har høy pH-verdi, kan dette påvirke veksten til mikroorganismer (14).

2.1.5 Tilstedeværelse av mikroorganismer i treningsfasiliteter og offentlig rom

Det er lite forskning på mikroorganismers tilstedeværelse i klatresentre i dag. Det er derimot gjort undersøkelser på andre treningsanlegg og offentlige institusjoner. En bacheloroppgave ved NTNU våren 2021, gjorde funn i kunstgresset i Flatåshallen i Trondheim, det ble funnet 4650 – 20500 CFU/dm² (15). Ved en undersøkelse utført på gulv i soverom ved Ullevål sykehus ble det funnet opp mot 500 CFU/dm² (16). Ved en undersøkelse fra Universitetet i Brussel ble det gjort undersøkelser av gulv i kontorarealer som viste opp mot 4000 CFU/dm² på teppelagt gulv (17).

2.2 Mikroorganismer

2.2.1 Kroppens normalflora

Kroppens normalflora er de mikroorganismene som forekommer på hud og slimhinner. Antall arter og antall bakterier varierer på ulike steder av kroppen. Det er vekstforholdene på de ulike delene av kroppen som avgjør hvilke og hvilken mengde bakterier som vokser. Blant bakteriene i hudens normalflora er *Staphylococcus epidermidis* også kalt hvite stafylokokker, en bakterie som vanligvis er harmløs, men som kan forårsake infeksjon hos mennesker med nedsatt infeksjonsforsvar. *Staphylococcus aureus* også kalt gule stafylokokker er endel av hudens normalflora hos endel personer. Det er en patogen bakterie som kan føre til infeksjon dersom huden er skadet (18).

2.2.2 Stafylokokker

Slekten stafylokokker er sfæriske, grampositive bakterier som forekommer i tetraeder, klaser og hauger. Stafylokokker er veldig robuste bakterier, de lever både under aerobe og anaerobe forhold, de tåler inntørking og kan formere seg i temperaturer fra 10-45 °C (19). Stafylokokker produserer en rekke giftstoffer og enzymer. Koagulase er hovedenzymet som produseres av bakteriene, et enzym som får blodet i mennesker til å koagulere (19). De viktigste artene innen stafylokokker slekten er *Staphylococcus aureus*, og de hvite stafylokokkene *Staphylococcus epidermidis* og *Staphylococcus albus*. Hos friske mennesker forekommer *Staphylococcus aureus* på huden, i nesen, i svelget og endetarmen. Selv om den er endel av normalfloraen er *Staphylococcus aureus* en av de viktigste patogene artene. *Staphylococcus aureus* kan forårsake infeksjon, ved å invadere deler av kroppen som har en annen normalflora gjennom sår i huden (19).

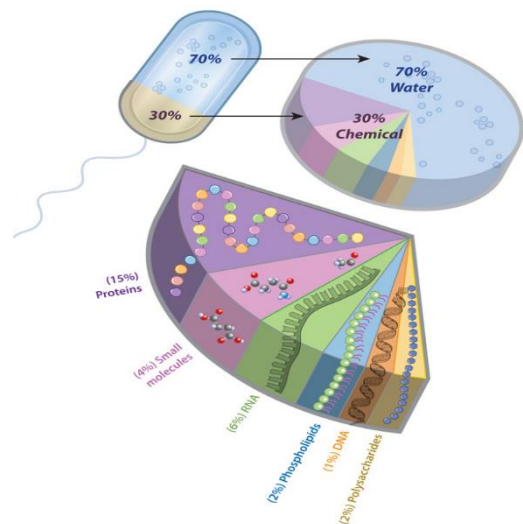
2.2.3 Meticillinresistens

Meticillinresistens hos *Staphylococcus aureus*, forkortes til MRSA er resistente mot viktige typer antibiotika. MRSA medfører sjeldent sykdom, men kan føre til alvorlig infeksjon hos mennesker med sterkt nedsatt infeksjonsforsvar. Risikoen for alvorlig sykdom som følge av infeksjon er som regel ikke større for MRSA enn for andre stafylokokker, men den må behandles med spesielle typer antibiotika. Det er viktig å begrense spredning av MRSA til helseinstitusjoner, spredning vil gjøre den mer resistent og behandling blir mindre effektiv og dyrere. De viktigste tiltakene for å begrense spredning er god håndhygiene, rense/dekke til sår og rifter i huden, unngå deling av hygieneprodukter og hoste i albuen (20).

2.2.4 Vekst

Mikrobiell vekst påvirkes av mange ulike faktorer. Det finnes både fysiske og kjemiske faktorer som påvirker mikrobiell vekst. Det er ulike fysiske vekstfaktorer som kan påvirke vekst til mikroorganismer som for eksempel temperatur og PH. Ulike mikroorganismer vokser ved ulik temperatur. De fleste mikroorganismer vokser ved intervallet 10-50°C, men noen kan vokse ved lave temperaturer under 0°C, mens andre kan vokse ved høy temperatur over 100°C (21).

Mikroorganismer vokser når pH-verdien er gunstig og for det fleste ligger den rundt 7 (21). De fleste mikroorganismer er bygd opp av samme kjemiske grunnstoffer. Noen er essensielle for kulturvekst som for eksempel vann, nitrogen, karbon, energi og makro-mikronæringsstoffer. En bakteriecelle består av 70% vann og 30% kjemiske stoffer som vist i Figur 3 (22). Kjemiske stoffer er proteiner, lipider, polysakkarider, lipopolysakkarider, DNA og RNA. Karbon er det sentrale grunnstoffet i mikroorganismer og utgjør omtrent 50% av tørrvekten til en celle. Oksygen er nest største grunnstoff som utgjør 18%, nitrogen utgjør 14% og hydrogen 8.5% (21).



Figur 3: En bakterie celle består av 70% vann og 30% kjemikalier.

2.3 Aseptisk teknikk:

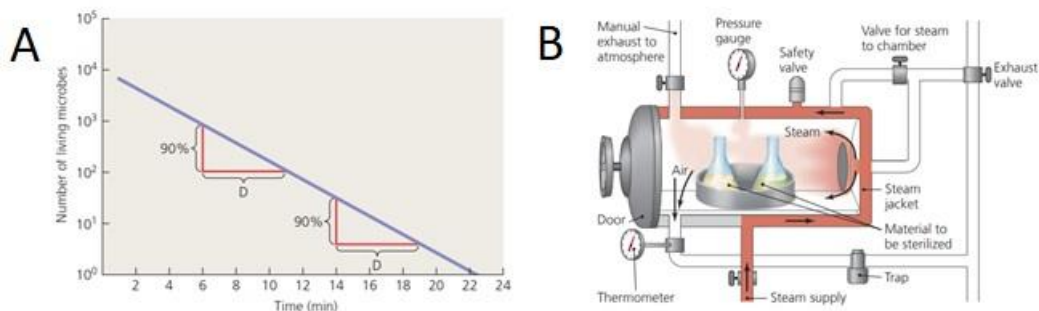
Miljøet er fullt av mikroorganismer i luft, jord, vann og menneskekroppen. En vellykket cellekultur er avhengig av å holde cellene adskilt fra forurensninger av mikroorganismer fra miljøet. Kilder som kan forårsake kontaminering kan være ikke sterilt utstyr, medier, reagenser, luftbårne partikler og skitne arbeidsflater. Aseptisk teknikk brukes for å lage en barriere mellom mikroorganismer og cellekulturen, det gir resultater som er mer nøyaktige og presise. For å ivareta aseptisk teknikk bør det jobbes i sterilskap, arbeidsbenken må være rengjort med 70% etanol før og under arbeid. Om det søles må dette tørkes opp umiddelbart og overflaten må desinfiseres på nytt. Arbeidsbenken skal kun inneholde elementer som er nødvendig for det arbeidet som skal utføres (23). Alt utstyr som skal brukes til og med hansker, må også desinfiseres med sprit flere ganger under arbeid. Særlig under poding og inokulering. Podedøsen skal glødes mellom hver gang den brukes. Lokket av medium-platene må desinfiseres med bunsenbrenner hver gang det åpnes og lukkes (24).

Håndsprit

Etanol (C_2H_5OH) og isopropanol ($CH_3CH(OH)CH_3$) er de vanligste desinfeksjonsmiddel blant alkoholer. De virker effektivt mot bakterier og sopp, men endosporer er resistent mot alkoholer. Alkoholer denaturerer proteiner og kan oppløse membran (21). Denaturering av proteiner krever vann til stede. Derfor brukes alltid 70% etanol i desinfiseringen istedenfor pure etanol eller 96% etanol. Høy konsentrasjon fører til lav vannaktiviteten i omgivelsen slik at vann inni cellen beveger seg ut av cellen. Noe som gjør cellen mer resistent mot antimikrobielle forbindelser enn celle med høy vannaktivitet (25).

Autoklav

Varme er en gammel og mer vanlig metode for mikrobiell kontrollvekst. Høy temperatur medfører denaturering av bakteriens proteiner, til og med oppløsning av cellemembran og celleveggen. I tillegg kan den ødelegge nukleinsyre til mikroorganismer. Når mikroorganisme utsettes for høy temperatur, dør ikke hele populasjonen med engang. Men celledød følger en logaritmisk funksjon der dødsraten er konstant over tiden for en gitt temperatur. Økende temperatur fører til raskere varmedrap. Tiden som kreves for å få en ti ganger reduksjon i populasjonen ved en gitt temperatur kalles desimal reduksjonstid (D) som Figur 4A viser (25). Autoklav er et steriliserings instrument hvor steriliseringen foregår under høy fuktig varme og trykk. Fuktig varme er mer effektiv enn tørr varme siden vann overfører varmeenergi svært godt. Typisk steriliseringsprosess er ved $121\text{ }^\circ\text{C}$ og trykk på 2 bar i 15-20 minutter. Figur 4B viser en autoklav, den skal ikke åpnes før temperatur blir under $70\text{ }^\circ\text{C}$ og trykk null (25). Autoklaven brukes for å sterilisere næringsmedium og utstyr som skal brukes under eksperimentet arbeidet ved et mikrobielt laboratorium. Ved steriliseringen kan kontamineringen unngås fra eksterne kilder, og at kontamineringen blir bare fra den prøven som skal undersøkes.



Figur 4: Desimalreduksjonstid (D) som mål av mikrobiell dødsrate og autoklav.

2.4 Næringsmedier

Kulturmedier inneholder næringsmidler som er nødvendig for bakterier sin vekst. Det brukes spesifikke konsentrasjonsforhold av næringsstoffer for syntese av cellemateriale. Høy eller lav konsentrasjon kan resultere i at næringsstoffene virker veksthemmende eller toksiske. Det finnes ulike typer næringsmedier. Den ene er definerte medier, og eksakte kjemiske sammensetning er kjent. I tillegg settes kjemiske rene stoffer hver for seg som for eksempel *Glukose mineralsalt agar*. Den andre er komplekse medier som er motsatt av definert medier. Den tredje typen er anrikningsmedier. Dette hører til komplekse medier, men de inneholder ekstra næring som for eksempel blod. Dette benyttes hvis man er på jakt etter en spesiell gruppe bakterier som for eksempel fenolmedium for dyrkning og isolering av fenoloksiderende bakterier fra jord eller Mannitol Salt Agar som brukes spesifikt for dyrkning av stafylokokker (21).

2.4.1 Tryptic Soy Agar/Broth

Tryptic Soy Agar er et generelt medium som gir vekst av de fleste mikroorganismer, både aerobe og fakultative anaerobe mikroorganismer. Tryptic Soy Broth består av samme komponenter som TSA, men mangler agar. Agar gjør at mediet stivner til fast form, TSB er væskeform. TSB er tilgjengelig som pulver produkt, og inneholder kaseinpepton, soyapepton, natriumklorid, dikaliumhydrogenfosfat og glukose (26, 27).

2.4.2 Mannitol Salt Agar for isolering av *Staphylococcus aureus* (MSA)

Mannitol Salt Agar er et kompleks, rikt og selektivt medium som kun gir vekst på stafylokokker. Næringsmediet inneholder blant annet mye salt, mannitol (sukkeralkohol) og en farge indikator. MSA er selektivt for stafylokokker pga. saltinnhold. Stafylokokker har mer toleranse for å vokse i et slikt miljø sammenlignet med andre bakterier som ikke tåler det. *Staphylococcus aureus* har evne til å spalte mannitol, endre pH og forandre fargen til næringsmediet fra rosa til gul. Derfor kalles de gule stafylokokker, men hvis stafylokokker ikke kan spalte mannitol, så blir det ingen endring på næringsmediets farge. Figur 5 viser tre petriskåler, til venstre er rent MSA-medium, i midten MSA-medium med *Staphylococcus aureus*, til høyre MSA-medium med *Staphylococcus epidermidis* (14).



Figur 5: MSA som rent medium, med *Staphylococcus aureus* og *Staphylococcus epidermidis*.

2.5 Kvantifisering ved colony forming units på agarplate

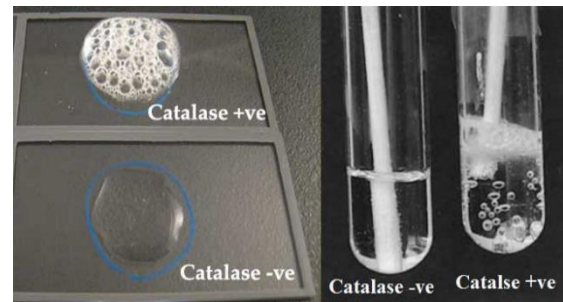
Det er flere metoder for å kvantifisere bakteriekulturer. Noen er enkle å utføre og trenger enkelt utstyr som er tilgjengelig på de fleste mikrobiologiske laboratorier som for eksempel colony forming units (CFU). Kolonidannende enhet (Colony Forming Units, CFU) er et estimat av antall levedyktige bakterier i en mikrobiell prøve. Platespredningsteknikk er en metode hvor en prøve med kjent mengde væske og ukjent mengde celler, spres utover en agarplate og inkuberes ved 37°C. Etter et døgn kan antall kolonier på agarplaten telles. Det antas at alle celler i en koloni stammer fra en og samme celle. Ved å multiplisere antallet kolonier med fortynningsfaktor kan det beregnes CFU/mL i opprinnelig prøve (28).

2.6 Forsøk på å finne indikasjoner på tilstedeværelse av *Staphylococcus aureus*

Det kan bli utført katalase- og oksidasetester for å undersøke hvilke enzymer bakteriene kan produsere. Disse testene kan ikke slå fast tilstedeværelse av *Staphylococcus aureus* med sikkerhet, men gi en indikasjon. Dersom det er tydelige indikasjoner på tilstedeværelse av *Staphylococcus aureus*, kan det vurderes ytterligere undersøkelser med PCR for å identifisere bakterien med sikkerhet.

2.6.1 Katalasetest

Katalasetesten er en metode for å undersøke om en bakterie produserer katalase, noen bakterier er katalasepositive, mens andre er katalasenegative. Hvis bakterien omdanner hydrogenperoksid via enzymet katalase til vann og oksygen, så er den katalasepositiv. Hvis ikke så er bakterien katalasenegativ. *Staphylococcus aureus* bryter ned



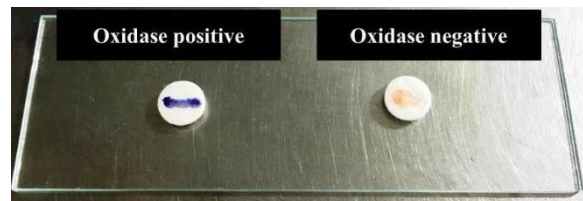
Figur 6: Dannelse av O₂(g) ved katalase tilstedeværelse.

H₂O₂ til vann og oksygen ved hjelp av katalase. Katalase beskytter bakterien mot hydrogenperoksid som er dødelig for bakterien. Ligning 3 viser reaksjonen når *Staphylococcus aureus* utsettes for hydrogenperoksid. Figur 6 viser hvordan en katalasetest ser ut ved at det bobler opp oksyngass ved katalasepositiv bakterie (29, 30).



2.6.2 Oksidase test

Oksidasetest viser om en bakterie inneholder proteinet cytokrom c i rommet mellom mitokondriens indre og ytre membran. Den viktigste funksjonen for cytokrom c er som elektronbærer i den aerobe respirasjonsskjeden. De fleste stafylokokker gir grå/hvit farge med 1 %



Figur 7: Oksidasetest, oksidase positiv er blå farge, mens oksidase negativ er grå/hvit farge.

tetramethyl-p-fenylendiamin, bortsett fra *Staphylococcus sciuri* som gir blå farge. Figur 7 viser oksidase positiv bakterie til venstre som skifter til blå farge, fargen skifter i løpet av 10 sekunder. Til høyre er oksidasenegativ bakterie som beholder sin opprinnelige farge (31, 32).

2.7 Desinfisering

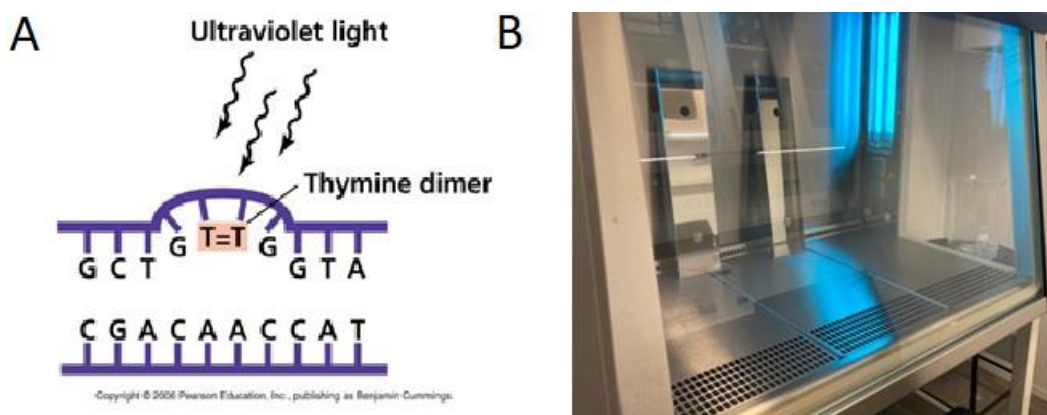
Desinfisering er en prosess hvor bakterier drepes. Det finnes to typer desinfiseringsmetoder. Den ene er fysisk metode, mens den andre er kjemisk metode. Valg av metode baseres på hva slags materialet som skal desinfiseres. Noen materialer tåler varme, men ikke kjemikalier. Noen materialer tåler spesifikke kjemikalier, men ikke varme. Derfor er det viktig å velge riktig metode.

2.7.1 Nüscosept PRO

Dette er et vaskemiddel som brukes i hovedsak til desinfisering av svømmebassenger og sykehus. Det er veldig effektivt og sensitivt mot bakterie, sopp, og virus. Det kan brukes på menneskelig hud for å forbygge fotsopp og hygienisk håndvask. Det er viktig å bruke riktig konsentrasjon av vaskemiddel. En overdose kan resulterer i negativ effekt og kan ødelegge selve materiale og redskapet under desinfisering. Det brukes vanligvis konsentrasjon på 1-2%, men dette kommer an på hvilken type material som skal desinfiseres. For høy konsentrasjon kan ødelegge noen typer av materialer. 100 g Nüscosept PRO inneholder 10 g didecyldimetylammmoniumklorid og 10 g benzalkoniumklorid. Begge kjemiske stoffene brukes som desinfeksjonsmiddel (33).

2.7.2 Ultrafiolett stråler (UV-lys)

UV-lys er ikke-ioniserende stråler og har bølgelengde som ligger i ca. 10-400nm. Noe som er mindre enn bølgelengden til synlig lys, men større enn ioniserende stråler som gammastråler (γ -stråler). Derfor har UV-lys mindre energi enn ioniserende stråler. UV-stråler skader DNA til mikroorganismer ved å skape mutasjonen eller feil replikasjon av DNA. Dette resulterer i at det dannes et bånd mellom to nabotyminebaser i DND-templatet. Noe er såkalt tymindimerne som Figur 8A viser. Dette medfører stopp av replikasjon og amplifisering av DNA. Og cellen dør etter hvert. DNA absorberes UV-lys best ved en bølgelengde på 260 nm. UV-lys brukes mest ved desinfisering av overflaten eller luft. I tillegg trenger den ikke gjennom glass, papir og tekstiler (21, 25). Figur 8B viser UV-skap på laboratoriet ved NTNU Kalvskinnnet.



Figur 8: En skadelig tymindimer pga. UV-lys, UV-skap.

3. Materialer og metode

Dette kapitlet beskriver materialer og metode som er benyttet ved oppdyrking av mikroorganismer og screening av *Staphylococcus aureus*. Det eksperimentelle arbeidet er gjennomført i laboratorium på NTNU Kalvskinnet og Grip Sluppen.

3.1 Utstyr og reagenser

Tabell 1 gir en oversikt over utstyr og reagenser som er benyttet i arbeidet. I tillegg ble det benyttet generelt laboratorieutstyr.

Tabell 1: Utstyr og reagenser brukt i eksperimentelt arbeid.

| Utstyr og reagenser | Produsent | Produktnummer |
|--------------------------------|------------------------|---------------|
| Autoklav | TOMY | SX-700E |
| Inkubator | VWR | 02290 |
| Sterilskap | VWR | SAFE 2020 |
| Kjølerom | Fresvik | |
| Lysmikroskop | Olympus | |
| Vortex | Combi-Spin | FVL-2400N |
| Magnetrører med varme | Heidolph | MR 3001K |
| Analysevekt | Fisher Scientific | |
| Automatpipette | Thermo | U74284 |
| Sprayflaske (500 mL) | VWR | 215-4232 |
| Tryptic Soy Broth | Sigma-Aldrich | 22092-500G |
| Agar | VWR Chemicals | 20767.298 |
| Mannitol Salt agar | Fisher Scientific | 12948244 |
| Etanol (70%) | | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Microbiologics | 0179 |
| 3M Swab-Samplers | 3M Norge | RS9601LET |
| Petrisåler | VWR | 21PS1840 |
| Podenål | VWR | 612-9355 |
| Drigalskispatel | Frederiksen Scientific | 050610 |
| Steril trepinne | LP ITALIANA SPA | 112298 |
| Hydrogenperoksid (30%) | VWR Chemicals | 23622.298 |
| Whatman® filter paper, Grade 1 | Sigma-Aldrich | WHA1001055 |
| Hemocytometer-Bürcher | VWR Chemicals | 631-1094 |
| Lynlåspose 230x320 | Staples | 208760 |
| Tryptan Blue | Sigma-Aldrich | 93595-50ML |
| Immersjonsolje | Sigma-Aldrich | 56822-50ML |
| 1%tetramethyl-p-fenylendiamin | Sigma-Aldrich | 202-831-6 |
| Coagulase Test (slide) | Sigma-Aldrich | 75832-1PAK-F |
| Pipettespisser 0,1-200 µL | VWR | 89041-426 |
| Pipettespisser 200-1000 µL | VWR | |
| Mikrosentrifugerør 1,5 mL | VWR | 20170-038 |
| PH-meter | MeterLab | PHM210 |
| Sentrifugerør | VWR | |
| Flameboy (bunsenbrenner) | IBS | 145000 |
| Grip Climbing Chalk | | |
| Chalk Ball | OCUN | |

3.2 Fremgangsmetode

3.2.1 Tillaging av dyrkningsmedium

3.2.1.1 Tryptic Soy Agar

Tryptic Soy Broth (15 g) og Agar (7.5 g) ble veid ut og overført til en PYREX-flaske (1000 mL) som ble fylt opp til 500 mL merket med destillert vann. Det ble tilsatt en magnet i flasken som ble plassert på en magnetrører med varme. Varmen ble satt til ca. 100 °C og magnetrøreren ble justert til max. Flasken sto på magnetrøreren til pulveret var helt løst. pH ble målt til 7,38. Flasken ble autoklavert (121 °C, 15 minutter). Etter autoklaving ble flasken med TSA tatt med til sterilbenk hvor innholdet ble fordelt på 20 petriskåler. Petriskålene sto på benken til stoffet hadde stivnet. Petriskålene ble stablet opp ned lagvis og en lynlåspose ble tredd over. Petriskålene sto på benken i 24 timer, lynlåsposen ble lukket og satt på kjølerom for oppbevaring (34). TSA ble laget i 5 omganger, det ble laget totalt 340 plater, Tabell 2 viser hvilke datoer og antall plater som ble laget.

Tabell 2: Tillaging av TSA plater.

| Dato | 21. mars | 28. mars | 4. april | 21. april | 25. april |
|---------------|----------|----------|----------|-----------|-----------|
| Antall plater | 40 | 120 | 40 | 60 | 80 |

3.2.1.2 Tryptic Soy Broth

Tryptic Soy Broth (6 g) ble veid ut og overført til en dyrkningskolbe som ble fylt opp til 200 mL merket med destillert vann. Det ble tilsatt en magnet til kolben som ble plassert på en magnetrører med varme. Varmen ble satt til ca. 100 °C og magnetrøreren ble justert til max. Kolben sto på magnetrøreren til pulveret var helt løst. pH ble målt til 7,48. Dyrkningskolben ble autoklavert (121 °C, 15 minutter) (26).

3.2.1.3 Mannitol Salt agar

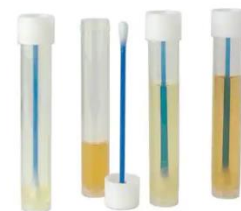
Mannitol Salt agar (55.5 g) ble veid ut og overført til en PYREX-flaske (1000 mL), det ble fylt destillert vann opp til 500 mL merket. Det ble tilsatt en magnet i flasken som ble plassert på en magnetrører med varme. Varmen ble satt til ca. 100 °C og magnetrøreren ble justert til max. Flasken sto på magnetrøreren til pulveret var helt løst. pH ble målt til 7,32. Flasken ble plassert i autoklav (121 °C, 15 minutter). Innholdet i flasken ble fordelt på 23 petriskåler i sterilskap. Petriskålene fikk stå til agaren stivnet. Petriskålene ble stablet opp ned lagvis og en lynlåspose ble tredd over. Petriskålene sto på benken i 24 timer, lynlåsposen ble lukket og satt på kjølerom for oppbevaring (35). MSA platene ble laget 28. mars.

3.2.2 Innsamling og oppdyrking av prøver

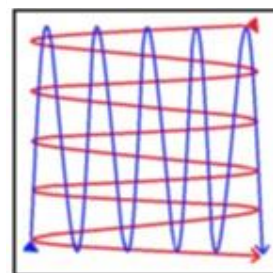
3.2.2.1 Innsamling av prøver

Prøver ble samlet inn vha. 3M Swab-Samplers som vises i Figur 9. Svaberen består av en steril bomullspinne og et rør med transportvæske.

Prøver ble samlet inn ved Grip Klatring på Sluppen. Det ble brukt en ramme på 10x10 cm som ble desinfisert med sprit før hver prøve. Rammen ble lagt på prøvestedet og svaberen ble ført i et bestemt sikksakk mønster, horisontalt og vertikalt som Figur 10 viser. Svaberen ble plassert i beholderen med transportvæske og transportert til laboratoriet for videre undersøkelser. Det ble brukt svabere med både 1 mL og 10 mL transportvæske. Prøver ble transportert direkte fra Sluppen til NTNU Kalvskinnset og satt på kjølerom for oppbevaring. Det ble startet med å overføre prøver til agarplater umiddelbart etter ankomst til Kalvskinnset. Pga. et stort antall prøver kunne det gå opp mot 3 timer fra prøvetaking til prøver ble overført til agarplate. Alle prøver fra klatresenteret er tatt på denne måten.



Figur 9: 3M Swab-Samplers.



Figur 10: Svaberen ble sveipet i et sikksakk mønster, horisontalt og vertikalt.

3.2.2.1.1 Forforsøk

Det ble utført et forforsøk 24. mars hvor det ble samlet inn 13 prøver fra klatresenteret. Prøvene ble tatt fra tilfeldige steder i klatreanlegget, 7 fra barneavdelingen og 6 fra voksenavdelingen. Det ble brukt svabere med 1 mL transportvæske. Fra hvert rør med transportvæske og prøvemateriale ble det vha. automatpipette og sterile pipettespisser tatt ut prøve (100 µL) som ble overført til 13 Tryptic Soy Agarplater. Suspensjonen ble spredt utover agarplaten vha. en Drigalskispattel i glass, Drigalskispattelen ble dynket i etanol 70% og flambert vha. flameboy mellom hver overføring.

Det ble laget fortyninger av alle rør med suspensjon. Det ble tatt ut suspensjon (100 µL) fra hvert rør og overført til sterile mikrosentrifugerør (1,5 µL) vha. automatpipette og sterile pipettespisser. Det ble overført sterilt destillert vann (900 µL) til det samme sentrifugerøret. Sentrifugerørene ble blandet godt på vortex. Det ble overført suspensjon (100 µL) fra de nye sentrifugerørene til TSA-plater etter samme fremgangsmetode som beskrevet over.

Det ble laget en fortykning av suspensjonen i de nye mikrosentrifugerørene etter samme metode som beskrevet ovenfor. Det ble 13 agarplater med 1:10 fortykning, 13 med 1:100 og 13 med 1:1000.

TSA-platene ble plassert i inkubator (37 °C), det ble telt opp kolonier på hver agarplate etter 24 og 48 timer.

3.2.2.1.2 Hovedforsøk

Figur 11 illustrerer en oversikt over klatresenteret. Tallene med hvit skrift viser hvor i lokalet prøvene er hentet. Prøve 1, 2, 6 og 7 er tatt i anleggets barneavdeling. Prøve 3, 4, 5 og 8 er tatt i anleggets voksenavdeling. Figur 12, Figur 13, Figur 14, Figur 15 og Figur 16 viser klatrevegger hvor prøver er hentet. Sifferet angir prøvenummer og bokstav angir parallellnummer. Det er benyttet svabere med 10 mL transportvæske i dette forsøket.



Figur 11: Oversikt over klatresenter, tall i hvit skrift viser hvor prøvene er samlet inn.

Figur 12 viser klatrevegg med klatretak av tre. Prøve 1 og 6 er tatt 4. april i tidsrommet 14:00 – 15:00. Prøve 7 er tatt 5. april i tidsrommet 08:00 – 08:15.



Figur 12: Klatrevegg av tre i barneavdeling.

Figur 13 og Figur 14 viser klatrevegg med klatretak av plast. Prøve 2 er tatt 4. april i tidsrommet 14:00 – 15:00.



Figur 13: Klatrevegg av plast i barneavdeling.



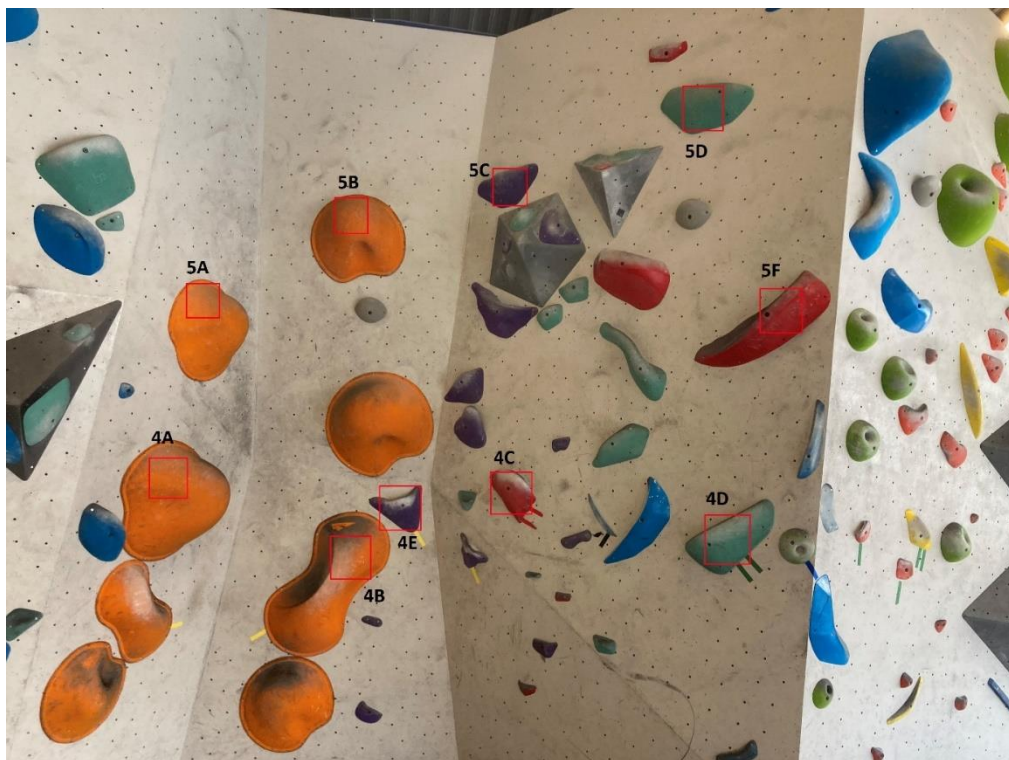
Figur 14: Klatrevgg av plast i barneavdeling.

Figur 15 viser klatrevgg med klatretak av plast fra anleggets voksenavdeling. Prøve 3 er tatt 4. april i tidsrommet 14:00 –15:00. Prøve 8 er tatt 5. april i tidsrommet 08:00 – 08:15. Klatretak er montert 31. mars.



Figur 15: Klatrevgg i voksenavdeling.

Figur 16 viser klatrevegg med klatretak av plast fra anleggets voksenavdeling. Prøve 4 og prøve 5 er tatt 4. april i tidsrommet 14:00 – 15:00. Klatretak er montert 28. februar.



Figur 16: Klatrevegg i voksenavdeling.

3.2.2.2 Overføring av prøve til agarplate

Beholderen med transportvæske ble blandet på vortex. Suspensjonen (100 µL) ble overført til TSA-plate ved bruk av automatpipette og sterile pipettespisser. Suspensjonen ble spredt utover vha. Drigalskispattel i glass. Drigalskispattel ble dynket i etanol (70%) og flambert mellom hver overføring. Lokket på hver TSA-plate ble flambert før det ble tatt av og etter det ble lagt på. TSA-platene ble stablet opp ned, lynlåspose tredd over og plassert i inkubatorskap (37 °C). Det ble telt antall kolonier på hver agarplate etter 24 og 48 timer.

3.2.3 Desinfisering

Forsøket med Nüscosept PRO er utført i klatresenteret. Forsøkene med UV-lys og klatrekalk er utført i laboratoriet.

3.2.3.1 Desinfisering med Nüscosept PRO i klatresenter

Nüscosept PRO (5 mL) ble målt ut vha. målesylinder og overført til en sprayflaske. Springvann (495 mL) ble målt ut vha. målesylinder og overført til en sprayflaske. Sprayflasken ble vendt opp ned en rekke ganger før bruk.

Desinfisering ble utført på samme punkt i klatresenteret som prøve 3 og 8 i hovedforsøket. Desinfisering ble utført 26. april i tidsrommet 11:00–11:30. Forsøket ble utført på 5 klatretak, som vist i Figur 15. Det ble påført desinfiseringsmiddel ved å spraye direkte på klatretakene, det ble sprayet på til klatretaket var dekt med desinfiseringsmiddel. Det ble tatt prøve av hvert klatretak før desinfisering ble utført. Det ble tatt prøver på nytt 10 minutter og 30 minutter etter desinfisering.

3.2.3.2 Desinfisering med UV-stråling i laboratoriet

Tre klatretak av plast ble kontaminert ved å gnu hender mot overflaten i omtrent 2 minutter. Klatretakene ble plassert i sterilskap og det ble tatt prøve av hvert klatretak før UV-lys ble skrudd på. Det ble ikke brukt ramme på 10x10 cm under prøvetaking pga. klatretakenes størrelse. Det ble tatt prøve ved å sveipe svaberen over hele klatretakets overflate. UV-lyset ble slått på og etter 30 minutter ble UV-lyset skrudd av, og nye prøver ble tatt av klatretakene. UV-lyset ble på nytt skrudd på og etter ytterligere 30 minutter ble UV-lyset skrudd av, og det ble tatt nye prøver av klatretakene.

3.2.3.3 Desinfisering med klatrekalk i laboratoriet

Tre klatretak av plast ble kontaminert ved å gnu hender mot overflaten i omtrent 2 minutter. Klatretakene ble plassert i et avtrekkskap, det ble tatt prøver av overflaten på klatretakene på samme måte som i forsøket med UV-lys. Klatrekalk ble knust til pulver og påført klatretakene ved å gnu det mot overflaten. Det ble tatt prøver av overflaten etter 30 minutter. Det ble utført to ganger med to ulike sorter klatrekalk: OCUN Chalk Ball og Grip Climbing Chalk. Det ble i tillegg gjort en blindprøve hvor det ikke ble påført klatrekalk.

3.2.4 Finne indikasjon på tilstedeværelse av *Staphylococcus aureus*

3.2.4.1 Oppdyrking av *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (1 pellet) ble plassert i et sterilt sentrifugerør og løst opp i sterilt vann vha. steril trepinne. Løsningen ble blandet på vortex til hele pelleten var løst opp. Løsningen ble overført til en dyrkningskolbe som inneholdt Tryptic Soy Broth (200 mL). Dyrkningskolben ble inkubert (37 °C, 24 timer).

3.2.4.2 Mannitol Salt agar

Kolonier fra Tryptic Soy Agar-plater ble overført til Mannitol Salt Agar-plater vha. podenål. TSA-plater ble satt på sterilbenk. Hver MSA-plate ble delt inn i 4 sektorer. Podenål ble sterilisert ved å flambere til den glødet og avkjølt ved å holde den i luft i ca. 10 sekunder. Podenålen ble sterilisert mellom hver koloni som ble plukket opp fra TSA-plater. Hver koloni ble streket ut på en sektor av MSA-plate. MSA platene ble plassert i inkubatorskap (37 °C). Det ble kontrollert hvor mange sektorer som hadde endret farge fra rød til gul etter 24 timer og 48 timer. Det ble overført kolonier til totalt 10 MSA-plater.

Staphylococcus aureus kulturen ble overført fra dyrkningskolben til MSA plater og streket ut vha. podenål. Totalt 13 plater ble inokulert med *Staphylococcus aureus* kulturen.

3.2.4.3 Oksidase

Filterpapir ble påført 1% tetrametyl-p-fenylendiamin (1 dråpe). En koloni ble overført fra en TSA og MSA-plate vha. podenål. Det ble utført 10 tester av prøver hentet fra klatresenter. Det ble utført 5 tester på oppdyrket *Staphylococcus aureus*.

3.2.4.4 Katalase

En koloni ble overført fra TSA og MSA-plate til et sterilt urglass. 10% hydrogenperoksid (1 dråpe) ble dryppet på kolonien. Det ble utført 15 tester av prøver samlet inn fra klatresenter. Det ble utført 5 tester på oppdyrket *Staphylococcus aureus*.

4. Resultat

Kapittel 4 presenterer alle resultater fra det eksperimentelle arbeidet. Kapittelet er delt inn i fire hoveddeler: 4.1 Forforsøk, 4.2 Hovedforsøk, 4.3 Desinfisering og 4.4 Undersøkelser for å indikere tilstedeværelse av *Staphylococcus aureus*.

4.1 Forforsøk

Hensikten med forforsøket var å kartlegge hvor mye en prøve måtte fortynnes for å få stor vekst på Tryptic Soy Agar-plater uten at kolonier vokste sammen. Det ble tatt 13 prøver fra forskjellige steder i klatresenteret og laget fortynningsserier: 1:10, 1:100 og 1:1000, som ble dyrket opp på agarplater. Tabell 3 viser antall kolonier telt på agarplater med fortynning 1:10, Tabell 4 1:100 og Tabell 5 1:1000. Agarplater som ikke var mulig å telle pga. sammenvokste kolonier er merket med «x» i tabell. Basert på resultatene fra Tabell 3, Tabell 4 og Tabell 5 ble fortynning 1:100 brukt i alle prøver, unntatt prøver etter desinfisering med UV-lys og Nüscosept PRO, der ble det brukt 1:10 fortynning da det var forventet lavere vekst.

Ved fortynning 1:10 var det etter 24 timer tre plater som ikke var mulig å telle og etter 48 timer var det fem. Ved fortynning 1:100 var det etter 24 timer en plate som ikke var mulig å telle og etter 48 timer var det en. Ved fortynning 1:1000 var det etter 24 timer en plate som ikke var mulig å telle og etter 48 timer var det en.

Tabell 3: Antall kolonier telt på TSA-agarplate ved fortynning 1:10.

| Timer/Prøver | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|--------------|-----|---|-----|---|----|----|-----|-----|---|----|----|-----|-----|
| 24 | 226 | x | 160 | x | 58 | 28 | 108 | 271 | x | 75 | 9 | 106 | 92 |
| 48 | 294 | x | x | x | 54 | 20 | 73 | x | x | 73 | 14 | 104 | 146 |

Tabell 4: Antall kolonier telt på TSA-agarplate ved fortynning 1:100.

| Timer/Prøver | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|--------------|----|-----|----|----|----|---|---|----|----|----|----|----|----|
| 24 | 23 | 87 | 18 | 27 | 15 | 1 | x | 13 | 27 | 1 | 64 | 9 | 14 |
| 48 | 62 | 127 | 23 | 10 | 20 | 1 | x | 19 | 27 | 1 | 47 | 13 | 19 |

Tabell 5: Antall kolonier telt på TSA-agarplate ved fortynning 1:1000.

| Timer/Prøver | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|--------------|----|----|---|---|---|----|---|---|---|----|----|----|----|
| 24 | 6 | 24 | 3 | 1 | 2 | 13 | 4 | 1 | x | 2 | 0 | 3 | 0 |
| 48 | 10 | 20 | 3 | 1 | 3 | 85 | 6 | 1 | x | 2 | 0 | 2 | 1 |

4.2 Hovedforsøk

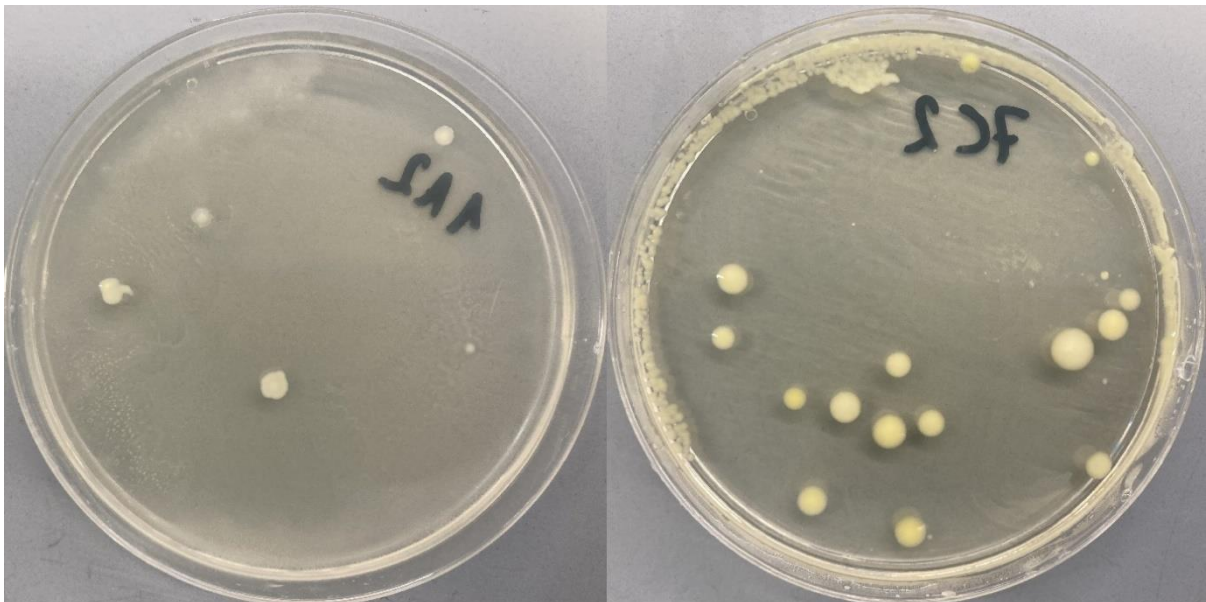
Hovedforsøket er delt inn i to deler 4.2.1 Prøver fra barneavdelingens klatrevegg og 4.2.2 Prøver fra voksenavdelingens klatrevegg. Prøvene ble tatt fra to klatrevegger fra barneavdelingen og to klatrevegger fra voksenavdeling. Resultatene er fremstilt grafisk og grafene er basert på kimtall (CFU/dm²) fra tabeller i Vedlegg 1. Gjennomsnittlig kimtall på TSA-plater.

4.2.1 Prøver fra barneavdelingens klatrevegg

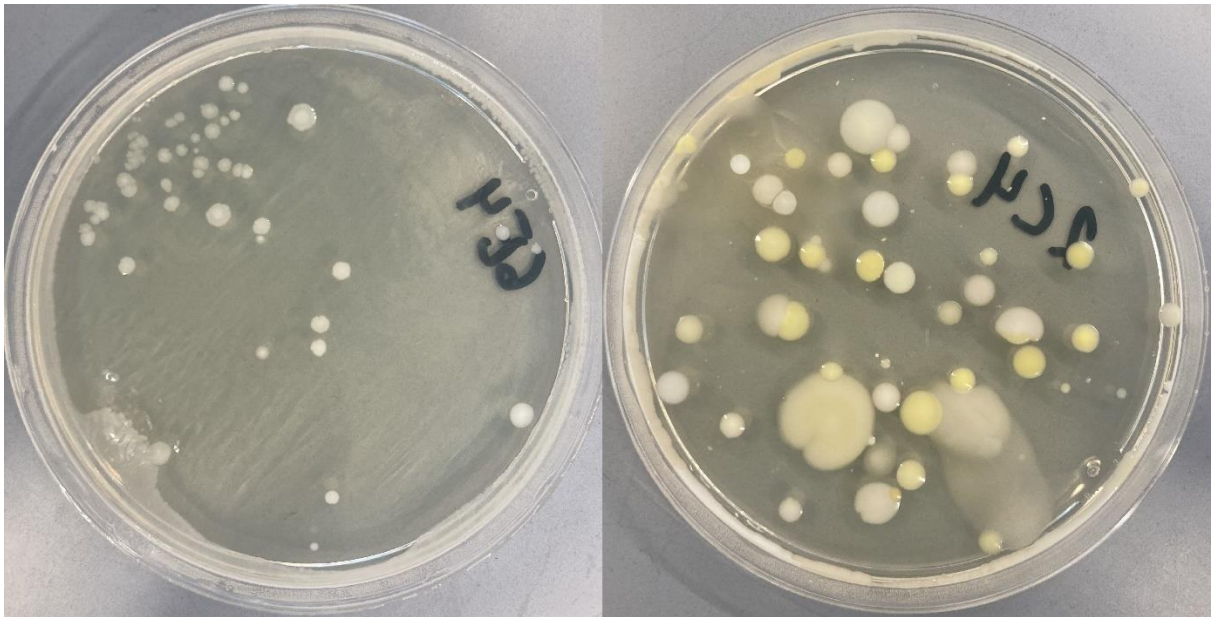
Det ble tatt fire prøver og det ble tatt fem paralleller fra hver prøve, de fem parallellene er tatt fra fem ulike klatretak. I barneavdelingen er det tatt tre prøver fra klatrevegg med klatretak laget av tre. To prøver ble tatt lavt i klatreveggen (1 – 1.5m over bakken), de to prøvene er tatt på samme klatretak, men til ulikt tidspunkt (midt på dagen og ved åpning). Den siste prøven ble tatt høyt i klatreveggen (4 – 5m over bakken). Det ble også tatt en prøve i en klatrevegg med klatretak av plast, den ble tatt lavt (1 – 1.5m over bakken) i klatreveggen. Det ble laget fire replikater av hver parallell, noe som betyr at det ble dyrket opp 20 agarplater for hver prøve. Det er beregnet gjennomsnittsverdi med standardavvik basert på kimtallstilling på de 20 agarplatene som er multiplisert med fortynningsfaktor.

Figur 17 viser en representativ agarplate av prøve 1 (lavt i trevegg) og 7 (lavt i trevegg ved åpning).

Figur 18 viser agarplate av prøve 6 (høyt i trevegg) og 2 (plastvegg).

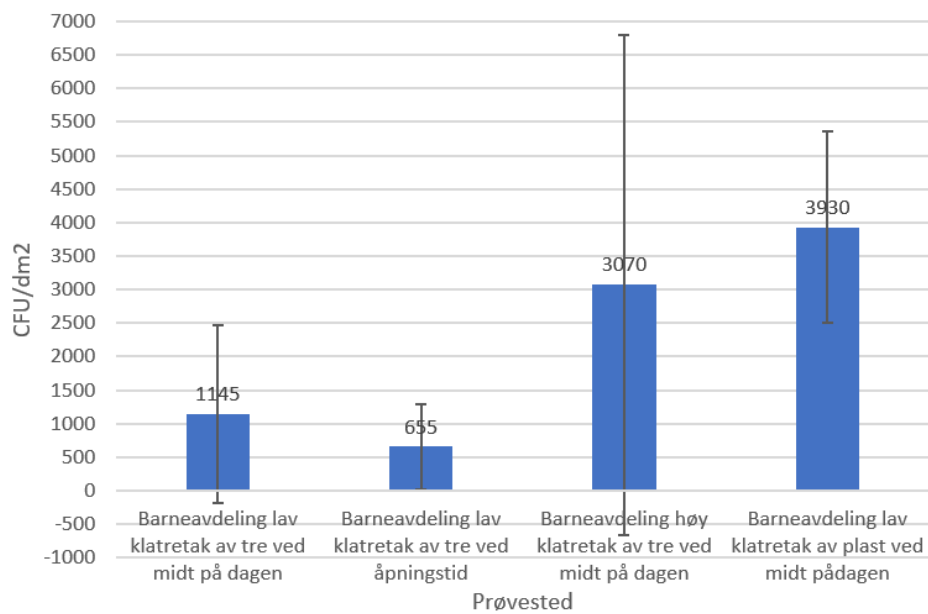


Figur 17: Kolonier dyrket på TSA-agarplater, fra venstre prøve 1 og 7.



Figur 18: Kolonier dyrket på TSA-agarplater, fra venstre prøve 6 og 2.

Figur 19 viser et diagram med gjennomsnittlig CFU/dm² av prøver fra barneavdelingen. Verdiene er hentet fra Tabell 10, Tabell 11, Tabell 12 og Tabell 13. CFU/dm² er høyere for klatretak av plast enn klatretak av tre. I tillegg var CFU/dm² høyere for prøver som ble tatt midt på dagen enn prøver som ble tatt ved åpningstiden.



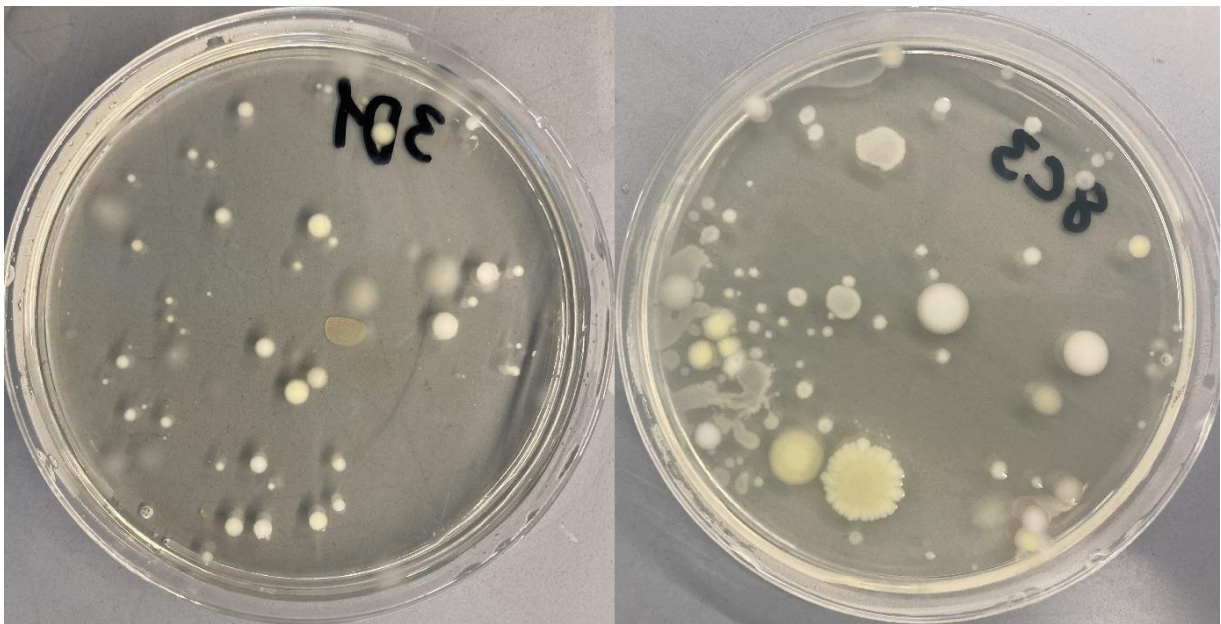
Figur 19: Gjennomsnittlig CFU/dm² fra barneavdeling.

4.2.2 Voksenavdelingens klatrevegg

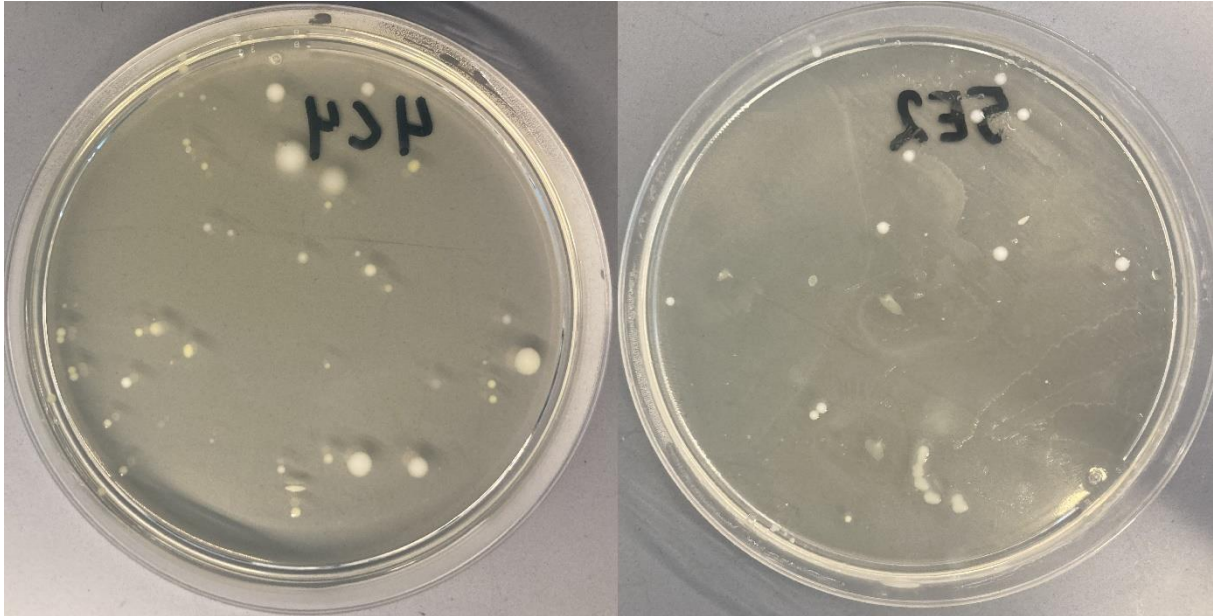
Det ble tatt fire prøver og det ble tatt fem paralleller fra hver prøve, de fem parallellene er tatt fra fem ulike klatretak. I voksenavdelingen er det kun tatt prøver fra klatretak av plast. Det er tatt to prøver fra klatrevegg hvor klatretak var montert 4 dager før prøvedagen, en prøve ble tatt midt på dagen og en prøve ble tatt ved åpningstid dagen etter. Det ble tatt to prøver fra en klatrevegg hvor klatretak var montert 35 dager før prøvedagen, en prøve ble tatt lavt i klatreveggen (1 – 1.5m over bakken) og en prøve høyt i klatreveggen (4 – 5m over bakken).

Det ble laget fire replikater av hver parallell, noe som betyr at det ble dyrket opp 20 agarplater for hver prøve. Det er beregnet gjennomsnittsverdi med standardavvik basert på kimtallstelling på de 20 agarplatene som er multiplisert med fortynningsfaktor.

Figur 20 viser agarplate fra prøve 3 (montert 4 dager før) og prøve 8 (montert 4 dager før ved åpningstid). Figur 21 viser agarplate fra prøve 4 (montert 35 dager før, lavt i klatrevegg) og prøve 5 (montert 35 dager før, høyt i klatrevegg).

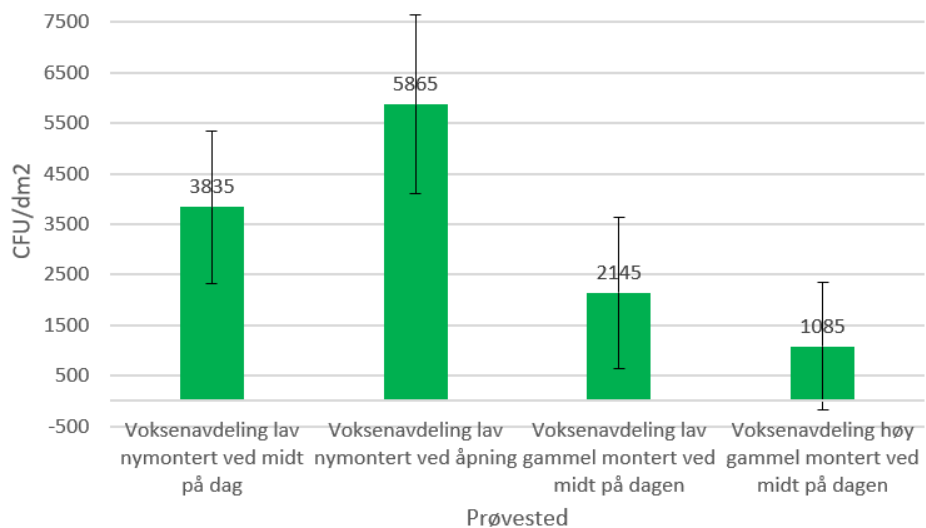


Figur 20: Kolonier dyrket på TSA-agarplater, fra venstre prøve 3 og 8.



Figur 21: Kolonier dyrket på TSA-agarplater, fra venstre prøve 4 og 5.

Figur 22 viser diagram hvor gjennomsnittlig CFU/dm² til prøvene fra voksenalvdelingen. Verdiene er hentet fra Tabell 14, Tabell 15, Tabell 16 og Tabell 17. CFU/dm² var høyere for klatretak montert 4 dager før prøvetidspunkt enn for klatretak montert 35 dager før prøvetidspunkt. Det var større CFU/dm²-verdi lavt i klatrevegg enn høyt i klatrevegg.



Figur 22: Gjennomsnittlig CFU/dm² fra voksenalvdeling.

4.3 Desinfiseringsmetoder

4.3.1 Desinfisering med Nüscosept PRO

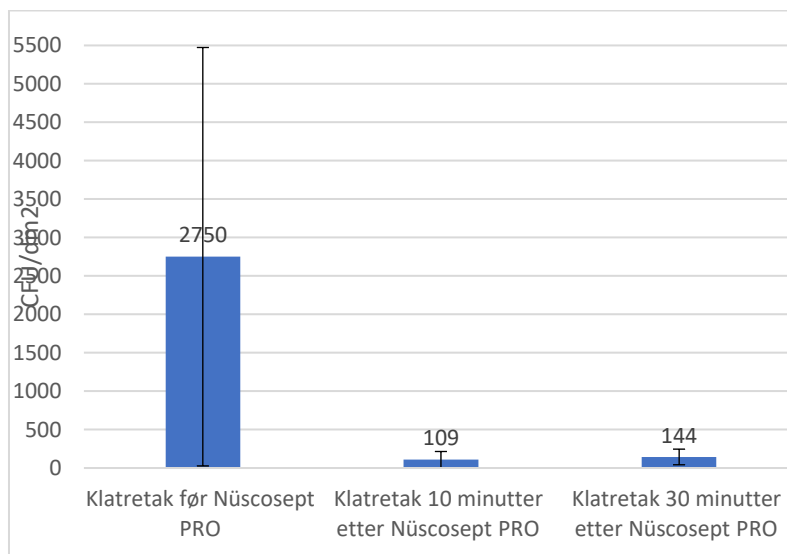
Det ble utført desinfisering på fem ulike plast klatretak fra voksenavdelingen. Det ble tatt prøver fra hvert klatretak før desinfisering, det ble tatt prøver 10 minutter etter desinfisering og det ble tatt prøver 30 minutter etter desinfisering.

Prøve tatt før desinfisering vises i Tabell 18, 10 minutter etter desinfisering i Tabell 19 og 30 minutter etter desinfisering i Tabell 20. Figur 23 viser TSA-agarplater av prøver før desinfisering, 10 min og 30 min etter desinfisering.



Figur 23: Kolonier dyrket på TSA-agarplater, fra venstre før desinfisering, 10 minutter etter og 30 minutter etter.

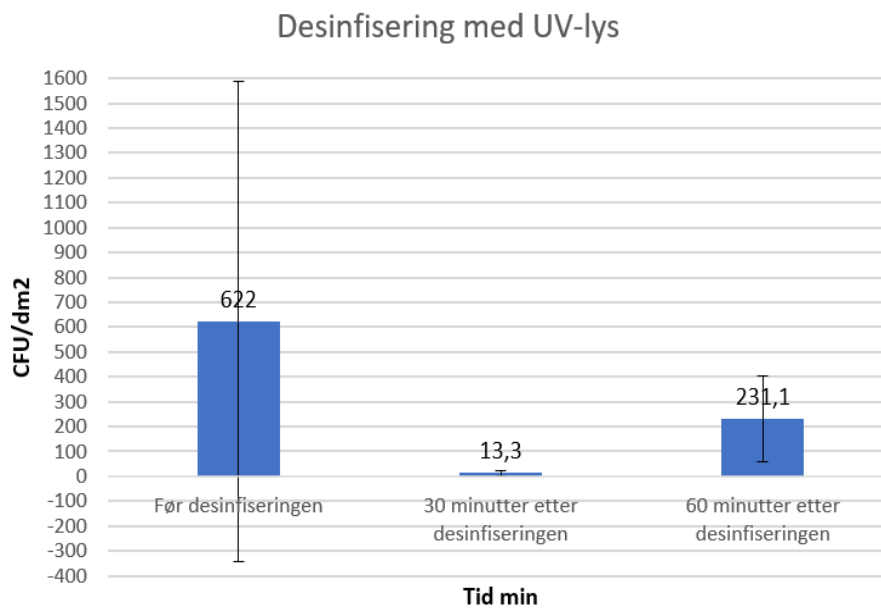
Figur 24 viser gjennomsnittlig CFU/dm² til fem klatretak før desinfisering, 10 og 30 minutter etter desinfisering med Nüscosept PRO. CFU/dm² ble redusert med 96% etter 10 min. Verdiene er hentet fra Tabell 18, Tabell 19 og Tabell 20.



Figur 24: Gjennomsnittlig CFU/dm² før og etter desinfisering med Nüscosept PRO.

4.3.2 Desinfisering med UV-stråling

Denne delen ble utført i laboratoriet ved NTNU Kalvskinnet, det ble lånt tre klatretak av plast fra Grip-Klatring. De ble kontaminert ved å gnu hendende over dem i omtrent 2 minutter og ble plassert på sterilbenken. En prøve ble tatt før UV-lys ble slått på, en prøve ble tatt etter 30 minutter under UV-lys og en prøve etter 60 minutter under UV-lys. Figur 25 viser et stolpediagram hvor dette viser gjennomsnittlig CFU/dm² av tre klatretak før og etter desinfisering med UV-lys. Verdiene hentet fra Tabell 21, Tabell 22 og Tabell 23.



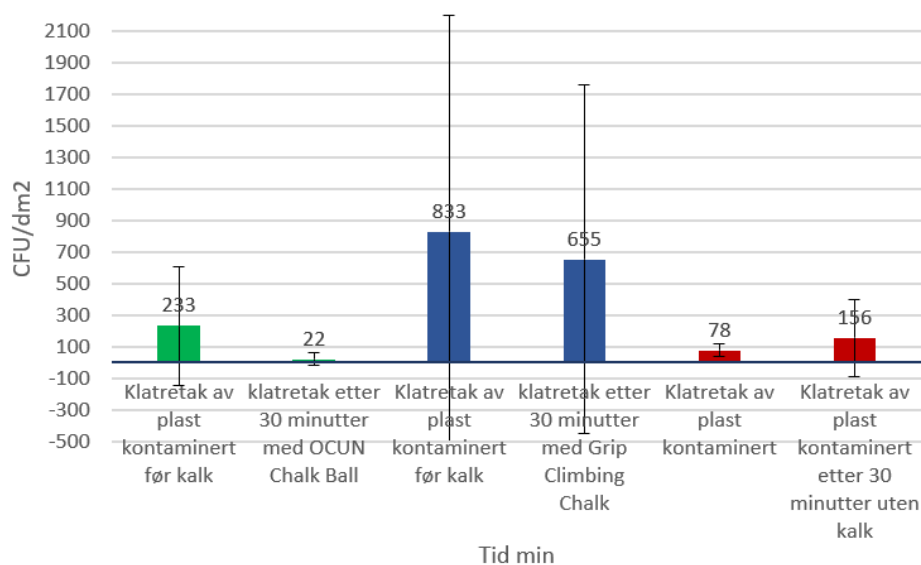
Figur 25: Gjennomsnittlig CFU/dm² ved desinfisering med UV-stråling

4.3.3 Desinfisering med klatrekalk

Denne delen ble utført i laboratoriet ved NTNU Kalvskinnet. Det ble brukt samme klatretak som forsøket med UV-lys. Det ble brukt to typer klatrekalk: OCUK Chalk Ball og Grip Climbing Chalk. Klatretakene ble kontaminert ved å gnu hender mot dem i ca. 2 minutter og ble plassert i avtrekkskap. Det ble tatt en prøve etter kontaminering, men før påføring av kalk. Klatrekalk ble påført ved å gnu pulveret mot klatretakene. Det ble tatt prøve 30 minutter etter påføring av klatrekalk.

Det ble utført en blindtest ved å kontaminere samme klatretak, men uten påføring av klatrekalk. En prøve ble tatt rett etter kontaminering og en prøve 30 minutter etter kontaminering.

Figur 26 viser gjennomsnittlig CFU/dm² til klatretak før og etter bruk av klatrekalk og blindtest. Klatrekalk ga en reduksjon i CFU/dm² etter 30 minutter. OCUK Chalk ball ble CFU/dm² redusert ca. 90%, mens Grip Climbing Chalk ble CFU/dm² redusert ca. 21%. For blindtesten uten bruk av klatrekalk ble CFU/dm² dobbelt så høy.



Figur 26: Gjennomsnittlig CFU/dm² ved desinfisering med kalk

4.4 Undersøkelser for å indikere tilstedeværelse av *Staphylococcus aureus*

Undersøkelser av mikroorganismer er utført på prøver tatt i forbindelse med desinfisering med Nüscsept PRO i klatresenter. Det ble tatt prøver med fem paralleller fra fem ulike klatretak, det er prøvene tatt før desinfisering og prøver tatt 10 minutter etter desinfisering som ble brukt i denne delen. I tillegg er det utført tester på oppdyrket *Staphylococcus aureus*. Tabellene er fylt inn med «+» og «-», hvor «+» betyr positiv test og «-» negativ test.

4.4.1 Oppdyrking på MSA-plater

Mannitol Salt Agar-plater ble delt inn i fire sektorer. Det ble tatt bakteriekolonier fra TSA-plater og overført til MSA-plater. Det ble plukket fire tilfeldige kolonier fra hver TSA-plate. Hvis MSA-platen skifter farge fra rosa til gul, så er testen positiv og indikerer tilstedeværelse av *S.aureus*. Om den ikke endrer farge er testen negativ som indikerer at kolonien ikke er *S.aureus*.

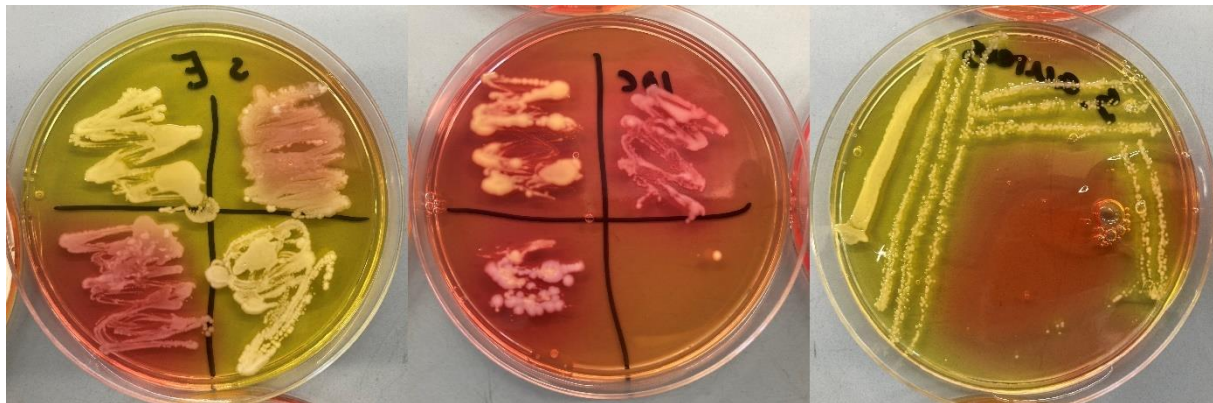
Tabell 6 viser dyrking på MSA-plater fra prøve tatt før desinfisering, Tabell 7 viser dyrking på MSA-plater fra prøve tatt 10 minutter etter desinfisering. Før desinfisering er det 10 av 20 kolonier som endrer farge på MSA til gul. Etter desinfisering er det 5 av 20 kolonier som endrer farge på MSA til gul. Figur 27 viser en MSA-plate av prøve før desinfisering, etter desinfisering og en som er påført *Staphylococcus aureus*.

Tabell 6: Prøver før desinfisering.

| Parallell | 1 | 2 | 3 | 4 |
|-----------|---|---|---|---|
| A | + | - | + | + |
| B | - | + | + | - |
| C | - | - | - | + |
| D | - | - | - | + |
| E | + | + | - | + |

Tabell 7: Prøver 10 minutter etter desinfisering.

| Parallell | 1 | 2 | 3 | 4 |
|-----------|---|---|---|---|
| A | - | - | - | - |
| B | - | - | + | + |
| C | - | - | - | - |
| D | + | - | - | + |
| E | - | + | - | - |



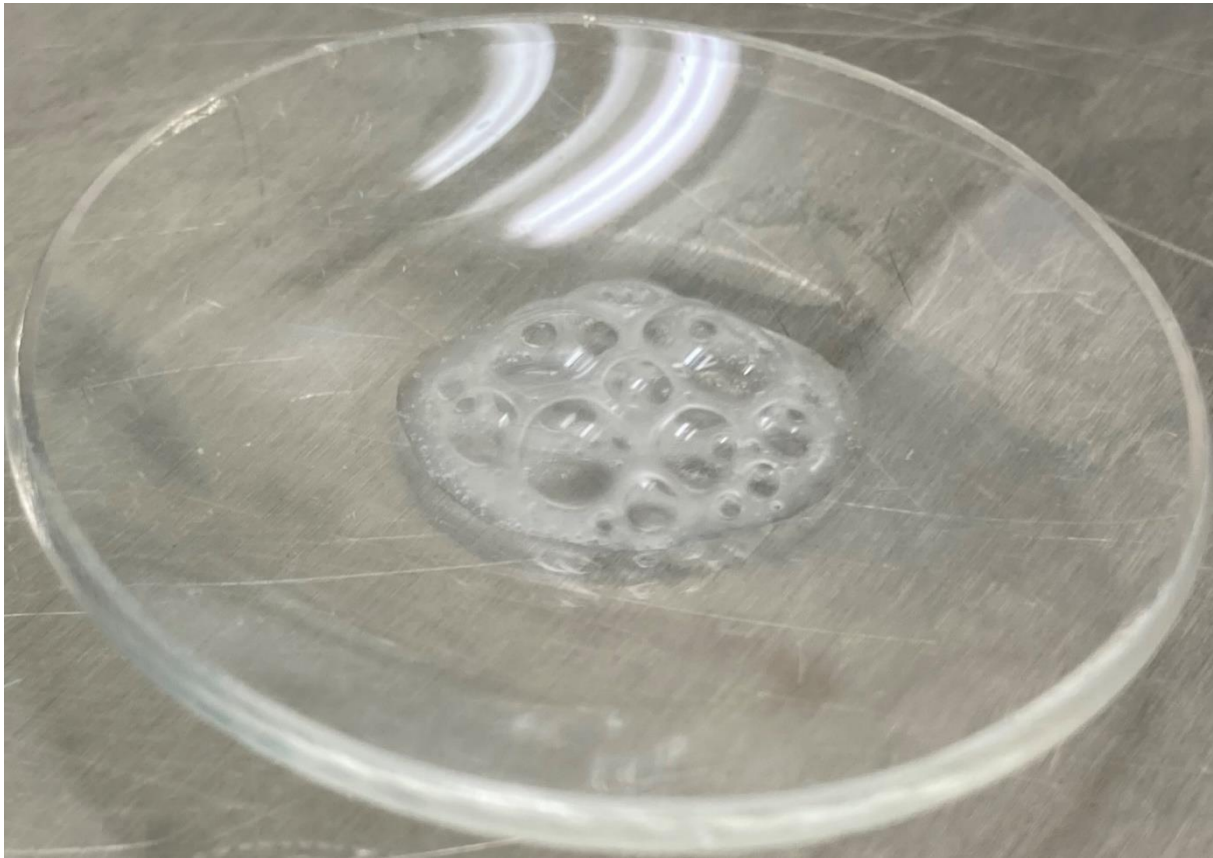
Figur 27: Vekst på MSA plater, fra venstre før desinfisering, etter desinfisering og påført *S.aureus*.

4.4.2 Katalasetest

De koloniene som endret farge på MSA plater ble testet for å se om de produserte katalase. Det ble plukket fem kolonier fra MSA-plater dyrket opp fra prøver før desinfisering. Det ble plukket fem kolonier fra MSA-plater dyrket opp fra prøver etter desinfisering. Det ble tatt fem tester på oppdyrket *Staphylococcus aureus*, Tabell 8 viser at alle katalasetester var positive. Figur 28 viser en positiv katalasetest.

Tabell 8: Katalasetest utført på kolonier som er dyrket på MSA-plater.

| Test | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-----------------|---|---|---|---|---|
| Før desinf. | + | + | + | + | + |
| Etter desinf. | + | + | + | + | + |
| <i>S.aureus</i> | + | + | + | + | + |



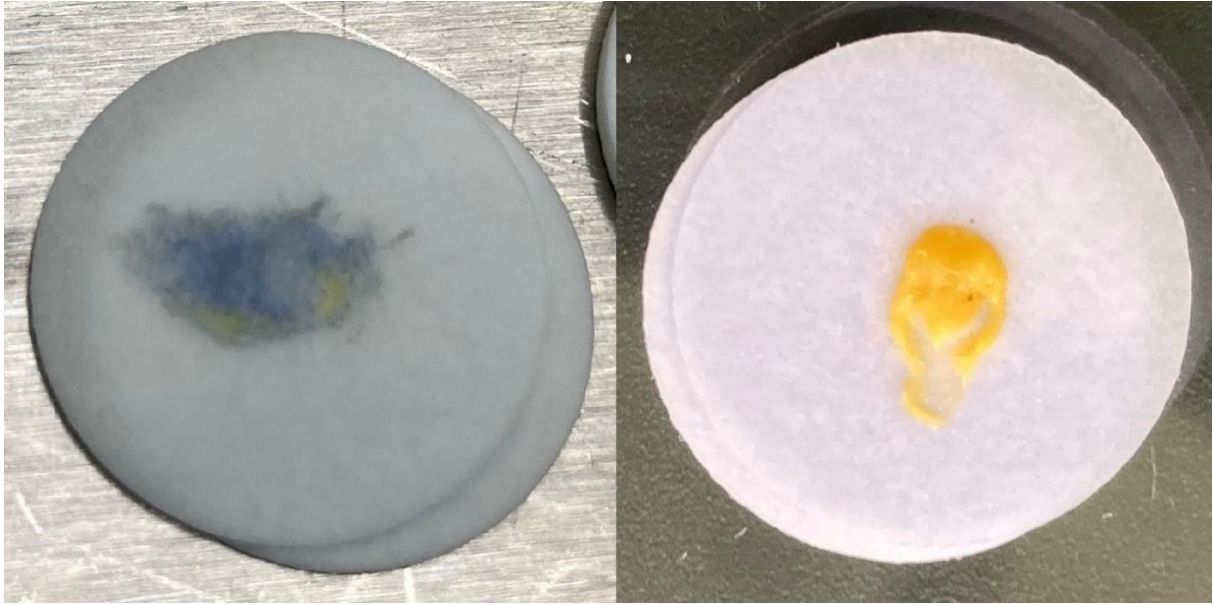
Figur 28: Positiv katalasetest.

4.4.3 Oksidasetest

De koloniene som endret farge på MSA plater ble testet for å se om de produserte oksidase. Det ble plukket fem kolonier fra MSA-plater dyrket opp fra prøver før desinfisering. Det ble plukket fem kolonier fra MSA-plater dyrket opp fra prøver etter desinfisering. Tabell 9 viser at test utført på kolonier før desinfisering er 2 av 5 negative og for test utført på kolonier etter desinfisering er 1 av 5 negativ. Av oppdyrket *Staphylococcus aureus* hvor alle var negative. Figur 29 viser en positiv oksidasetest som har endret farge til blå og en negativ oksidasetest som ikke endrer farge.

Tabell 9: Oksidasetest på kolonier som er oppdyrket på MSA-plater.

| Test | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-----------------|---|---|---|---|---|
| Før des. | + | - | - | + | + |
| 10 min e. des. | + | + | + | - | + |
| <i>S.aureus</i> | - | - | - | - | - |



Figur 29: fra venstre, positiv oksidasetest og negativ oksidasetest.

5 Diskusjon

Alle mikroorganismer i en klatrevegg stammer fra eksterne kilder og da i hovedsak fra mennesker som benytter seg av klatreanlegget. I tillegg er det store mengder klatrekalk å finne på klatretak, vegg og gulv. Det eksperimentelle arbeidet besto av fire trinn: Forforsøk, hovedforsøk, desinfeksjon og undersøkelse.

5.1 Forforsøk

Forforsøket var en grov test og hensikten var å finne hvilken fortynning av prøver som ville gi mest vekst uten at kolonier vokste sammen. Den fortynningen som viste seg mest hensiktsmessig å gå videre med var 1:100. Å finne en fortynning gjør arbeidet i hovedforsøket enklere, da det ville blitt veldig mye arbeid å lage paralleller og replikater med flere fortynninger. I forforsøket ble det tatt 13 prøver fra tilfeldige steder på klatresenteret, 7 prøver ble tatt fra barneavdelingen og 6 fra voksenavdelingen. Det er store variasjoner i mikrobiell vekst i klatreanlegget og det var derfor viktig å samle prøver fra flere områder i klatresenteret for å være sikker på at det ble tatt prøver fra klatretak med mye vekst. Risikoen ville vært å ta prøver bare på klatretak med lite vekst, noe som ville medført at det ble valgt en annen fortynning, som ville medført overvekst på agarplater i hovedforsøket.

5.2 Hovedforsøk

Hovedforsøket ble utført ved å ta prøver på forskjellige områder i klatreanlegget på Sluppen. Det ble tatt totalt åtte prøver, fire fra barneavdelingen og fire fra voksenavdelingen. Det ble tatt fem paralleller fra hvert prøvepunkt og det ble laget fire replikater av hver parallell. Det ble dyrket frem bakterier på totalt 128 TSA plater i hovedforsøket. Det er funnet mikroorganismer på alle prøvepunkt i intervallet $655 (\pm 638) - 5865 (\pm 1771)$ CFU/dm².

Figur 19 viser store variasjoner i resultater fra barneavdelingen, det var mer vekst på klatretak av plast enn på klatretak av tre. Dette underbygger teorien som sier at tre har antimikrobielle egenskaper ved å binde opp vann (10). Klatretakene av tre var malt og det kan spille inn da maling inneholder bakteriedrepende stoffer. Klatretak av tre har en glattere overflate, i tillegg er de dekt med maling og pigmenter som beskytter overflaten mot fuktighet og sopp. Maling inneholder flere additiver, og en av dem er fungicid som motvirker svertesopp og alger på overflaten, noe som kan motvirke bakterier (11).

Generelt var det mer vekst på prøver som ble tatt midt på dagen. Det kan skyldes at aktivitetsnivået i barneavdelingen er høyere på søndager enn på ukedager. Prøver som ble tatt midt på dagen er tatt på en mandag, prøver som ble tatt ved åpningstid er tatt på en tirsdag. Dermed kan flere bakterier på klatretak som ble kontaminert på søndag, være levedyktig på mandag enn på tirsdag.

Det var nesten tre ganger høyere vekst høyt oppe i klatreveggen med klatretak av tre sammenlignet med prøver tatt lavt i samme vegg. Det er motsatt av hva som var forventet og det er vanskelig å finne gode grunner til det.

Det ble tatt prøver i anleggets voksenavdeling på klatretak som var montert 4 dager før prøvedagen og klatretak som var montert 35 dager før prøvedagen. Klatretakene som var montert 35 dager før hadde 55,9% lavere CFU/dm² sammenlignet med de som var montert 4 dager før, prøvene ble tatt på samme tidspunkt. Det kan være en effekt av at nylig monterte klatreruter er mer attraktive for en bruker av klatresenteret. Det kan også være en indikasjon på at forholdene for mikrobiell vekst ikke er spesielt gunstige, da det ikke utføres renhold på klatretak som er montert på vegg, klatretak rengjøres kun ved montering av nye klatreruter. Hvis mikroorganismene hadde hatt gode vekstforhold ville det vært økende antall mikroorganismer for lengre tid siden rengjøring. Det ble observert et veldig tørt miljø i klatresenteret og bakterier er avhengig av tilgang på vann for å vokse (36).

På klatretakene fra klatrevegg montert 4 dager før prøvedagen ble det i tillegg tatt en prøve ved åpningstid dagen etter. Prøve som ble tatt ved åpningstid (kl. 08:00) hadde 52,9% høyere CFU/dm² sammenlignet med prøve tatt dagen (kl. 14:00 – 15:00). Dette er motsatt av hva tilsvarende forsøk i barneavdelingen viser. Det tyder på at det var høy aktivitet i voksenavdelingen i tiden mellom de to prøvene ble tatt. Det kan være flere faktorer som avgjør hvorfor resultatet i voksenavdelingen er motsatt av barneavdelingen, men det kan tyde på at selv med høyt aktivitetsnivå i voksenavdeling, kan det være lavt aktivitetsnivå i barneavdelingen.

På veggene hvor klatretak var montert 35 dager før prøvedag ble det tatt prøve både lavt og høyt i klatreveggen. Klatretak montert høyt på vegg hadde 50,6% lavere CFU/dm² sammenlignet med klatretak montert lavt på vegg. Dette er akkurat som forventet, det er utfordrende å nå de høyeste delene av klatreveggen og klatretakene høyt oppe vil ikke bli kontaminert like ofte som klatretak som er montert lavere i klatreveggen. Prøver som er tatt lavt i klatrevegg er tatt på ca. 1 – 1.5m høyde fra bakken og de fleste som klatrer starter klatringen på denne høyden.

I dette prosjektet er det funnet tilstedeværelse av mikroorganismer i alle prøver fra klatresenteret. Den gjennomsnittlige verdien av mikroorganismer lå i intervallet 655 (± 638) – 5865 (± 1771) CFU/dm². Tallene er sannsynligvis underestimert pga. usikkerhet i metoden. Sammenlignet med tallene fra kunstgressbanen i Flatåshallen våren 2021 (15), er dette betraktelig lavere, og kan være en indikasjon på at vekstforholdene for mikroorganismer er mindre gunstige i et innendørs klatresenter kontra en innendørs kunstgressbane. Sammenlignet med vekst på gulv ved Ullevål sykehus er det derimot en god del høyere (16). Verdiene fra teppegulv i kontorarealer ligger på omtrent samme nivå (17).

5.2.1 Feilkilder og begrensninger ved CFU metode

Klatretak har stor variasjon i utforming, noen er store andre er små, noen har skarpe kanter andre mer runde, noen har glatt overflate mens andre er ruglete. Disse variasjonene er nødvendige for å utforme en god klatrevegg med variert vanskelighetsgrad, men skaper endel utfordringer når mikrobielle prøver skal samles inn. Det er spesielt utfordrende å samle inn prøve fra de klatretak som har en veldig grov ruglete overflate. Ved å sveipe svaberen med litt for stor kraft vil bomullen rives opp på den grove overflaten og noe av materialet som er samlet vil gå tapt. Det har hendt under prøvetaking at små fraksjoner av bomullen har hengt igjen på klatretaket etter prøveinnsamling og må dermed sees på som en feilkilde.

Pga. klatretakenes vinkler var det utfordrende å ta prøve av eksakt likt areal for hver prøve. Rammen på 10x10 cm som beskrevet i kapittel 3.2.2.1 ble lagt på klatretaket, og den måtte legges på en del av klatretaket som var utsatt for kontaminering og ikke nødvendigvis den flateste delen av klatretaket. Noe som gjorde det utfordrende å dekke eksakt likt areal på hver prøve.

Prøver som ble samlet inn høyt oppe i veggen måtte gjøres vha. stige. Her måtte en person holde stigen for å sikre at den ikke falt. Den andre personen måtte stå i stigen, holde rammen mot klatretak og samtidig sveipe svaberen mot klatretaket. Dette var ikke gunstig da det var vanskelig å holde et jevnt trykk på svaberen og trykket på svaberen kan påvirke hvor mange mikroorganismer som fester seg til svaberen.

Det var stor variasjon i hvor mye smuss og klatrekalk som hadde dekt hvert klatretak. På klatretak med mye kalk ble det med endel kalk over i røret med transportvæske og det kan påvirke pH verdien i væsken som påvirker vekstforholdene til mikroorganismene i negativ retning.

Fra prøven ble samlet med svaberen til den ble spredt på agarplatene kunne det gå opp mot 3 timer. Selv om beholderen med transportvæske og svaber ble satt på kjølerom umiddelbart etter ankomst til laboratoriet, kan det ikke utelukkes at det var noe vekst av bakterier i perioden fra prøve var samlet til den var overført til agarplate (37).

Resultatene viser et betydelig avvik mellom de fire replikatene av flere paralleller, en faktor som spiller inn er svabere med 10 mL transportvæske. Det viste seg å være svært vanskelig å blande rør med 10 mL transportvæske på vortex. Opprinnelig var det tenkt å teste svabere med 10 mL transportvæske under forforsøket, men lang leveringstid gjorde dette umulig.

Alle disse faktorene kan ha medvirket til stort standardavvik på enkelte prøver.

5.2.2 Faktorer i klatresenteret som kan påvirke vekstforholdene

Det ble tatt prøver fra flere områder i klatresenteret og til ulikt tidspunkt med hensikt om å sammenligne resultater. I et klatresenter er det mange faktorer som ikke kan kontrolleres og som kan ha påvirket resultatene. Hovedforsøket ble gjennomført kl. 14:00 – 15:00 på en mandag. Det er ikke mulig å vite hvor mye aktivitet det var i timene før prøvene ble samlet inn. Hvor mange som hadde vært innom klatresenteret den dagen er usikkert og enda mer usikkert er det hvor mange som hadde kontaminert hvert av klatretakene det ble tatt prøve av. Klatreveggen som var montert 4 dager før prøvedagen hadde klart mest CFU/dm², noe som tyder på at flere personer hadde kontaminert klatretak der enn hva tilfellet er for veggen som var montert 35 dager før prøvedagen.

Det ble tatt prøver i anleggets barneavdeling og voksenavdeling, det er kun sammenlignet CFU/dm² og ikke tatt høyde for at barn kan ha en annen adferd i klatresenteret enn voksne har. Det er også fravær av klatrekalk i barneavdelingen da barn ikke benytter klatrekalk. På prøvedagen ble det observert mye aktivitet i voksenavdelingen og ingen aktivitet i anleggets barneavdeling i tidsrommet prøver ble samlet inn.

Temperatur og luftfuktighet er faktorer i klatresenteret som påvirker mikrobiell vekst. Luftfuktigheten påvirkes av bruken av klatrekalk i anlegget, klatrekalk finnes på vegg, gulv og som svevestøv i rommet. All denne kalken gjør at luften oppleves som relativt tørr. Forsøket er utført i mars og april og temperaturen var relativt lav. Ved Grip Klatring på Sluppen er det store vindusflater mot vest noe som medfører at bygget varmes opp på sommeren og kan påvirke vekstforholdene for mikroorganismer.

5.3 Desinfisering

5.3.1 Desinfisering av klatrevegg med Nüscosept PRO

Resultatene viser at desinfiseringen av klatretak var en effektiv metode for å drepe mikroorganismer. Som Figur 24 viser var det før desinfisering 2750 (± 2436) CFU/dm² og 10 minutter etter desinfisering var dette redusert til 109 (± 95) CFU/dm², det er en reduksjon på 96,0%. Etter 30 minutter var tallet økt til 144 (± 91) CFU/dm². Det ble brukt en konsentrasjon på 1%, som ser ut til å være effektivt etter 10 minutter virketid. Klatretakene er av robust materiale og ga ingen synlige skader, noe som tyder på at Nüscosept PRO som inneholder didecyldimetylammoniumklorid og benzalkoniumklorid er godt egnet som desinfeksjonsmiddel for et klatresenter.

5.3.2 UV-stråling

Desinfisering ved UV-stråling ble utført i lab og ikke klatresenter pga. mangel på utstyr. Strålingen ble utført vha. UV-lys i sterilbenk. For å prøve å gjenskape et mest mulig realistisk miljø ble det lånt tre klatretak av Grip Klatring, et blått, et rødt og et oransje. Det viste seg derimot å være vanskelig å kontaminere klatretakene på en tilstrekkelig måte.

Det ble tatt prøve av klatretakene etter kontaminering før UV-lys ble slått på, som viste 622 (± 787) CFU/dm². Etter 30 minutter med UV-stråling var det redusert til 13.3 (± 6.7) CFU/dm² som er vist i Figur 25. Parallellen fra det oransje klatretaket som ble tatt etter 30 minutter måtte tas ut av forsøket, da det ble oppdaget at det manglet en betydelig mengde med transportvæske i dette røret, dette ble ikke oppdaget før parallellene skulle overføres til agarplater. Det ble tatt prøve etter 60 minutter UV-stråling, resultatene var 231.1 (± 96) CFU/dm². Det oransje klatretaket hadde på prøven før stråling ingen vekst, etter 60 minutter med stråling var det vekst. Dette klatretaket ble etter 30 minutter sveipet med svaberen som manglet transportvæske, det kan tyde på at denne svaberen ikke var steril.

Klatretakene i sterilbenk ble direkte utsatt for UV-lys fra begge sider. Og dette kunne være grunnen til at metoden var veldig effektiv, men utfordringen med en klatrevegg i voksenavdelingen er det forskjellige vinkler som kan gjøre at det blir mindre effektivt hvis UV-lys skal brukes ved klatresenter, siden UV-strålene ikke vil treffe alle klatretakene likt. Noen av klatretakene hos Grip Klatring er laget av polyuretan (PU) som kan ta skade av UV-stråler (8). Om UV-stråling skal benyttes for desinfisering i klatresenteret bør det kun brukes i områder av anlegget som ikke har klatretak av polyuretan.

5.3.3 Klatrekalk

Undersøkelse ved De Montfort University Leicester viste at Covid-19 viruset drepes effektivt i kontakt med klatrekalk (1). For å undersøke om klatrekalk kan ha en tilsvarende effekt på bakterier ble det gjort forsøk i laboratoriet med to typer klatrekalk: OCUK Chalk Ball og Grip Climbing Chalk. Klatrekalken ble påført klatretak som var lånt fra Grip Klatring. Det ble i tillegg utført en blindprøve som ikke ble dekket med kalk som en referanse. På samme måte som ved forsøket med UV-stråling ble ikke klatretakene kontaminert på en tilstrekkelig måte. Under prøvetaking og arbeid på laboratoriet var det et stort fokus på håndhygiene, det er direkte årsak til at få bakterier ble overført til klatretak under forsøk på kontaminering. Klatretak burde vært kontaminert på en bedre måte. Noe av prøvematerialet som ble samlet ved klatresenteret kunne vært overført til klatretak.

Klatretak som ble påført klatrekalken «OCUN Chalk Ball» hadde før påføring av kalk 233 (± 307) CFU/dm² og 30 minutter etter påføring 22 (± 32) CFU/dm², det var 7 av 9 agarplater helt uten vekst etter kontaminering på klatretak. Tilsvarende forsøk med «Grip Climbing Chalk» hadde vekst på 5 av 9 agarplater. Før påføring av klatrekalk var det 833 (± 1109) CFU/dm² og 30 minutter etter påføring var det sunket til 655 (± 904) CFU/dm². Blindtesten hadde 78 (± 32) CFU/dm² etter kontaminering, 30 minutter etter kontaminering var det økt til 155 (± 197) CFU/dm². Selv om kontaminering av klatretak ikke var spesielt vellykket så ser det ut til å være en trend med at antall mikroorganismer reduseres etter påføring av kalk, i motsetning til blindprøven hvor antall mikroorganismer øker med tiden.

5.4 Indikasjon på tilstedeværelse av *Staphylococcus aureus*

Det ble utført undersøkelser for å finne indikasjoner på tilstedeværelse av *S.aureus*, på prøver som ble tatt i forbindelse med desinfisering med Nüscsept PRO. Det er prøver som ble tatt før desinfisering og 10 minutter etter desinfisering som det ble utført undersøkelser på. Det er utført undersøkelser på 20 kolonier fra prøven før desinfisering og 20 fra prøven etter desinfisering.

Det ble oppdaget bakteriekolonier med ulikt utseende etter oppdyrking på TSA-plater. Ulike farger som hvite, blanke, lys gul og mørk gul. De fleste kolonier hadde sfærisk og flat form, noen kolonier var store andre små. Det er sannsynligvis et bredt spekter av bakteriearter representert. *S.aureus* er bakterien det er gjort forsøk på å finne indikasjon på tilstedeværelse av. Noen av koloniene ble overført til MSA-plater, det er et selektivt medium hvor kun stafylokokker vokser. *S.aureus* er den eneste bakterien som kan endre farge på MSA-medium fra rosa til gul. Det ble vekst på de fleste plater og resultater fra prøve før desinfisering viser at 10 av 20 kolonier har endret farge på MSA fra rosa til gul. For prøve etter desinfisering er tilsvarende tall 5 av 20.

Ved overføring fra TSA til MSA ble det betraktet at hver koloni som ble plukket fra TSA-plater stammer fra en og samme celle. Det var utfordrende med direkte overføring av bakteriekoloni fra TSA-plater til MSA-plater. Da det ikke ble enkelte og ensartede kolonier på MSA-plater som Figur 27 viser. Noe som senere medførte utfordring ved oksidase og katalase-test.

Det ble utført katalasetest og oksidasetest på kolonier som endret farge på MSA fra rosa til gul. *S.aureus* bakterien er katalasepositiv og oksidasenegativ. Det ble gjort 10 katalasetester og alle var positive. Det ble gjort 5 tester på oppdyrket *S.aureus* som referanse hvor alle var positive.

Det ble utført oksidasetest på de samme kolonier som det ble gjort katalasetest på. Det var 3 av 10 som var oksidasenegative. Det ble gjort 5 tester på oppdyrket *S.aureus* som referanse hvor alle var negative.

Det er indikasjoner på at *S.aureus* er tilstedeværende i klatresenteret men det kan ikke konkluderes med sikkerhet. For å identifisere *S.aureus* med sikkerhet er det nødvendig med mer avanserte tester eksempelvis PCR, dette ble ikke utført pga. tidsbegrensning. Det er indikasjoner på at det var større tilstedeværelse av *S.aureus* før desinfisering kontra etter.

Staphylococcus aureus er en patogen bakterie som finnes i nese og svelg hos friske personer og medfører en risiko for alvorlig infeksjon. I 2019 ble det utført en pilotstudie ved Kent State University (2) for å kartlegge utbredelsen av *S.aureus* og MRSA på fasiliteter ved treningssentre og sykehusfasiliteter. Undersøkelsen viste at 38.2% av alle overflater var kontaminert med *S.aureus*. Brukere av klatresenter har ofte sår og rifter i huden som følge av klatringen og kan være utsatt for infeksjon om *S.aureus* kommer i kontakt med åpne sår.

5.5 Tiltak som kan forebygge infeksjon som følge av *Staphylococcus aureus*

For å forebygge infeksjon som følge av *Staphylococcus aureus* er det noen tiltak som brukere av klatresenter kan følge. Brukerne kan dekke til sår og rifter i huden for å unngå kontakt med *S.aureus*. God håndhygiene med bruk av alkoholbaserte desinfeksjonsmidler bidrar til å forhindre spredning av *S.aureus* til klatreveggen (3). Rengjøring av klær og utstyr mellom hver treningsøkt begrenser spredning av *S.aureus*, bakterien er robust og kan overleve 60 °C inntil 60 minutter (38).

5.6 Anbefalinger til videre arbeid

Resultatene er ikke entydig, og bachelorgruppen har anbefalinger dersom lignende forsøk skal gjentas.

Svabere

Det anbefales å kun bruke svabere med 1 mL transportvæske. Under hovedforsøket er det kun benyttet svabere med 10 mL transportvæske og disse visste seg å være svært vanskelig å blande godt på vortex som har resultert i store avvik mellom replikater fra samme parallell.

Flere replikater

Mangel på arbeidsareal på sterilbenk har gjort det utfordrende å håndtere mange agarplater på en gang og har medført at det ble laget færre replikater enn ønskelig. Ved flere replikater er det mulig å utelukke et enkelt replikat dersom det er et replikat som skiller seg vesentlig ut fra resten. Ved bare fire replikater er det vanskelig å slå fast om et replikat er et faktisk avvik.

Dyrkning på MSA-plater

Direkte overføring av bakteriekolonier fra TSA-plater til MSA-plater ga ikke enkelte og ensartede kolonier. Det gjorde at mange kolonier vokste sammen og gjorde det utfordrende å utføre oksidase og katalase-test. Hvis forsøket skal gjentas anbefales det å løse kolonier fra TSA-plater i et lite volum av TSB eller transportvæske, og etterpå overføre til MSA-plater og utstrekning teknikk kan brukes. Dette kan medføre enkelte og ensartede kolonier.

Utvelgelse av prøvelokasjon

Da det ikke er gjort lignende undersøkelser tidligere ble det tidlig bestemt å gå bredt ut å samle prøver fra mange områder av klatresenteret. Dette har medført et stort antall prøver, paralleller og replikater å håndtere. Om oppgaven skal utføres på nytt anbefales det å spisse litt mer inn på et bestemt område. Det er oppdaget mest vekst på klatrevegg noen dager etter nye klatreruter er montert, og det vil være mest interessant å teste grundigere i dager og uker etter en ny klatrerute er montert.

6 Konklusjon

Resultatene i forsøket gir en indikasjon på at vekstforholdene for mikroorganismer er mindre gunstig i et innendørs klatresenter kontra en innendørs kunstgressbane. Det er derimot mer vekst enn det som finnes på sykehusgulv og omtrent på samme nivå som teppegulv i kontorarealer.

Hvorvidt klatrekalk er direkte årsak til mindre gunstig vekstforhold er ikke mulig å konkludere med ettersom resultatene ikke er entydige. Forsøket utført i laboratoriet for å undersøke desinfiserende effekt av klatrekalk ble ikke vellykket da klatretak ikke ble kontaminert tilstrekkelig. Resultatene fra barneavdelingen hvor det ikke benyttes klatrekalk sammenlignet med resultater fra voksenavdeling hvor det benyttes klatrekalk må også sees på med en viss usikkerhet, sannsynligvis var det mindre aktivitet i barneavdelingen i timene før prøver ble tatt. Det anbefales videre undersøkelser av klatrekalk for å slå fast om den er desinfiserende.

Nüscosept PRO er et effektivt middel for å desinfisere klatretak. Før klatretak ble desinfisert hadde klatretakene gjennomsnittlig 2750 (± 2723) CFU/dm² og 10 minutter etter desinfisering var tilsvarende verdi 109 (± 106) CFU/dm², noe som er en nedgang på 96,0%.

Det er indikasjoner på at *S.aureus* er tilstedeværende i klatresenteret, men det kan ikke konkluderes med sikkerhet. For å identifisere *S.aureus* med sikkerhet er det nødvendig med mer avanserte tester eksempelvis PCR, dette ble ikke utført pga. tidsbegrensning. Det er indikasjoner på at det var større tilstedeværelse av *S.aureus* før desinfisering kontra etter.

Ved besøk hos Grip Klatring er det blitt observert et bra fokus på renhold i senteret med å børste klatretak og støvsuge gulv, noe som medfører at nivået av klatrekalk holdes på et relativt lavt nivå.

Det er vanskelig å komme med en klar anbefaling om innføring av nye renholdsrutiner når prøver avviker så mye som i dette forsøket. Men en enkel anbefaling er å oppfordre brukere av klatreanlegget til å sørge for god håndhygiene og å dekke til sår og rifter i hud.

Referanseliste

1. Research shows climbing chalk is unlikely to transmit coronavirus: De Montfort University Leicester; 2020 [Available from: <https://www.dmu.ac.uk/about-dmu/news/2020/september/research-shows-climbing-chalk-is-unlikely-to-transmit-coronavirus.aspx>.
2. Mark Dalman SB, Nagashreyaa Nagajothi, Dipendra Thapaliya, Hailee Olson, Haji Mohammad Naimi, Tara C. Smith. Characterizing the molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* across and within fitness facility types. 2019.
3. Stafylokokkinfeksjoner (inkl. MRSA-infeksjoner) - veileder for helsepersonell: Folkehelseinstituttet; 2010 [updated 23.08.2019. Available from: <https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/stafylokokkinfeksjoner-inkl.-mrsa-i/>.
4. Senter for idrettsanlegg og teknologi (SIAT): NTNU; 2020 [Available from: <https://www.ntnu.no/siat/om-senteret>.
5. Klatreanlegg, Planlegging, bygging og drift. Oslo: Kulturdepartementet; 2015. Available from: <https://klatring.no/file/99>.
6. Grønhaug G. Buldring: Store norske leksikon; 2021 [
7. Meirvik T. Trondheims nye buldreparadis: Klatring; 2020 [Available from: <https://www.norsk-klatring.no/buldring/trondheims-nye-buldreparadis>.
8. Kompendium kursholder rutesetter 1: Norges Klatreforbund. Available from: <https://klatring.no/file/846>.
9. Klepp IG. Polyester: Store norske leksikon; 2020 [Available from: https://snl.no/polyester_-_tekstil.
10. Neverman L. 4 Reasons Wooden Cutting Boards Are Best Common Sense Home2013 [updated 2017. Available from: <https://commonsensehome.com/wooden-cutting-boards/>.
11. Westman C. Dette lages maling av ifi.no2017 [updated 17.12.2019. Available from: <https://www.ifi.no/dette-lages-maling-av>.
12. What is Rock Climbing Chalk for? What is it made of? Climb the Earth [Available from: <https://climbtheearth.com/what-is-rock-climbing-chalk-for-what-is-it-made-of/>.
13. kritt knust 250g Addnature [Available from: https://www.addnature.no/ocun-kritt-knust-250g-M924217.html?&_cid=21_1_1_9_2565_1328425_pla&campaign_detail=smart_shopping&gclid=CjwKCAjwve2TBhByEiwAaktM1LAHOe45kNiHcC9um0XJtg4pngZBK5T6l8ivBaLHyQWMgdMadNckPBoC5XsQAvD_BwE&ef_id=X1iddQAABvV-XxTJ:20220511100749:s.
14. Dyrkningsmedier: Universitetet i Oslo; [Available from: https://studmed.uio.no/elaring/fag/mikrobiologi/kurs/bakgrunn/dokumenter/dyrkningsmedier_.html.
15. Catharina Line Sørensen SA, Tobias Ludvigsen. Microbial Growth on Indoor Artificial Turf and Assessment of Suitable Disinfection Methods. NTNU; 2021.
16. B.M. Andersen MR, J.Kvist, T. Tollefsen, R. Lukkassen, L. Sandvik, A. Welø. Floor cleaning: effect on bacteria and organic materials in hospital rooms *The Journal of Hospital Infection*2008 [Available from: [https://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701\(08\)00389-7/fulltext](https://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701(08)00389-7/fulltext).
17. Lucette Bouillard OM, Michèle Dramaix, Michel Devleeschouwer. BACTERIAL CONTAMINATION OF INDOOR AIR, SURFACES, AND SETTLED DUST, AND RELATED DUST ENDOTOXIN CONCENTRATIONS IN HEALTHY OFFICE BUILDINGS: Free University; 2005 [
18. Fryklund B, Elinder CG. Mikrobiologi og hygiene. Oslo: Universitetsforlaget; 1992.
19. Tønjum T. Stafylokokker. Store norske leksikon; 2019.

20. Generelt om MRSA: Folkehelseinstituttet; 2014 [Available from: <https://www.fhi.no/sv/antibiotikaresistens/om-mrsa/>].
21. Tronsmo A. Innføring i mikrobiologi. Oslo: Universitetsforlaget; 2016. 383 p.
22. O'Connor CM, Adams JU. Essential of Cell Biology. Cambridge, MA: NPG Education; 2010.
23. Aseptic Technique: ThermoFisher Scientific; [Available from: https://www.thermofisher.com/no/en/home/references/gibco-cell-culture-basics/aseptic-technique.html?gclid=CjwKCAiAJoeRBhAJEiwAYY3nDEalN0zj2sA7DbfHh90ixzBCaCIWM35Jx-EQFrKF7JjytL6nJFFUPxoC4q4QAvD_BwE&ef_id=CjwKCAiAJoeRBhAJEiwAYY3nDEalN0zj2sA7DbfHh90ixzBCaCIWM35Jx-EQFrKF7JjytL6nJFFUPxoC4q4QAvD_BwE:G:s&s_kwcid=AL!3652!3!305473461786!!g!!&cid=bid_clb_cce_r01_co_cp0000_pjt0000_bid00000_0se_gaw_dy_pur_con&s_kwcid=AL!3652!3!305473461786!!g!!].
24. Laboratorieoppgaver i mikrobiologi Trondheim: Institutt for bioteknologi og matvitenskap, NTNU; 2021 [
25. Bauman RW. Microbiology with Diseases by Body System. 5 ed: Pearson; 2017.
26. Tryptic Soy Broth TSB: Merck KGaA; 2018 [Available from: https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/288/904/22092d_at.pdf].
27. BD Tryptic Soy Broth (TSB): BD; 2019 [Available from: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=30505>].
28. Sandle T. Pharmaceutical microbiology : essentials for quality assurance and quality control. Amsterdam, Netherlands: Woodhead Publishing; 2016.
29. Baron S. Medical Microbiology. 4 ed. Galvestone: University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996.
30. Sagar A. Catalase Test- Principle, Uses, Procedure, Result Interpretation with Precautions: MicrobiologyInfo.com; 2022 [Available from: <https://microbiologyinfo.com/catalase-test-principle-uses-procedure-result-interpretation-with-precautions/>].
31. Einertsen E. cytokrom c: Store norske leksikon; 2019 [Available from: https://snl.no/cytokrom_c].
32. Faller A, Schleifer, K.H. Modified oxidase and benzidine tests for separation of staphylococci from micrococci: American Society for Microbiology; 1981 [Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.13.6.1031-1035.1981>].
33. Desinfektionsmittel Nüscosept PRO 10 Liter Schlierbach: PPS; [Available from: <https://pps-vertrieb.de/desinfektion/desinfektionsmittel/desinfektionsmittel-nuscosept-5-liter.html>].
34. Tryptic Soy Agar: Microbiological Clinique; [Available from: [https://microbiologie-clinique.com/trypticase-soy-agar-principle-interpretation.html#:~:text=Trypticase%20Soy%20Agar%20\(TSA\)%2C,as%20many%20yeasts%20and%20moulds](https://microbiologie-clinique.com/trypticase-soy-agar-principle-interpretation.html#:~:text=Trypticase%20Soy%20Agar%20(TSA)%2C,as%20many%20yeasts%20and%20moulds)].
35. Mannitol Salt Agar: Microbiologie Clinique; [Available from: <https://microbiologie-clinique.com/Mannitol-Salt-Agar.html>].
36. Gro Birgitte Eriksson JG, Unni Kulhuset Granheim. Livsvilkår for bakterier NDLA2020 [Available from: <https://ndla.no/subject:1:eba8b8d6-d312-4a57-baeb-04c7d9ba16f9/topic:8:7b133fdc-1dee-4dbe-b83a-3a4bd6d36be2/topic:2:5ff90157-bfdd-4b51-ac38-2d45966e78c9/resource:1:163196>].
37. Transport media for microbiology: CliniSciences; [Available from: <https://www.clinisciences.com/es/comprar/cat-transport-media-for-microbiology-5545.html>].
38. Kathleen Park Talaro BC. Foundations in Microbiology. 8 ed: McGraw-Hill; 2012.

Vedlegg

Vedlegg 1. Gjennomsnittlig kimtall på TSA-plater.

Hovedforsøk

Barneavdeling

Tabell 10, Tabell 11 og Tabell 12 viser antall CFU/dm² fra prøve 1, 6 og 7 fra klatretak av tre i barneavdeling.

Tabell 10: Prøve 1 fra barneavdelingens klatrevegg ble prøvene tatt lav på trevegg midt på dagen.

| Parallell | Kimtall | Gj.snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|----------|------------|------------------------------|
| A | 5.75 | 11.45 | 1:100 | 1145 (±1323) |
| B | 4.25 | | | |
| C | 2.25 | | | |
| D | 34.5 | | | |
| E | 10.5 | | | |

Tabell 11: Prøve 7 fra barneavdelingens klatrevegg ble prøvene tatt lav på trevegg i barneavdeling ved anleggets åpningstid.

| Parallell | Kimtall | Gj.snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|----------|------------|------------------------------|
| A | 2.75 | 6.55 | 1:100 | 655 (±638) |
| B | 2.75 | | | |
| C | 10.25 | | | |
| D | 16 | | | |
| E | 1 | | | |

Tabell 12: Prøve 6 fra barneavdelings klatrevegg ble prøvene tatt høy på trevegg midt på dagen.

| Parallell | Kimtall | Gj.snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|----------|------------|------------------------------|
| A | 8.75 | 30.7 | 1:100 | 3070 (±3732) |
| B | 9.25 | | | |
| C | 38.75 | | | |
| D | 4 | | | |
| E | 92.75 | | | |

Tabell 13 viser antall CFU/dm² fra prøve 2. Fra klatretak av plast i barneavdeling.

Tabell 13: Prøve 2 fra barneavdelingens klatrevegg ble prøvene tatt på lave klatretak av plast.

| Parallell | Kimtall | Gj.snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|----------|------------|------------------------------|
| A | 62.25 | 39.3 | 1:100 | 3930 (±1426) |
| B | 27.75 | | | |
| C | 30.25 | | | |
| D | 44 | | | |
| E | 32.25 | | | |

Voksenavdeling

Tabell 14 og Tabell 15 viser antall CFU/cm² fra prøve 3 og 8. Klatretakene var montert 4 dager før prøvene ble tatt.

Tabell 14: Prøve 3 fra voksenavdelings klatrevegg ble prøvene tatt fra klatretak av plast midt på dagen.

| Parallell | Kimtall | Gj.snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|----------|------------|------------------------------|
| A | 20 | 38.35 | 1:100 | 3835 (±1508) |
| B | 51.5 | | | |
| C | 44.25 | | | |
| D | 51.5 | | | |
| E | 24.5 | | | |

Tabell 15: Prøve 8 fra voksenavdelingens klatrevegg ble prøvene tatt fra klatretak av plast ved anleggets åpningstid.

| Parallell | Kimtall | Gj.snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|----------|------------|------------------------------|
| A | 54.25 | 58.65 | 1:100 | 5865 (±1771) |
| B | 47 | | | |
| C | 39.75 | | | |
| D | 84.25 | | | |
| E | 68 | | | |

Tabell 16 og Tabell 17 viser antall CFU/dm² fra prøve 4 og 5. Klatretakene var montert 35 dager før prøver ble tatt.

Tabell 16: Prøve 4 fra voksenavdelingens klatrevegg ble prøvene tatt fra lav i klatrevegg, klatretak av plast midt på dagen.

| Parallell | Kimtall | Gj.snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|----------|------------|------------------------------|
| A | 9.25 | 21.45 | 1:100 | 2145 (±1494) |
| B | 24.75 | | | |
| C | 21.50 | | | |
| D | 44.50 | | | |
| E | 7.25 | | | |

Tabell 17: Prøve 5 fra voksenavdelingens klatrevegg ble prøvene tatt høy i klatrevegg, klatretak av plast midt på dagen.

| Parallell | Kimtall | Gj.snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|----------|------------|------------------------------|
| A | 6.75 | 10.85 | 1:100 | 1085 (±1256) |
| B | 33 | | | |
| C | 1.75 | | | |
| D | 6 | | | |
| E | 6.75 | | | |

Desinfisering

Nüscosept PRO

Tabell 18 viser gjennomsnittlig kimtall før desinfisering, Tabell 19 viser gjennomsnittlig kimtall 10 minutter etter desinfisering og Tabell 20 viser gjennomsnittlig kimtall 30 minutter etter desinfisering.

Tabell 18: CFU/cm² før desinfisering.

| Parallell | Kimtall | Gj.snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|----------|------------|------------------------------|
| A | 37.5 | 27.5 | 1:100 | 2750 (±2436) |
| B | 68 | | | |
| C | 2.75 | | | |
| D | 26.5 | | | |
| E | 2.75 | | | |

Tabell 19: CFU/cm² 10 minutter etter desinfisering.

| Parallell | Kimtall | Gj.snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|----------|------------|------------------------------|
| A | 7.25 | 10.9 | 1:10 | 109 (±95) |
| B | 27 | | | |
| C | 1.75 | | | |
| D | 16 | | | |
| E | 2.5 | | | |

Tabell 20: CFU/cm² 30 minutter etter desinfisering.

| Parallell | Kimtall | Gj.snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|----------|------------|------------------------------|
| A | 10.75 | 14.4 | 1:10 | 144 (±91) |
| B | 28.75 | | | |
| C | 0.5 | | | |
| D | 15.75 | | | |
| E | 16.25 | | | |

UV-stråling

Tabell 21 viser gjennomsnittlig kimtall før UV-stråling, Tabell 22 viser gjennomsnittlig kimtall etter 30 minutter med UV-stråling og Tabell 23 viser gjennomsnittlig kimtall etter 60 minutter med UV-stråling. Det er benyttet 3 klatretak: Blå, oransje og rød.

Tabell 21: CFU/dm² prøve før desinfisering.

| Parallell | Kimtall | Gj. snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|-----------|------------|------------------------------|
| Blå | 17.33 | 6.22 | 1:100 | 622 (±787) |
| Oransje | 0 | | | |
| Rød | 1.33 | | | |

Tabell 22: CFU/dm² etter 30 minutter stråling.

| Parallell | Kimtall | Gj. snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|-----------|------------|------------------------------|
| Blå | 0.67 | | | |
| Oransje | - | 1.33 | 1:10 | 13.3 (±6.7) |
| Rød | 2 | | | |

Tabell 23: CFU/dm² etter 60 minutter med stråling.

| Parallell | Kimtall | Gj. snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|-----------|------------|------------------------------|
| Blå | 1 | | | |
| Oransje | 24.11 | 24.11 | 1:10 | 241 (±373) |
| Rød | 16.33 | | | |

Klatrekalk

OCUN Chalk Ball

Tabell 24 viser gjennomsnittlig kimtall før påføring av kalk og Tabell 25 viser gjennomsnittlig kimtall 30 minutter etter påføring av kalk.

Tabell 24: CFU/dm² før desinfisering.

| Parallell | Kimtall | Gj. snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|-----------|------------|------------------------------|
| Blå | 6.67 | | | |
| Oransje | 0 | 2.33 | 1:100 | 233 (±307) |
| Rød | 0.33 | | | |

Tabell 25: CFU/dm² 30 minutter etter desinfisering.

| Parallell | Kimtall | Gj. snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|-----------|------------|------------------------------|
| Blå | 0.67 | | | |
| Oransje | 0 | 0.22 | 1:100 | 22 (±32) |
| Rød | 0 | | | |

Grip Climbing Chalk

Tabell 26 viser gjennomsnittlig kimtall før påføring av kalk og Tabell 27 viser gjennomsnittlig kimtall 30 minutter etter påføring av kalk.

Tabell 26: CFU/dm² før desinfisering.

| Parallell | Kimtall | Gj. snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|-----------|------------|------------------------------|
| Blå | 0 | | | |
| Oransje | 1 | 8.33 | 1:100 | 833 (±1109) |
| Rød | 24 | | | |

Tabell 27: CFU/dm² 30 minutter etter desinfisering.

| Parallell | Kimtall | Gj. snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|-----------|------------|------------------------------|
| Blå | 19.33 | 6.45 | 1:100 | 655 (±904) |
| Oransje | 0.33 | | | |
| Rød | 0 | | | |

Blindtest

Tabell 28 viser gjennomsnittlig kimtall umiddelbart etter kontaminering av klatretak og Tabell 29 viser gjennomsnittlig kimtall 30 minutter etter kontaminering.

Tabell 28: CFU/dm² ved start.

| Parallell | Kimtall | Gj. snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|-----------|------------|------------------------------|
| Blå | 0.33 | 0.78 | 1:100 | 78 (±31) |
| Oransje | 1 | | | |
| Rød | 1 | | | |

Tabell 29: CFU/dm² etter 30 minutter.

| Parallell | Kimtall | Gj. snitt | Fortynning | Gj.snitt CFU/dm ² |
|-----------|---------|-----------|------------|------------------------------|
| Blå | 4.33 | 1.56 | 1:100 | 156 (±197) |
| Oransje | 0 | | | |
| Rød | 0.33 | | | |

Vedlegg 2. Beregning av standardavvik.

Det ble utregnet standardavvik ved bruk av formel 1, hvor \bar{x} er gjennomsnitt av alle paralleller og x er gjennomsnitt av hver parallell.

$$\text{standardavvik} = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{N - 1}} \quad (1)$$

Et utregningseksempel hvor gjennomsnitt av alle paralleller er lik 11.45, og gjennomsnitt av hver parallell er henholdsvis 5.75, 4.25, 2.25, 34.5, 10,5 blir:

Siden det ble brukt fortynning på 1:100 så blir gjennomsnittet 1145 og gjennomsnitt av hver parallell blir 575, 425, 225, 3450, 1050.

$$\text{Standardavvik} = \sqrt{\frac{(575-1145)^2 + (425-1145)^2 + (225-1145)^2 + (3450-1145)^2 + (1050-1145)^2}{5-1}} = 1323$$

$$\sqrt{\frac{(275-655)^2 + (275-655)^2 + (1025-655)^2 + (1600-655)^2 + (100-655)^2}{5-1}} = 638$$