

Arman Kooshan og Anojan Pakeetharan

# Mikrobiologisk analyse av kunstgress før- og etter rengjøring

Bacheloroppgave i Kjemiingeniør

Veileder: Lene Østby

Medveileder: Bjørn Aas

Mai 2022



Arman Kooshan og Anojan Pakeetharan

# **Mikrobiologisk analyse av kunstgress før- og etter rengjøring**

Bacheloroppgave i Kjemiingeniør  
Veileder: Lene Østby  
Medveileder: Bjørn Aas  
Mai 2022

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet  
Fakultet for naturvitenskap  
Institutt for materialteknologi



Kunnskap for en bedre verden





**Mikrobiologisk analyse av kunstgress før- og  
etter rengjøring**

**Microbiological Analysis of Artificial Turf  
Before- and After Cleaning**

---

**Bacheloroppgave**

PROSJEKTNUMMER: IMA-B-4-2022

INNLEVERINGSDATO: 20.05.2022

GRADERING: ÅPEN

INTERN VEILEDER: LENE ØSTBY

OPPDRAGSGIVER: SIAT - SENTER FOR IDRETTSANLEGG OG  
TEKNOLOGI

KONTAKTPERSON: BJØRN AAS

*Skrevet av:*

Arman Kooshan  
Anojan Pakeetharan

## Forord

Rapporten er skrevet av bachelorstudenter ved studiet kjemiingenør ved institutt for materialteknologi, fakultet for naturvitenskap, Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU). Oppgaven ble gjennomført i samarbeid med Senter for idrettsanlegg og teknologi (SIAT) i tidsrommet 03.01.2022 - 20.05.2022. Det har vært en krevende, men lærerik prosess med en jevn blanding av laboratorie praktisk- og teoretisk arbeid.

Hensikten med oppgaven var å undersøke hvordan kunstgress med organisk fyllmateriale kan rengjøres for å redusere, og forhåpentligvis fjerne, mikrobiell vekst. I samarbeid med SIAT ble effekten av kjemikaliet Nüescosept PRO undersøkt ved å påføre det direkte på kunstgresset i Flatåshallen. I tillegg ble Nüescosept PRO påført på kunstgressmatter som ble eksponert for *Staphylococcus aureus*, for å undersøke kjemikaliets effekt spesifikt mot denne patogene bakterien.

Først og fremst vil vi takke vår eksterne veileder Bjørn Aas for en spennende oppgave, og god oppfølging gjennom bachelorperioden. Videre vil vi takke vår interne veileder Lene Østby for veiledningen og tilgjengeligheten under hele prosjektperioden. Til slutt vil vi takke Hege Sundgård for tilgjengeligheten, bestilling av utstyr og hjelpen vi har fått til det praktiske arbeidet på laboratoriet.

  
Arman Kooshan

  
Anojan Pakeetharan

19. mai 2022

## Sammendrag

Den første kunstgressbanen innen idrett på verdensbasis ble bygget på 1960-tallet. Siden den tid har kunstgresset utviklet seg gjennom fire generasjoner, hvor tredje- og fjerde generasjons kunstgress, henholdsvis 3G og 4G, er de nyeste typene. 3G-kunstgress er bygget opp av kunstgressfibre, sand og gummigranulat (SBR), og er det mest utbredte kunstgresset på verdensbasis da det ligner naturgress og gir gode spillegenskaper. Til tross for 3G-kunstgressets popularitet, diskuteres miljøaspektet rundt syntetiske fyllmaterialer. Gummigranulat utgjør den nest største kilden til utslipp av mikroplast, og følgelig er det ønskelig å erstatte syntetiske fyllmaterialer med mer miljøvennlige materialer. 4G-kunstgress er en nyere teknologi av 3G, som inneholder organisk fyllmateriale. 4G-kunstgress har ikke den inhiberende effekten på mikrobiell vekst, slik 3G-kunstgress har, grunnet mangel på kjemiske forbindelser som sink og svovel. Hudlesjoner oppstår hyppigere på kunstgress sammenlignet med naturgress, ettersom kunstgressfibre er skarpe. Hudlesjoner er en smittevei for patogene bakterier som *Staphylococcus aureus*, som i sjeldne tilfeller forårsaker sykdom hos friske mennesker. Dersom infeksjonen skyldes meticillin-resistent *Staphylococcus aureus* (MRSA), kan behandling med antibiotika være utfordrende. Følgelig er det ønskelig å rengjøre 4G-kunstgress på en måte som fjerner mikrobiell vekst, uten å skade kunstgressfibrene.

Denne oppgaven vil ha fokus på rengjøringsmetode for å redusere, forhåpentligvis fjerne, mikrobiell vekst som oppstår på 4G-kunstgresset i Flatåshallen. Dette fyllmateriale består av olivenkjerner og sand, der olivenkjerner er et organisk fyllmateriale. Hensikten med oppgaven var å undersøke effekten av kjemikaliet Nüescsept PRO direkte på kunstgresset på Flatåshallen. Dette ble utført i et feltforsøk der det ble tatt prøvetaking før- og etter rengjøring av et bestemt areal på Flatåshallen. Feltforsøket, i samarbeid med SIAT, ble utført ved å påføre Nüescsept PRO direkte på kunstgresset i Flatåshallen, ved hjelp av en rengjøringsmaskin utviklet av Are Pedersen fra Elergy AS. I tillegg ble et kontrollert laboratorieeksperiment gjennomført, der rengjøringsmiddelets effekt ble undersøkt spesifikt mot *Staphylococcus aureus* da denne er den mest patogene bakterien som kan oppstå på kunstgresset. Dette eksperimentet ble utført på laboratoriet, hvor kunstgressmatt bestående av olivenkjerner og sand ble eksponert for *Staphylococcus aureus* før rengjøringsmiddelet med bestemt konsentrasjon ble påført mattene.

Resultatene fra feltforsøket før rengjøring viser et omfang av mikroorganismer, altså kimtall, på kunstgressbanen i Flatåshallen. Rengjøringsmiddelet med konsentrasjon på 0,25 % hadde minimal effekt på kunstgressbanen 30 minutter og 24 timer etter rengjøring, mens 0,5 % konsentrasjon av rengjøringsmiddelet viste seg å være mer effektiv. Høyeste gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> 24 timer etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon av Flatåshallen var 10,3 (±1,5) fra hjørnesparket, som er relativt lite. Høyeste gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> før rengjøring av Flatåshallen fra hjørnesparket var 46,7 (±6,1). Dette gir en indikasjon på at rengjøring med 0,5 % konsentrasjon er mest effektiv. Det var vanskelig å konkludere nøyaktig effekt av kjemikaliet direkte på banen, ettersom reaksjonstiden var ukjent. Anbefalt konsentrasjon til videre rengjøring av Flatåshallen er 0,5 %, ettersom det viste seg å være mest effektiv. Reaksjonstiden burde undersøkes videre, helst uten aktivitet på banen etter rengjøringsmiddelet er påført. I tillegg til feltforsøket ble et kontrollert laboratorieeksperiment utført, hvor hensikten var å undersøke effekten av Nüescsept PRO spesifikt mot den patogene bakterien *Staphylococcus aureus*. Her ble blanke kunstgressmatt utdelt fra SIAT, hvor sand og olivenkjerner måtte bearbeides inn de blanke mattene for å replikere kunstgresset fra Flatåshallen. Disse kunstgressmattene ble eksponert for *Staphylococcus aureus*, der effekten av 0,5% Nüescsept

PRO ble dokumentert 48 timer og fem døgn etter det ble påført mattene. Etter 48 timer ble CFU/dm<sup>2</sup> redusert fra 247,7 ( $\pm 24,7$ ) til 22,0 ( $\pm 14,0$ ). Etter fem dager ble CFU/dm<sup>2</sup> redusert til 1,0 ( $\pm 1,0$ ). Dermed konkluderes det med at 0,5 % Nüescosept PRO er effektivt mot fjerning av *Staphylococcus aureus* på kunstgress, men hvor lenge mikroorganismene er fjernet er fortsatt usikkert.

For feltforsøket er anbefalt konsentrasjon til videre rengjøring av Flatåshallen 0,5 %, ettersom det viste seg å være mest effektiv. Reaksjonstiden burde undersøkes videre, helst uten aktivitet på banen etter rengjøringsmiddelet er påført. For det kontrollerte laboratorieeksperimentet konkluderes det med at 0,5 % Nüescosept PRO er effektivt mot fjerning av *Staphylococcus aureus* på kunstgress bestående av olivenkjerner og sand som fyllmateriale, men hvor lenge mikroorganismene er fjernet er fortsatt usikkert.

## Abstract

The first artificial turf field in world sports was built in the 1960s. Since then, the artificial turf has evolved through four generations, with third- and fourth-generation artificial turf, 3G and 4G, respectively, being the latest types. 3G artificial grass is made of artificial grass fibers, sand and rubber granules (SBR), and is the most widespread artificial grass worldwide as it resembles natural grass and provides good playing conditions. Despite the popularity of 3G artificial turf, the environmental aspect of synthetic fillers is being discussed. Rubber granules are the second largest source of microplastic emissions, and consequently it is desirable to replace synthetic fillers with more environmentally friendly materials. 4G artificial grass is a newer technology of 3G, which contains organic infill. 4G artificial grass does not have the inhibitory effect on microbial growth, as 3G artificial grass has, due to the lack of chemical compounds such as zinc and sulfur. Skin lesions occur more frequently on artificial turf compared to natural grass, as artificial turf fibers are sharp. Skin lesions are a route of transmission for pathogenic bacteria such as *Staphylococcus aureus*, which in rare cases causes disease in healthy people. If the infection is due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), treatment with antibiotics can be challenging. Consequently, it is desirable to clean 4G artificial turf in a manner that removes microbial growth without damaging the artificial turf fibers.

This assignment will focus on the cleaning method to reduce, hopefully remove, microbial growth that occurs on the 4G artificial grass in Flatåshallen. This filling material consists of olivestones and sand, where olivestones are an organic infill material. The purpose of the thesis was to investigate the effect of the chemical Nüescosept PRO directly on the artificial turf at Flatåshallen. This was carried out in a field trial where sampling was taken before- and after cleaning of a specific area on Flatåshallen. The field trial, in collaboration with SIAT, was carried out by applying Nüescosept PRO directly on the artificial turf in Flatåshallen, using a cleaning machine developed by Are Pedersen from Elergy AS. In addition, a controlled laboratory experiment was carried out, where the effect of the cleaning agent was examined specifically against *Staphylococcus aureus* as this is the most pathogenic bacterium that can occur on the artificial turf. This experiment was carried out in a lab, where artificial turf mats consisting of olivestones and sand were exposed to *Staphylococcus aureus* before the detergent of a certain concentration was applied to the mats.

The results from the field experiment before cleaning show a range of microorganisms, ie germ counts, on the artificial turf pitch in Flatåshallen. The detergent with a concentration of 0.25 % had a minimal effect on the artificial turf pitch 30 minutes and 24 hours after cleaning, while 0.5 % concentration of the detergent proved to be more effective. The highest average CFU/dm<sup>2</sup> 24 hours after cleaning with a 0.5 % concentration of Flatåshallen was 10.3 ( $\pm$  1.5) from the corner kick, which is relatively small. The highest average CFU/dm<sup>2</sup> before cleaning the Flatåshallen from the corner kick was 46.7 ( $\pm$  6.1). This gives an indication that cleaning with 0.5 % concentration is most effective. It was difficult to conclude the exact effect of the chemical directly on the field, as the reaction time was unknown. The recommended concentration for further cleaning of Flatåshallen is 0,5 %, as it turned out to be most effective. The reaction time should be further investigated, preferably without activity on the field after the detergent has been applied. In addition to the field trial, a controlled laboratory experiment was performed, where the purpose was to investigate the effect of Nüescosept PRO specifically against the pathogenic bacterium *Staphylococcus aureus*. Here, blank artificial grass mats were distributed from SIAT, where sand and olivestones had to be processed into the blank mats to replicate

the artificial grass from Flatåshallen. These artificial turf mats were exposed to *Staphylococcus aureus*, where the effect of 0.5 % Nüescosept PRO was documented 48 hours and five days after it were applied on the mats. After 48 hours, CFU/dm<sup>2</sup> was reduced from 247.7 (± 24.7) to 22,0 (± 14.0). After five days, the CFU/dm<sup>2</sup> was reduced to 1.0 (± 1.0). Thus, it is concluded that 0.5 % Nüescosept PRO is effective against the removal of *Staphylococcus aureus* on artificial turf, but how long the microorganisms have been removed is still uncertain.

For the field trial, the recommended concentration for further cleaning of Flatåshallen is 0,5 %, as it turned out to be most effective. The reaction time should be further investigated, preferably without activity on the field after the detergent has been applied. For the controlled laboratory experiment, it is concluded that 0.5 % Nüescosept PRO is effective against the removal of *Staphylococcus aureus* on artificial turf consisting of olivestones and sand as infill, but for how long the microorganisms is removed is still uncertain.

## Definisjoner og forkortelser

<b>Abiotiske faktorer</b>	Delene av økosystemet som ikke er levende organismer.
<b>Aerob</b>	Avhengig av oksygen.
<b>Anaerob</b>	Ikke avhengig av oksygen.
<b>Biofilm</b>	Samfunn av mikroorganismer som er festet til en overflate eller til hverandre. Mikroorganismene er innkapslet i et lag av slim, kalt matriks.
<b>Biotiske faktorer</b>	Alle levende organismer i et økosystem.
<b>Carbon black</b>	Carbon black er en fargetilsetning i plast som gjør produktene helt svarte og som er klassifisert som mulig kreftfremkallende.
<b>Fakultativ anaerob</b>	Kan leve både med og uten oksygen.
<b>Hydrofil</b>	Stoffer som tiltrekker seg eller absorberer vann. Kan også være molekyler, eller deler av molekyler, som har lett for å binde seg til vann.
<b>Kimtall</b>	Totalt antall mikroorganismer i en prøve fra et definert område. Kimtall registreres etter oppdyrking på et næringsmedie.
<b>Koloni</b>	Synlig ansamling av mikroorganismer på et fast medium.
<b>Kulturmedie</b>	Næringsløsninger som benyttes for å dyrke mikroorganismer.
<b>Inokulum</b>	Når mikroorganismer overføres til et næringsmedium.
<b>Persistente organiske forurensninger</b>	organiske forbindelser som ikke brytes ned i naturen og opphopes gjennom næringskjeden til dyr og mennesker, og hvor de følgelig har mulige skadelige effekter på miljø, og dyr og menneskers helse.
<b>Polysykliske aromatiske forbindelser</b>	En gruppe organiske forbindelser hvor flere er karakterisert som kreftfremkallende.
<b>Svelle</b>	Volumøkning som følge av at et materiale absorberer en væske.
<b>Porøs</b>	Svampaktig, forsynt med porer, små åpninger eller huller.

**VOC**

Dette er forbindelser som er bekymringsfullt ved innånding og pust, og som kan forårsake ulikeneegative helseeffekter, blant annet kreftdannelse og irritasjon av øyne, luftveier og hud.

<b>Forkortelse</b>	<b>Betydning</b>
µL	Mikroliter
1G-4G	Første-, andre-, tredje- og fjerde generasjons kunstgress
CA-MRSA	«Community-associated» MRSA
CFU	Cell forming unit
Dm <sup>2</sup>	Kvadratdesimeter
EPDM	Ethylene Propylene Diene Monomer
EPS	Ekstracellulære polymere stoffer
HA-MRSA	«Hospital-acquired» MRSA
KUD	Kulturdepartementet
Mg	Milligram
MRSA	Meticillin-resistente <i>Staphylococcus aureus</i>
MSA	Mannitol salt agar
NaCl	Natriumklorid
NFF	Norges Fotballforbund
NTNU	Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
LA-MRSA	«Livestock-associated» MRSA
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
PAH	Polysykliske aromatiske hydrokarboner
SBR	Styren-butadien granulater
SIAT	Senter for idrettsanlegg og teknologi
SVOC	Halvflyktige organiske forbindelser
TPE	Termoplastiske elastomerer
TSA	Trypticase soy agar
TSB	Trypticase soy broth
UV	Ultrafiolett
VOC	Flyktige organiske forbindelser



## Figurer

2.1	Kunstgresshistorien beskrevet gjennom fire generasjoner. Figuren viser utviklingen av fyllmateriale, kunstgressfibre og underlag fra første- til fjerdegenerasjons kunstgress [4]. . . . .	2
2.2	En typisk 3G/4G kunstgressmatte, samt alle lagene som utgjør en kunstgressbane [9] . . . . .	4
2.3	Illustrasjonsfoto av morfologien til stafylokokker [33]. . . . .	8
2.4	De fire trinnene for biofilmdannelse [30]. . . . .	9
2.5	Graf over økning av MRSA fra 1998 til 2005. «Diamant» linjen indikerer intensivpasienter, «sirkel» linjen indikerer sykehuspasienter, «firkant» linjen indikerer alle pasienter og «trekant» linjen indikerer polikliniske pasienter [41]. . . . .	10
2.6	Bilde av en positiv (nederst til høyre) og negativ (øverst til venstre) oksidasetest [48]. . . . .	12
2.7	Bilde av en positiv og negativ katalasetest [53]. . . . .	13
2.8	Etter gramfarging av S.aureus [54]. . . . .	14
3.1	Bilde av svaber som ble benyttet for prøvetaking [55]. . . . .	17
3.2	Mal for utføring av prøvetaking. . . . .	17
3.3	Illustrasjon av en halv-fotballbane, inkludert markering av der de ulike prøvetakingene ble utført. Rød «X» indikerer prøvetakingen før rengjøring og etter rengjøring med 0,25 % fortynning. Blå «X» indikerer for 0,5 % fortynning. . . . .	18
3.4	Bilde av rengjøringsmaskinen som ble benyttet for rengjøring av kunstgressbanen. . . . .	19
3.5	Bilde av rengjøringsmaskinen under bruk. . . . .	19
4.1	Representativt bilde av TSA-platen til prøvetakingen som ble utført fra 8-meteren. . . . .	23
4.2	Representativt bilde av TSA-platen til prøvetakingen som ble utført fra hjørnesparket. . . . .	24
4.3	Representativt bilde av TSA-platen til prøvetakingen som ble utført fra toalettet. . . . .	24
4.4	Stolpediagram som gir en oversikt over første parallell for gjennomsnittlig CFU/dm <sup>2</sup> med standardavvik. Prøvetakingen ble utført på tre ulike områder på Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 30 minutter. . . . .	25
4.5	Stolpediagram som gir en oversikt over andre parallell for gjennomsnittlig CFU/dm <sup>2</sup> med standardavvik. Prøvetakingen ble utført på tre ulike områder på Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 30 minutter. . . . .	26
4.6	Bilde av TSA-platene fra midtbanen. Dette er alle replikatene fra andre parallell. . . . .	27
4.7	Stolpediagram som gir en oversikt over tredje parallell for gjennomsnittlig CFU/dm <sup>2</sup> med standardavvik. Prøvetakingen ble utført på tre ulike områder på Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 30 minutter. . . . .	28
4.8	Bilde av TSA-plate fra tredje parallell til prøvetakingen fra 8-meteren. . . . .	28
4.9	Stolpediagram som gir en oversikt over første parallell for gjennomsnittlig CFU/dm <sup>2</sup> med standardavvik. Prøvetakingen ble utført på tre ulike områder på Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 24 timer. . . . .	29
4.10	Bilde av TSA-plate fra den første parallellen til prøvetakingen fra hjørnespark-flagget. . . . .	30
4.11	Stolpediagram som gir en oversikt over andre parallell for gjennomsnittlig CFU/dm <sup>2</sup> med standardavvik. Prøvetakingen ble utført på tre ulike områder på Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 24 timer. . . . .	30

4.12	Bilde av TSA-plate fra den andre parallellen til prøvetakingen fra midtbanen. . . . .	31
4.13	Stolpediagram som gir en oversikt over tredje parallell for gjennomsnittlig CFU/dm <sup>2</sup> med standardavvik. Prøvetakingen ble utført tre ulike områder på Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 24 timer. . . . .	31
4.14	Bilde av TSA-plate fra tredje parallell til prøvetakingen fra midtbanen. . . . .	32
4.15	Bilde av MSA-plate fra andre parallell til prøvetakingen fra 8-meteren. . . . .	32
4.16	Bilde av MSA-plate fra tredje parallell til prøvetakingen fra 8-meteren. . . . .	33
4.17	Stolpediagram som gir en oversikt over andre parallell for gjennomsnittlig CFU/dm <sup>2</sup> med standardavvik av det kontrollerte laboratorieeksperimentet. . . . .	34
4.18	Et representativt bilde av alle tre MSA-replikatene fra første parallell av kunstgressmatten med sand og oliven før rengjøring. . . . .	35
4.19	Et representativt bilde av alle tre MSA-replikatene fra andre parallell av kunstgressmatten med oliven og sand 48 timer etter rengjøring. . . . .	35
4.20	Et representativt bilde av alle tre MSA-replikatene fra tredje parallell av den blanke kunstgressmatten fem dager etter rengjøring. . . . .	36
D.1	Stolpediagram av gjennomsnittlig CFU/dm <sup>2</sup> fra kunstgressmattene med ulik fyllmateriale etter 48 timer. . . . .	XIII
D.2	Stolpediagram av gjennomsnittlig CFU/dm <sup>2</sup> fra kunstgressmattene med ulik fyllmateriale etter 5 døgn. . . . .	XIV
D.3	Et representativt bilde av MSA-platen før overføring av rengjøringsmiddelet på den blanke kunstgressmatten. . . . .	XIV

## Tabeller

3.1	Oversikt over utstyr og reagenser som ble benyttet. . . . .	15
4.1	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> for 50, 75 og 100 µL allikvote. . . . .	23
4.2	Oversikt over gjennomsnittlig CFU/dm <sup>2</sup> fra ulike områder på NTNU Kalvskinnet. . . . .	24
4.3	Oversikt over masse (mg) fra tre fullstendige trykk fra ti paralleller. . . . .	33
A.1	Oversikt over total kintall fra TSA-platene fra 8-meteren etter rengjøring med ventetid på 24 timer. . . . .	I
B.1	Oversikt over antall kolonier fra ulike områder på NTNU Kalvskinnet . . . . .	III
C.1	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for første parallell. . . . .	III
C.2	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for andre parallell. . . . .	IV
C.3	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for tredje parallell. . . . .	IV
C.4	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for første parallell. . . . .	V
C.5	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for andre parallell. . . . .	VI
C.6	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for tredje parallell. . . . .	VII
C.7	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for første parallell. . . . .	VIII
C.8	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for andre parallell. . . . .	IX

C.9	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for tredje parallell. . . . .	X
C.10	Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene før rengjøring av Flatåshallen	X
C.11	Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene etter rengjøring av Flatåshallen med ventetid på 30 minutter . . . . .	XI
C.12	Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene etter rengjøring av Flatåshallen med ventetid på 24 timer . . . . .	XII
D.1	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra første parallell av kunstgressmattene med ulike fyll. .	XV
D.2	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra andre parallell av kunstgressmattene med ulike fyll. .	XV
D.3	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra tredje parallell av kunstgressmattene med ulike fyll.	XV
D.4	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra første parallell av kunstgressmattene med ulike fyll, 48 timer etter rengjøring. . . . .	XVI
D.5	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra andre parallell av kunstgressmattene med ulike fyll, 48 timer etter rengjøring. . . . .	XVI
D.6	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra tredje parallell av kunstgressmattene med ulike fyll, 48 timer etter rengjøring. . . . .	XVI
D.7	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra første parallell av kunstgressmattene med ulike fyll, fem døgn etter rengjøring. . . . .	XVII
D.8	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra andre parallell av kunstgressmattene med ulike fyll, fem døgn etter rengjøring. . . . .	XVII
D.9	Oversikt over CFU/dm <sup>2</sup> fra tredje parallell av kunstgressmattene med ulike fyll, fem døgn etter rengjøring. . . . .	XVII
D.10	Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene før rengjøring av kunstgressmattene . . . . .	XVIII
D.11	Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene 48 timer etter rengjøring av kunstgressmattene . . . . .	XVIII
D.12	Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene fem dager timer etter rengjøring av kunstgressmattene . . . . .	XVIII

# Innhold

Forord	i
Sammendrag	ii
Sammendrag	iv
Definisjoner og forkortelser	v
Figurliste	viii
Tabell-liste	ix
<b>1 Introduksjon</b>	<b>1</b>
<b>2 Teori</b>	<b>2</b>
2.1 Kunstgress generelt - oppbygning og bruk	2
2.1.1 3G og 4G kunstgress	2
2.1.2 SBR-granulat	4
2.1.3 Ifyll av organisk materiale	5
2.1.3.1 Olivensteiner som ifyll på kunstgressbaner	6
2.1.4 Generell vedlikehold av kunstgressbaner	6
2.2 Mikroorganismer	7
2.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.3.1 Infeksjon, utbredelse og spredning	8
2.3.2 Biofilm dannning av <i>S.aureus</i>	9
2.4 MRSA (meticillin-resistente <i>Staphylococcus aureus</i> )	9
2.4.1 Infeksjoner av MRSA	10
2.4.2 "Community-associated" MRSA (CA-MRSA)	10
2.5 Næringsmedier for mikroorganismer	11
2.5.1 Egenskaper til trypticase soy agar (TSA)	11
2.5.2 Egenskaper til mannitol salt agar (MSA)	11
2.5.3 CFU - Colony Forming Units	11
2.6 Påvisningstester av <i>S.aureus</i>	12
2.6.1 Deteksjon av oksidase	12
2.6.2 Deteksjon av katalase	13
2.6.3 Gramfarging av bakterier	13
<b>3 Materialer og metoder</b>	<b>15</b>
3.1 Materialer og kjemikalier	15
3.2 Metoder	16
3.2.1 Tillaging av TSA	16
3.2.2 Tillaging av MSA	16
3.2.3 Tillaging av TSB	16
3.2.4 Forforsøk	16
3.3 Feltforsøk - Omfanget av mikroorganismer på Flatåshallen	18
3.3.1 Prøvetaking før- og etter rengjøring	18
3.3.2 Rengjøring av kunstgress	18

3.3.3	Inokulering av prøvene på TSA-plater . . . . .	19
3.3.4	Inokulering av prøvene på MSA-plater . . . . .	20
3.3.5	Påvisningstester for <i>S.aureus</i> . . . . .	20
3.4	Kontrollert laboratorieeksperiment - Vekst av <i>Staphylococcus aureus</i> på kunstgressmatter fra Flatåshallen . . . . .	21
3.5	Dyrking av <i>Staphylococcus aureus</i> . . . . .	21
3.5.1	Nøyaktighetstesting av sprayflaske . . . . .	21
3.5.2	Forberedelse av kunstgressmatter med ulike fyllmaterialer . . . . .	21
3.5.3	Desinfisering av kunstgressmatter . . . . .	21
3.5.4	Overføring av <i>S.aureus</i> til kunstgressmatter . . . . .	21
3.5.5	Rengjøring av kunstgresset etter overføring av <i>S.aureus</i> . . . . .	22
<b>4</b>	<b>Resultater</b>	<b>23</b>
4.1	Forforsøk . . . . .	23
4.1.1	Oversiktsresultater for kimtall fra Flatåshallen . . . . .	23
4.1.2	Resultater for kimtall fra offentlige steder . . . . .	24
4.2	Feltforsøk . . . . .	25
4.2.1	Resultater for totalt kimtall fra Flatåshallen før rengjøring sammenlignet med etter rengjøring med ventetid på 30 minutter . . . . .	25
4.2.2	Resultater fra Flatåshallen før rengjøring sammenlignet med etter rengjøring med ventetid på 24 timer . . . . .	29
4.2.3	Resultater av MSA-platene fra Flatåshallen før- og etter rengjøring . . . . .	32
4.3	Kontrollert laboratorieeksperiment - Eksponering av <i>Staphylococcus aureus</i> til kunstgressmatter . . . . .	33
4.3.1	Testing av sprayflaske . . . . .	33
4.3.2	Kunstgressmatter eksponert for <i>S.aureus</i> - Resultater før- og etter rengjøring med Nüescosept PRO, med ventetid på 48 timer og fem dager . . . . .	33
<b>5</b>	<b>Diskusjon</b>	<b>37</b>
5.1	Forforsøket . . . . .	37
5.1.1	Resultater av forforsøk - Mikrobiell aktivitet på Flatåshallen sammenlignet med offentlige steder . . . . .	37
5.2	Faktorer som påvirker mikrobiell vekst på kunstgress . . . . .	37
5.2.1	Fyllmateriale . . . . .	38
5.3	Feltforsøket - Før og etter rengjøring av et bestemt areal på Flatåshallen . . . . .	38
5.3.1	Valg av konsentrasjon for rengjøring av kunstgress . . . . .	38
5.3.2	Bruk av oksidasetesting og katalasetesting . . . . .	39
5.3.3	Totalt antall kimtall før rengjøring av Flatåshallen . . . . .	39
5.3.4	Total antall kimtall etter rengjøring av Flatåshallen med ventetid på 30 minutter . . . . .	40
5.3.5	Total antall kimtall etter rengjøring av Flatåshallen med ventetid på 24 timer . . . . .	40
5.3.6	Tilstedeværelse av <i>S.aureus</i> etter rengjøring av Flatåshallen . . . . .	41
5.3.7	Nøyaktighet og mulige feilkilder av feltforsøket . . . . .	42
5.4	Kontrollert laboratorieeksperiment - Eksponering av <i>Staphylococcus aureus</i> til kunstgressmatter . . . . .	42
5.4.1	Bruk av 10 % <i>S.aureus</i> . . . . .	42

5.4.2	Resultater for kunstgressmatter eksponert for <i>S.aureus</i> før rengjøring med Nüescosept PRO . . . . .	43
5.4.3	Resultater for kunstgressmatter eksponert for <i>S.aureus</i> 48 timer etter rengjøring med Nüescosept PRO . . . . .	43
5.4.4	Resultater for kunstgressmatter eksponert for <i>S.aureus</i> fem døgn etter rengjøring med Nüescosept PRO . . . . .	44
5.4.5	Nøyaktighet og feilkilder ved det kontrollerte laboratorieeksperimentet . .	44
5.5	Generelle anbefalinger til videre arbeid . . . . .	45
<b>6</b>	<b>Konklusjon</b>	<b>46</b>
	<b>Referanser</b>	<b>47</b>
<b>A</b>	<b>Vedlegg 1: Beregninger</b>	<b>I</b>
A.1	Beregning av kolonier til CFU/dm <sup>2</sup> . . . . .	I
A.2	Beregning av gjennomsnittsverdi, standardavvik og varians . . . . .	I
A.3	Beregning av gåhastighet under rengjøring . . . . .	II
A.4	Beregninger for fortykning av rengjøringsmiddel Nüescosept PRO . . . . .	II
A.5	Beregninger for tillaging av ifyll . . . . .	II
A.6	Beregninger for 10% <i>S.aureus</i> stamløsning . . . . .	II
<b>B</b>	<b>Forforsøk - Tabeller av antall kolonier</b>	<b>III</b>
<b>C</b>	<b>Feltforsøk - Tabeller av antall kolonier før og etter rengjøring</b>	<b>III</b>
C.1	Resultater fra Flatåshallen før rengjøring . . . . .	III
C.2	Resultater fra Flatåshallen etter rengjøring med ventetid på 30 minutter . . . . .	V
C.3	Resultater fra Flatåshallen etter rengjøring med ventetid på 24 timer . . . . .	VIII
C.4	Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene før rengjøring . . . . .	X
C.5	Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene etter rengjøring med ventetid på 30 minutter . . . . .	XI
C.6	Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene etter rengjøring med ventetid på 24 timer . . . . .	XII
<b>D</b>	<b>Kontrollert laboratorieeksperiment - Tabeller for antall kolonier etter rengjøring</b>	<b>XIII</b>
D.1	Kunstgressmatter eksponert for <i>S.aureus</i> - Resultater før- og etter Nüescosept PRO, med ventetid på 48 timer og fem dager . . . . .	XIII
D.2	CFU/dm <sup>2</sup> før rengjøring . . . . .	XV
D.3	CFU/dm <sup>2</sup> etter rengjøring med ventetid på 48 timer . . . . .	XVI
D.4	CFU/dm <sup>2</sup> etter rengjøring med ventetid på fem døgn . . . . .	XVII
D.5	Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene før rengjøring . . . . .	XVIII
D.6	Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene 48 timer etter rengjøring . .	XVIII
D.7	Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene fem dager etter rengjøring .	XVIII

# 1 Introduksjon

Kunstgress benyttes ofte i sammenheng med idrett, spesielt fotball, og er et alternativ til naturgress. Formålet med kunstgress er å ligne naturgress på størst mulig måte, i forhold til struktur og sammensetning. Det har vært en stor økning i antall kunstgressbaner de siste tiårene, og ifølge Norges Fotballforbund er det 2028 kunstgressbaner i Norge (mars 2022) [1]. Kunstgressets utvikling har gått gjennom fire generasjoner, hvor de to siste er tredje- og fjerde generasjons kunstgress (henholdsvis 3G og 4G). 3G kunstgress er mest utbredt på verdensbasis, og inneholder styren-butadien gummigranulat (SBR-granulat) som fyllmateriale. 4G er et nyere alternativ som ikke inneholder syntetisk fyllmateriale, og følgelig er mer miljøvennlig. Kunstgressbaner brukes i forbindelse med idrett og aktivitet, og i den forbindelse vil det transporteres organiske forbindelser fra brukerne til kunstgresset. Dette kan være forbindelser som snørr, svette, hudceller, blod og hår, noe som kan føre til biofilmdannelse på 4G kunstgress. Dette er ikke tilfelle for 3G kunstgress, da SBR-granulat inneholder kjemiske forbindelser som er inhiberende for bakterievekst [2]. 4G kunstgress inneholder derimot ikke slike kjemiske forbindelser. Utendørs kunstgressbaner har desinfiserende faktorer som UV-stråling og temperatursvinginger, som inhiberer mikrobiell vekst [3]. Ettersom en innendørs hall normalt ikke blir eksponert for UV-stråling, samtidig som temperaturer holder seg relativt stabile [4], er det ønskelig å kartlegge renholdsbehov for en innendørs 4G kunstgressbane.

Gummigranulat fra kunstgressbaner er verdens nest største kilde til utslipp av mikroplast [5]. Omtrent 6% av gummigranulatene havner utenfor banen hvert år, og det anslås at gummigranulat og kunstgress i Norge fører til et årlig utslipp av mikroplast på 6000 tonn [6]. Norges Fotballforbund (NFF) har presentert tiltak for å redusere spredning av granulat, da de ønsker at fotball viser ansvarlighet og være pådriver i miljøarbeidet [3]. I tillegg til miljøhensyn, vil tiltak for spredning av granulat også være hensiktsmessig av hensyn til banens kvalitet og baneieiers økonomi. Nyere teknologi av kunstgress kommer i form av en mer miljøvennlig tilnærming, hvor fyllmateriale er organisk. Der fordelene er et mer miljøvennlig kunstgress, ligger utfordringen i bakterievekst på organiske overflater [7].

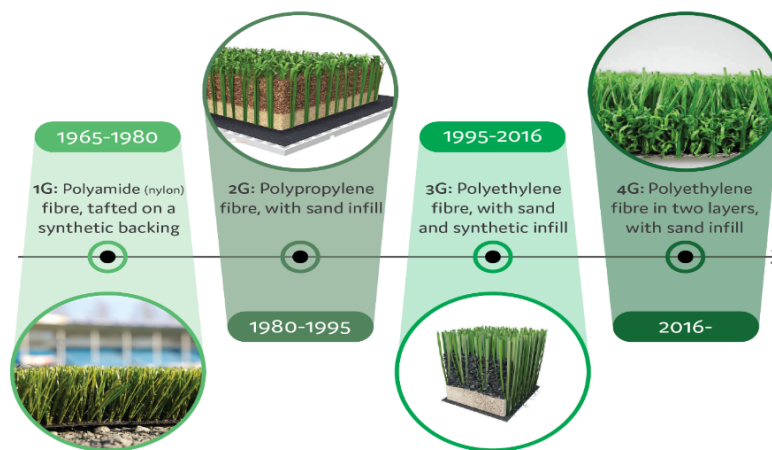
Denne bacheloroppgaven er skrevet i samarbeid med SIAT der hensikten med arbeidet er å undersøke effekten av kjemikaliet Nüescosept PRO som rengjøringsmiddel på 4G-kunstgress. Den første delen av det eksperimentelle er et forforsøk der det vil bli tatt oversiktsprøver fra Flatåshallen, samt referanseprøver fra offentlige steder som toalett, kjøkken, offentlige bad osv. Oversiktsprøver blir utført for å få en oversikt over hvilke resultater som kan forventes, samt øve på det laboratorietekniske arbeidet. Hoveddelen er et feltforsøket der det vil bli tatt prøvetaking før- og etter Nüescosept PRO er sprayet på kunstgresset. Dette er for å kartlegge omfanget av mikroorganismer som vokser på kunstgresset, samt undersøke effekten av rengjøringsmiddelet under naturlige forhold. I tillegg til feltforsøket direkte fra Flatåshallen, ble et kontrollert laboratorieeksperiment utført, et eksperiment der ulike faktorer kontrolleres. Her ble kunstgressmatten bestående av samme fyllmateriale som Flatåshallen forberedt for å eksponere kunstgresset for bakterien *Staphylococcus aureus*. Eksperimentet ble utført for å spesifikt undersøke hvor effektivt Nüescosept PRO er mot *Staphylococcus aureus*, da dette er den mest patogene bakterien som kan overføres fra kunstgresset til brukerne.

## 2 Teori

Teorien gir en oversikt over generell oppbygning og bruk av kunstgressmatter. Det belyser i tillegg miljø- og mikrobiologiaspektet, samt egenskaper og karakteristikk ved forskjellige typer kunstgress. Videre gis det en beskrivelse av egenskaper og karakteristikk av *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), samt ulike næringsmedier brukt til dyrking av bakterier. Til slutt blir ulike påvisningstester for *S.aureus* beskrevet.

### 2.1 Kunstgress generelt - oppbygning og bruk

Samtidig som etterspørselen av kunstgress har økt, har det skjedd en utvikling av kunstgressets konstruksjon og spillegenskaper. Denne utviklingen har gått gjennom fire generasjoner, illustrert i Figur 2.1 [4]. Det første kunstgresset som kom på markedet på 1960-tallet, var første generasjons kunstgress (1G) [8]. Dette kunstgresset ble lagt direkte på asfalt, betong eller sand. Kunstgresset var lagd av en matte med innvevd fiberstrå av polyamid (også kalt nylon). På 1980-tallet ble andre generasjons kunstgress (2G) utviklet, laget av polypropylen og sand som fyllmateriale [4]. Dempematten ble også introdusert i 2G for å bedre brukeropplevelsen. Ti år frem i tid, på 1990-tallet, ble tredje generasjons kunstgress (3G) utviklet. 3G er bygget opp av kunstgressfibre, sand og gummigranulat (SBR). Introduksjon av gummibasert ifyll og dempematte var to ulike tiltak for å nærme seg egenskaper som minner om naturgress. Dette har bidratt til at 3G har blitt det mest populære kunstgresset i Norge siden 2000-tallet [4]. Fyllmaterialene har i de aller fleste tilfeller vært SBR-gummigranulat, laget av oppkuttete bildekk. I 2016 ble fjerde generasjons kunstgress (4G) introdusert, uten SBR-granulat som fyllmateriale. Fyllmaterialet består i stedet av alternative fyllmaterialer som organiske materialer [4]. Den generelle oppbygningen av 4G er ellers lik 3G [9].



**Figur 2.1:** Kunstgresshistorien beskrevet gjennom fire generasjoner. Figuren viser utviklingen av fyllmateriale, kunstgressfibre og underlag fra første- til fjerdegenerasjons kunstgress [4].

#### 2.1.1 3G og 4G kunstgress

3G og 4G kunstgressmatter har en lignende generell oppbygning. Kunstgresset består av flere integrerte lag som simulerer utseendet, følelsen og ytelsen til en naturgressmatte. Kunstgress betegnes som et flerlagsprodukt som typisk består av:

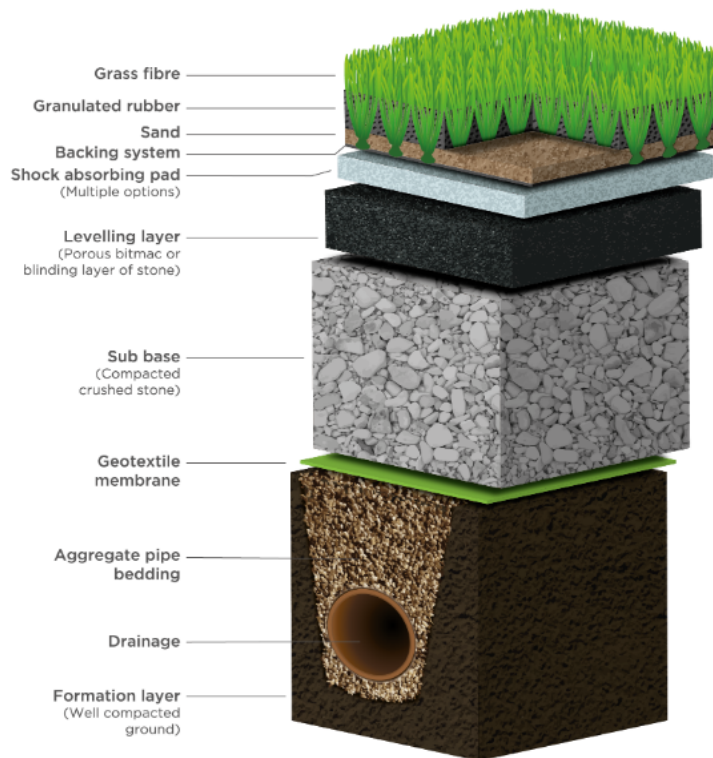


- Et topplag med fibre som vanligvis er lagd av nylon, polypropylen og polyetylen. Dette er designet for å etterligne naturlig gress.
- Ifyll for å gi demping og som underlag for gresset.
- Et baksidelag som bladene er sydd til.
- En base som fundament for gressmatten.
- En dempematte for ekstra demping.
- Et dreneringslag.
- Ekstra polstringslag.

Basen er vanligvis laget av hard stein eller betong, som gir et solid fundament for gressmatta. Steinlaget, som sitter i jorda, er konstruert med et frittrennende system som bidrar til å optimalisere dreneringsnivåene, og reduserer derfor sannsynligheten for en vannfylt matte [10].

Et støtdempende underlag, kalt dempematte, plasseres på toppen av asfaltlaget og under selve gressoverflaten som gir ekstra demping, illustrert i Figur 2.2 [9]. En høykvalitets dempematte vil også forlenge banens levetid. Bruk av støtdempende underlag avhenger av kunstgressfibrener lengde og tetthet, samt type og mengde fyllmateriale, da kunstgressets komponenter sammen utgjør banens egenskaper. Sammenlignet med kunstgressflater med lengre fibre er flater med kortere fibre i større grad avhengig av et støtdempende underlag. Så lenge kunstgressbanen oppfyller funksjonskravene til NFF og Kulturdepartementet (KUD), er et støtdempende underlag ikke nødvendig [11].

Kunstgresssteppe inneholder kunstgressfibre og et fyllmateriale bestående av sand nederst og granulat øverst, som vist i Figur 2.2 [9]. Gressfibrener er ofte laget av polyetylen, og er sydd fast til en matte. Fyllmaterialet er plassert mellom fibrener for å holde fibrener oppreist, samt gi demping og grep.



*Figur 2.2: En typisk 3G/4G kunstgressmatte, samt alle lagene som utgjør en kunstgressbane [9]*

Kunstgressbaner kan ha ulike fyllmateriale som alle har sine egenskaper med tanke på spillopplevelse, demping, grep osv. Noen typer er SBR, ethylene propylene diene monomer (EPDM), termoplastiske elastomerer (TPE) og organisk materiale [7]. Ettersom SBR-granulat er det tradisjonelle fyllmateriale for 3G kunstgress, vil Kapittel 2.1.2 fokusere på nettopp dette. Videre er organisk fyllmateriale i større grad brukt for 4G kunstgress, og Kapittel 2.1.3 vil dermed fokusere på organisk fyllmateriale.

### 2.1.2 SBR-granulat

Den utbredte bruken av SBR-granulat som støtdempende middel på kunstgressbaner begynte på 1990-tallet. I dag bruker anslagsvis 90% av eksisterende kunstgressmatter i Europa og USA denne typen fyllmateriale [7]. Det er frittflytende, homogent og ensartet sort gummigranulat som stammer fra oppmalte bildekk. Det har høy holdbarhet og størrelsen varierer mellom 0,8 mm til 3,0 mm [7]. Gummigranulene må ikke være for fine eller for grove, da dette går utover oppførselen til ballen. For fin gummigranulat gir en spilleflate som ikke er elastisk nok. På den andre siden vil for grov gummigranulat absorbere for mye av energien til ballen, som resulterer i dårlig sprett og returytelse. SBR-gummigranulat gir gode spillegenskaper for de fleste ballidretter, og sammenlignet med organiske fyllmaterialer som EPDM og TPE, er kostnadene lave. Kostnadene for SBR-gummigranulat ligger mellom 1900-2500 kr/tonn [7]. SIAT har derimot dokumentert at livsløpskostnadene for baner med SBR ikke er lavere enn andre alternativer [12]. SBR-granulat er kun tilgjengelig i svart farge og en ulempe er at granulatene fester seg til tøy, hud og gir en misfarge av tøy. Levetiden til et slikt felt er omtrent 10 år, hvoretter hele feltet erstattes [7].

En negativ side med SBR er at det er en kilde til mikroplast i miljøet. På grunn av sin lille størrelse kan denne mikroplasten lett inntas av organismer og samles i organismer på alle nivåer gjennom næringskjeden, og forårsake potensiell skade på det omkringliggende økosystemet [13]. Spredningen av mikroplast grunnet bruk av SBR –granulat på kunstgressbaner har en stor miljøpåvirkning. Den totale mengden mikroplast fra kunstgressbaner som havner i naturen er fortsatt usikkert, men estimat fra Mepex, på vegne av Miljødirektoratet, antyder at ca. 6000 tonn granulat forsvinner fra norske kunstgressbaner hvert år [2]. Mulige spredningsveier til miljøet er på vinteren ved bruk av snøfreser og skjær, kummer rundt/ved banen og spillere som tar med seg granulat fra banen, hvor det spres videre i garderoben og i hjemmet. Mengden granulat i hver spredningskilde er usikkert og bør analyseres i større grad. Mikroplast som kommer inn i miljøet vil imidlertid fortsatt bli eksponert for ultrafiolett lys og oksygen, noe som særlig kan påvirke partikkelstørrelsen, overflatemorfologien og mikrostrukturen til plasten [13]. Disse karakteristiske endringene gjør mikroplasten til en perfekt bærer for å tiltrekke seg ytterligere forurensninger som tungmetaller, persistente organiske forurensninger og andre forurensninger fra miljøet [13]. 3G kunstgress inneholder kjemiske forbindelser som sink og svovel. Slike metaller betegnes som inhiberende for mikrobiell vekst [2].

Gummigranulatet inneholder ulike komponenter, hvor blant annet 40 – 45 vekt% er gummi, ca. 20 vekt% carbon black, 5 – 6 vekt% silika, 15 – 25 vekt% metaller, 1 vekt% svovel og 2 vekt% sinkoksid [2]. Inneholdet av metaller domineres av bly, kadmium, kobber og sink. I tillegg inneholder SBR-granulat polysykliske aromatiske hydrokarboner (PAH), Semi – flyktige og flyktige forbindelser (VOC) og halvflyktige organiske forbindelser (SVOC). Disse forbindelsene ligger i støvet som ofte samles opp i innendørshaller, og har en negativ helseeffekt. SBR-granulat er karakterisert som et blandingsprodukt og ikke som et produkt, noe som gir det mildere grenseverdier [2].

### **2.1.3 Ifyll av organisk materiale**

Forskjellen på SBR-granulat og organisk ifyll, er at organisk ifyll ikke inneholder giftige forbindelser. Det finnes flere tilgjengelige utvalg av organiske fyllmaterialer til kunstgressbaner, og mest utbredt er kork, eller en blanding av kork og kokosfiber. I Norge ble det allerede i 2016 lagt et kunstgress med korkifyll [14]. Tilbakemeldingen på denne banen var at spillopplevelsen var på nivå med gummibanene [15]. Utfordringen er kostnadene, ettersom korken er dyrere enn gummi. I tillegg har det lett for å smuldre opp og flyte ut av banen. Dette fører til behov for etterfylling [14], og påfører baneieier unødvendig ressurstap. Ettersom kork og kokosfiber støver, er det ugunstig å benytte som fyllmateriale i innendørs kunstgresshaller. Organisk fyllmateriale i kunstgress er en mer miljøvennlig tilnærming, men utfordringen ligger i bakteriedannelse. Når organiske materialer tilføres fuktighet dannes gode vekstforhold for sopp, som utgjør en potensiell helseisiko [7]. En utfordring med et miljøvennlig kunstgress som har organiske fyllmaterialer, er at de ikke inneholder forbindelser som hemmer bakterievekst, slik 3G kunstgress gjør. Enkelte organiske fyllmaterialer er porøse og hydrofile, som gjør at de trekker til seg fuktighet og mikroorganismer [16]. Dette kan igjen fremme bakterievekst ved at vanning av kunstgressbaner kan tilføre fuktighet som trekker inn i hydrofile og porøse strukturer, og danner grunnlag for mikrobiell vekst.

Andre alternativer er sandifyll og knust olivenstein. For sandifyll oppleves banene som harde og glatte for junior- og seniorspillere. Det positive med sandifyll er at det ikke er nødvendig å etterfylle granulat og det er ikke nødvendig å gjøre tiltak rundt banen for å sikre seg mot

avrenning av gummi. For knust olivenstein skal spillopplevelsen være god og banene blir ikke like harde som for sand [14].

### **2.1.3.1 Olivensteiner som ifyll på kunstgressbaner**

Olivensteiner er en miljøvennlig og innovativ løsning for fyllmateriale i kunstgressbaner. Olivensteinene er et avfallsprodukt etter produksjon av olivenolje i Sør-Europa. Steinene knuses og gjenbrukes som ifyll i kunstgressbanen. Gammel gummigranulat som er støpt i plast, legges i bunn [17]. Olivensteinene er tyngre enn gummi og vil dermed gå lenger ned i gresset, som fører til at det blir mindre behov for etterfylling. Knuste olivensteiner er et materiale som det er overskudd av i verden i dag. Det er et avfallsprodukt som inngår i sirkulærøkonomien og gjenbruk av ressurser [18]. Det avgir ingen mikroplast og det stilles ingen spesielle krav til avhending. Ikke minst er det rimelig. Det har blitt rapportert av klubber som innfører kunstgressbaner av olivenkjerner, at banen er røff til å begynne med, men den blir bedre og bedre etterhvert som ifyllet har satt seg og driften blir optimalisert [18] [17]. Olivenstein endrer ikke form eller tekstur når den utsettes for regn eller varierende temperaturer. Materialet sveller ikke eller flyter og holder derfor sin effektivitet, selv under tøffe værforhold [19]. Ifølge overingeniør Bjørn Aas ved Senter for idrettsanlegg og teknologi (SIAT), NTNU, bidrar knuste olivenkjerner til økt friksjon i kunstgressdekket. Sammenlignet med kork og kokosfiber støver ikke knuste olivenkjerner, som er positivt for inne klimaet.

### **2.1.4 Generell vedlikehold av kunstgressbaner**

En myk og optimal kunstgressbane trenger godt vedlikehold for å oppbevare spillkvaliteten, samt forlenge levetiden på kunstgresset. Dårlig vedlikehold på kunstgressbaner fører til at kunstgresset blir hardere. Hardere kunstgress slites raskere og tilfredsstillende ikke de kravene som stilles til en god kunstgressbane [20]. Det finnes en rekke vedlikeholds metoder. Dyprens utføres for å fjerne fremmedlegemer som ikke skal være nede i dekket, slik som sand, søppel, snus og tyggegummi [21]. I denne rense-prosessen brukes en maskin som går dypt nede i banen med en roterende børste avhjulpert av maskinens sugeturbin. På denne måten fjernes hår, hudrester og miljøavfall som rester av fugleskitt og planter, samt søppel og småstein der hvor det er et problem [22]. I tillegg vil biologisk materiale fra mennesker, som døde hudrester og blod, renses bort. For innendørsbaner vil en dyprens forbedre luftkvaliteten gjennom å fjerne mye av svevestøvet som kan fremkalle luftveisrelaterte helseplager [22]. En dyprens bør gjennomføres 1-3 ganger i året, avhengig av bruksfrekvens og nærliggende miljøer. Dyprens av en bane tar mellom 2 og 5 timer, avhengig av grad av forurensning og størrelse på banen, og kan kun gjennomføres når banen er helt tørr [21].

Andre vedlikeholdsrutiner er harving/oppmykning, utlegging av ifyll og måling av luftkvalitet i innendørs haller. Hensikten med harving er å løse opp i komprimert gummigranulat, gjøre banen behagelig å spille på, samt for å redusere behovet for påfyll av granulat. Harvingen vil føre til høyere fyllhøyde på granulatet som gir en mykere kunstgressbane. Dette bør gjennomføres 3-6 ganger per måned avhengig av bruksfrekvens. Harving kan gjennomføres uavhengig av vær og tar mellom 1-1,5 time per bane [23]. Utlegging av ifyll sørger for gode spilleregenskaper og lang levetid. Påfyll av gjenvunnet eller nytt gummigranulat sikrer at banen har nødvendige spilleregenskaper for å redusere helseplager og gi et behagelig spillerunderlag. Riktig mengde ifyll reduserer slitasje på kunstgresset og vil forlenge levetiden til banen [24]. Påfyll kan gjennomføres

uavhengig av været, men banen bør renses før. Luftkvaliteten på innendørs idrettsanlegg er et resultat av det installerte friskluftanlegget, på renhold av banen, samt antall brukere av anlegget. Gjennom måling av CO<sub>2</sub>, svevestøv, temperatur og fuktighet avdekkes behov for vedlikehold av banen eller av friskluftanlegget. Målingene kan gjøres kontinuerlig eller som en avgrenset måling for planlegging av vedlikehold [25]. Ifølge TeBe sport anbefales kontinuerlig overvåking, mens en avgrenset måling anbefales gjennomført 2-3 ganger i året som tar 5-7 dager [25].

Desinfeksjon er en prosess som nøytraliserer eller dreper bakterier, sopp og virus, men prosessen dreper vanligvis ikke bakteriesporer [26]. Desinfeksjon kan også utføres med kjemiske metoder. Det finnes en rekke kjemiske desinfeksjonsmidler i både gassform og flytende form. Sistnevnte inkluderer ulike typer desinfeksjonsmidler som alkoholer, aldehyder, klorforbindelser, oksidasjonsmidler og syrer [26]. Desinfeksjon ved hjelp av kjemikalier på kunstgress er lite utprøvd. Ved desinfisering av store overflater kan det være utfordrende å bruke kjemiske desinfeksjonsmidler ettersom det kan kreves store mengder væske for å dekke hele området, noe som kan være både dyrt og vanskelig å få tak i [27]. Væsker kan også slite med å nå alle områder av gresset, da det har en grov struktur med fyll, som kan inneholde organisk materiale og beskytte mikroorganismene med sin komplekse overflate. Bacheloroppgaven ”Microbial Growth on Indoor Artificial Turf and Assessment of Suitable Disinfection Methods”, skrevet av Ludviksen T, Abdigadir S og Sørensen C, viser et forsøk på desinfisering av kunstgress fra Flatåshallen. Her ble sitronsyre, hydrogenperoksid og natriumhypokloritt sprayet på kunstgressmatten ved hjelp av en prototype av en væskespreder fra Elergy AS [28]. I desinfeksjonsdelen syntes sitronsyre, hydrogenperoksid og natriumhypokloritt å ha en positiv, men utilfredsstillende effekt på både sopp og bakterier [28]. De fleste prøvene inneholdt betydelig forekomst av sopp i første forsøk og bakterier i andre forsøk etter desinfeksjonen. Dette kan skyldes den komplekse strukturen til kunstgresset som muligens gjør det vanskelig for desinfeksjonsmidlene å nå alle områder i gresset [28].

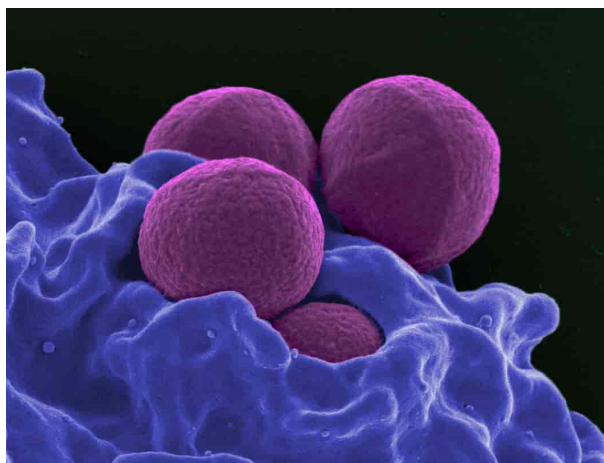
## 2.2 Mikroorganismer

Mikroorganismer er små organismer som ikke kan observeres uten bruk av mikroskop, og er den mest dominerende formen for liv på jorda. De ulike gruppene av mikroorganismer er virus, bakterier, sopp, alger og encellede arter [29]. En av utfordringene med 4G-kunstgress er at fyllmaterialet kan gi gode vekstforhold for mikroorganismer. Biofilm er et komplekst aggregat med lag av mikroorganismer som er dekket og innebygd i en egenprodusert matriks av ekstracellulære polymere stoffer (EPS) [29][30]. EPS er naturlige polymerer med høy molekylvekt som skilles ut av mikroorganismer til deres miljø [31]. EPS-er etablerer den funksjonelle og strukturelle integriteten til biofilmer, og regnes som den grunnleggende komponenten som bestemmer de fysiske-kjemiske egenskapene til en biofilm [31]. Biofilm kan både være fordelaktige eller skadelige. For bakterien er biofilm fordelaktig ettersom den blir beskyttet mot uttørkning, antibiotika og kroppens immunsystem. Det er funnet at bakterier er 1000 ganger mer antibiotikaresistente i en biofilm enn når de lever som enkeltceller [29]. Dette skyldes veksthastigheten som blir redusert i biofilm, samt mindre inntrenging av antimikrobielle forbindelser gjennom matriksen [29]. Kunstgressbaner brukes i forbindelse med idrett og aktivitet, og i den forbindelse vil det transporteres organiske forbindelser fra brukerne på kunstgresset. Dette kan være forbindelser som snørr, svette, hudceller, blod og hår, noe som kan føre til biofilmdannelse. Ligger banen utendørs kan organiske materialer i tillegg stamme fra dyr, nedbør, samt omkringliggende kilder som løv fra trær eller jord under brukerens sko [32].

Hudskader forekommer oftere på kunstgress, sammenlignet med naturgress. Dette kommer av at kunstgress er skarpere og mer robust enn naturgress, og vil følgelig forårsake flere skader og rifter på huden ved kontakt, ofte brannsåre som følge av sklitaklinger. Disse hudskadene kan virke som en smittevei for patogene bakterier som *S.aureus*. Denne bakterien kan ved sjeldne tilfeller forårsake sykdom hos friske mennesker [33], og kan forekomme når huden er skrappt opp eller kuttet [34]. Graden av hudlesjoner varierer med ulike typer kunstgressfibre.

### 2.3 *Staphylococcus aureus*

*S.aureus* er en av de mikroorganismene som kan oppholde seg på kunstgress. *S.aureus* er grampositive, katalase-positive og oksidase-negative bakterier. Morfologien til stafylokokker er kokker, som består av en slekt med runde bakterier. Figur 2.3 viser illustrasjonsfoto av stafylokokker. Infeksjoner av *S.aureus* karakteriseres ved blant annet puss, byll eller abscess. Alvorlige infeksjoner som for eksempel lungebetennelse, hjernehinnebetennelse og benbetennelse kan også bli forårsaket av *S.aureus* [33]. *S.aureus* har en optimumstemperatur på 37°C, men klarer å formere seg ved temperaturer mellom 10°C og 46°C [35]. *S.aureus* er en fakultativ anaerob bakterie. Dette betyr at bakterien kan leve både med- og uten oksygen. Dersom bakterien får tilgang til oksygen eller karbondioksid, vil dette øke veksthastigheten. *S.aureus* kan overleve i tørt miljø, men foretrekker høyere luftfuktighet. [35]



Figur 2.3: Illustrasjonsfoto av morfologien til stafylokokker [33].

#### 2.3.1 Infeksjon, utbredelse og spredning

*S.aureus* er små, hardføre bakterier som er i hud og slimhinner hos mange dyrearter, inkludert mennesker. Omtrent 30 % av voksne er bærere av *S.aureus* [36]. *S.aureus* er en vanlig årsak til hudinfeksjoner. Dersom *S.aureus* overviner hudbarrieren, kan det forårsake infeksjoner som byll eller alvorlige infeksjoner som ble tidligere nevnt i Kapittel 2.3 [36]. Næringskilden for bakterien er mucin som er hovedbestanddelen i spytt og slim [37].

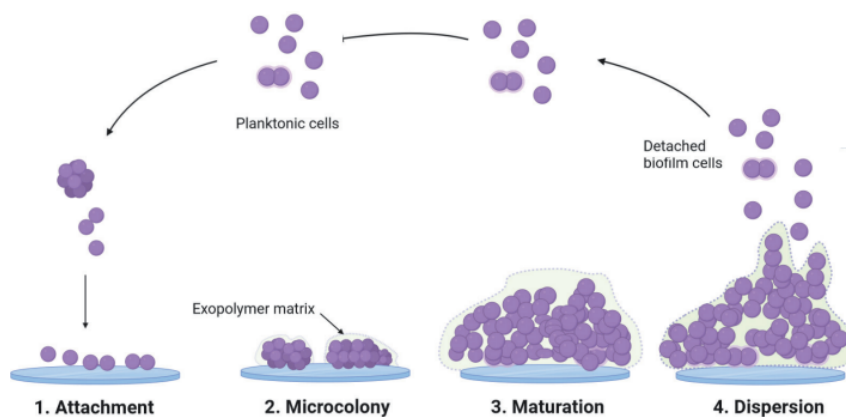
Det er ikke ofte det merkes at *S.aureus* er til stede, men de kan av og til gi ufarlige hudinfeksjoner. Hos personer med nedsatt immunforsvar, kan bakterien forårsake alvorlige infeksjoner. I slike situasjoner behandles bakterien med antibiotika. Det finnes gule stafylokokker som er resistente mot antibiotika. Disse kalles for meticillinresistent *Staphylococcus aureus* som kan forkortes ned til MRSA. Den største utfordringen med MRSA er at det kan være krevende å behandle, hvor smitten som oftest overføres ved berøring. Følgelig er det viktigste tiltaket god håndhygiene,

samt å rense og dekke til sår og rifter i huden [38]. Enkelte er mer utsatt for infeksjoner enn andre. Dette er personer med dårlig hygiene og kosthold, underliggende sykdommer, pågående infeksjoner, hudlesjoner, nedsatt immunforsvar eller diabetes mellitus. Systemiske infeksjoner kan oppstå dersom bakterien sprer seg til resten av kroppen gjennom blodbanen [39].

### 2.3.2 Biofilm dannning av *S.aureus*

Som tidligere nevnt i Avsnitt 2.2, gir biofilm en rekke fordeler for bakterier, spesielt *S.aureus*. Dannelse av biofilm gir denne bakterien en rekke overlevelses fordeler, som for eksempel celle-celle interaksjoner og økt beskyttelse. Grunnet biofilm, øker utholdenheten og spredningen av *S.aureus* både i biotiske og abiotiske habitater, som kan være et problem for 4G-kunstgressbaner. Det har blitt oppdaget biofilm dannet av *S.aureus* på biotiske og abiotiske overflater som medisinsk utstyr og matprodukter [36].

*S.aureus* er som de fleste sårpatogener, biofilmdannere [40]. Biofilmdannelse består av fire trinn. De ulike trinnene er tilknytning, dannelse av mikrokolonier, modning og spredning/løsrivelse. Første trinn starter med at frittflytende bakterier fester seg til abiotiske eller biotiske overflater. I neste trinn vil bakteriene fra første trinn koloniseres til et klissete aggregat, også kjent som mikrokolonier. I det tredje trinnet blir EPS produsert av bakterieceller, og dette blir brukt som en midlertidig arbeidsplattform for å etablere en tredimensjonal arkitektur. Siste trinn vil skje når det nås en spesifikk celledetthet. Da vil en mekanisme sette i gang EPS-nedbrytning. Celler som er innebygd i biofilmen blir frigjort, og disse cellene vil spre seg og restarte biofilmdannelsen [30]. Dette er illustrert i Figur 2.4.



Figur 2.4: De fire trinnene for biofilmdannelse [30].

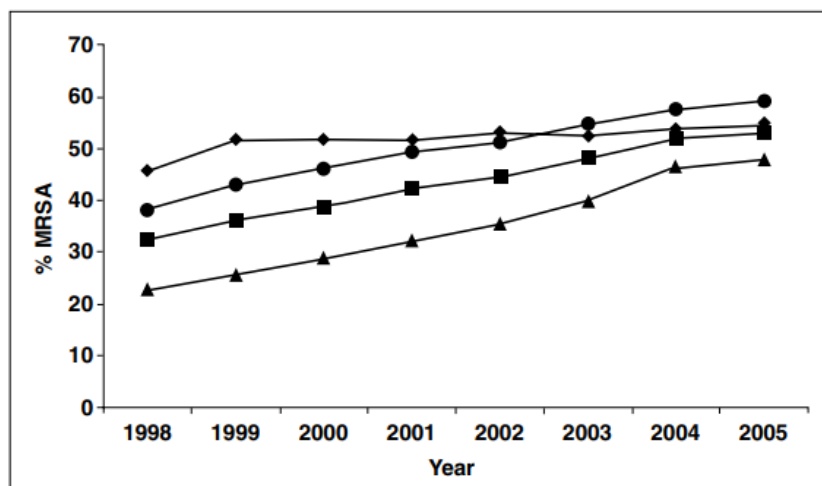
## 2.4 MRSA (meticillin-resistente *Staphylococcus aureus*)

Som nevnt tidligere kan *S.aureus* gi alvorlige infeksjoner. Systemiske effekter av toksin og blodforgiftning oppstod som følge av stafylokokk-infeksjoner, noe som førte til flere dødsfall før antibiotika-epoken. Antall dødsfall begynte å minke etter introduksjonen av penicillin på 1940-tallet. På slutten av 1950-tallet var omtrent halvparten av sykehusisolater smittet av penicillinresistente *S.aureus* [41]. Det ble senere benyttet methicillin for å behandle *S.aureus* som erstatning for penicillin. Noen få år senere, ble MRSA oppdaget. Siden den gang har MRSA vært et problem [41]. Det finnes flere ulike varianter av MRSA. En variant var «Hospital-acquired» MRSA (HA-MRSA), som var et problem på sykehus da det ble lett spredt rundt til pasienter og ansatte [41]. De andre ulike variantene er blant annet «community-associated» MRSA (CA-MRSA) og «Livestock-associated» MRSA (LA-MRSA).

De første tilfellene for CA-MRSA kom på 1980-tallet [41]. CA-MRSA er en variant som kan forekomme i grupper der det er mye kontakt. LA-MRSA er vanligst å finne hos svin, men mulig å finne hos blant annet hunder eller katter. Dette er dyreassosiert MRSA, men det kan fortsatt smitte over til mennesker [41].

#### 2.4.1 Infeksjoner av MRSA

MRSA kan forårsake alvorlige infeksjoner hos personer med svekket immunforsvar. MRSA kan gi samme type infeksjon som ikke-resistente *S.aureus*, og følgelig er det svært viktig at det unngås spredning av MRSA i miljø som sykehus og sykehjem. Sykehjem og sykehus i Norge er opptatt av dette [38]. Som nevnt tidligere i Kapittel 2.3.1, er omtrent 30 % av voksne bærere av *S.aureus*. De finnes i nesen eller huden, men det er sjeldent at friske personer blir syke av disse. Resistansen til *S.aureus* har økt de siste årene, som illustrert i Figur 2.5. MRSA oppstår som oftest på helseinstitusjoner, ettersom det er her *S.aureus* blir utsatt for flere typer antibiotika. Dette er med på å øke antibiotikaresistensen [41].



**Figur 2.5:** Graf over økning av MRSA fra 1998 til 2005. «Diamant» linjen indikerer intensivpasienter, «sirkel» linjen indikerer sykehuspasienter, «firkant» linjen indikerer alle pasienter og «trekant» linjen indikerer polikliniske pasienter [41].

#### 2.4.2 "Community-associated" MRSA (CA-MRSA)

CA-MRSA er MRSA infeksjon som oppstår hos friske personer som ikke har blitt innlagt på sykehus eller hatt en medisinsk prosedyre i løpet av det siste året [42]. Hvem som helst kan få CA-MRSA, men det har blitt observert utbrudd blant idrettsutøvere (spesielt de som er involvert innenfor ballsport), innsatte, militære rekrutter og sprøytebrukere. Deling av blant annet personlige gjenstander som håndkle, barberingsmaskin og klær er med på å øke sannsynligheten for spredning av CA-MRSA [42]. Typiske symptomer for CA-MRSA er hudinfeksjoner. Det starter først med røde områder på huden som kan ligne på kviser. Dette utvikler seg til hudabscesser eller byller som kan forårsake puss, hevelse, smerte, feber og lungebetennelse [42]. Helsedepartementet i Minnesota har tidligere forsket på CA-MRSA og HA-MRSA [43]. Forskningen viser at det er forskjeller mellom HA-MRSA og CA-MRSA. Pasienter med HA-MRSA har en tendens til å være eldre enn personer med CA-MRSA. Isolerte CA-MRSA har vært mer mottakelige for Vancomycin, som er en del av en gruppe antibiotika kalt «glykopeptider» [[44] [43]]. HA-MRSA har ikke vært like mottakelige for Vancomycin som



CA-MRSA.

Behandling av CA-MRSA er krevende. Det finnes en rekke orale midler som kan benyttes for å behandle milde til moderate infeksjoner av CA-MRSA. Trimetoprim-sulfametoksazol og doksycyklin er to ulike antibiotika som kan benyttes mot CA-MRSA. Resistansratene til Trimetoprim-sulfametoksazol og doksycyklin er lave, samtidig som ingen av de har noe aktivitet mot stafylokokker [41]. Kirurgisk behandling kan også være en utvei for abscesser, der byllen blir åpnet og drenert [41]

## 2.5 Næringsmedier for mikroorganismer

Næringsmedier blir benyttet for å lagre, transportere eller dyrke mikroorganismer. Noen mikroorganismer kan vokse på de fleste næringsløsninger, mens andre har spesifikke næringskrav [29]. For at en organisme skal vokse på et kulturmedium, må den ha tilgang på alle nødvendige næringsstoffer for produksjon av energi og syntese av cellemateriale. Det er samtidig viktig at riktige konsentrasjoner blir benyttet [29]. Kulturmediet må gi organismene tilstrekkelig med vann og oksygen, samtidig som pH er innenfor organismenes krav. Hvis mikroorganismen er anaerob, skal ikke oksygen være til stede [29]. Mediet må i tillegg være sterilt, slik at mediet kun inneholder de organismene som ble inokulert. Som oftest er det størst fordel å dyrke mikroorganismer på fast medium. Agar har flere gode egenskaper og er utviklet av rødalger. Agar blir benyttet for å lage fast medium [29].

### 2.5.1 Egenskaper til trypticase soy agar (TSA)

Tryptic soy agar (TSA) blir benyttet for å fremme vekst av de fleste mikroorganismene. TSA er et komplekst medium, som betyr at det har ukjent kjemisk sammensetning. Det er tilsatt komplekse ingredienser som består av vitaminer og andre vekstfaktorer [29]. TSA er egnet for dyrking av bakterier, gjær og sopp. Mediet inneholder peptoner som er nødvendig for å sikre vekst av flere mikroorganismer [45]. TSA er et godt egnet medium for å finne total kimtall.

### 2.5.2 Egenskaper til mannitol salt agar (MSA)

*S.aureus* kan isoleres ved å benytte selektive og differensielle medier som for eksempel mannitol salt agar [36]. Selektive medier minker veksten av uønskede mikroorganismer, samtidig som det stimulerer veksten av de ønskede. Differensielle medier minker ikke veksten av uønskede mikroorganismer, men gjør det enklere å skille den ønskede mikroorganismen fra uønskede mikroorganismer [29]. MSA hemmer veksten av andre bakterier ettersom det inneholder 7,5 % NaCl. *S.aureus* vil fermentere mannitol, og dette vil føre til at det dannes gule kolonier på mediet [36]. Mannitol salt agar inneholder indikatoren fenolrød, som skifter farge ved pH-endringer. Det inneholder også sukkeret mannitol som kan fermentere til syre, noe som kan påvirke pH. Dette er faktorer som er viktig for å skille ulike stafylokokker [35].

### 2.5.3 CFU - Colony Forming Units

CFU - Colony Formin Units - er et begrep fra mikrobiologien, som gir en indikasjon for mengden levende mikroorganismer [46]. Dette tallet, bestemt ved å telle individuelle kolonier, beskriver antall celler som forblir levedyktige nok til å formere seg og danne små kolonier [47]. For å sikre sammenlignbarhet av ulike analyser, kan disse CFU-resultatene refereres til kolonidannende eneheter per  $\text{dm}^2$ , altså  $\text{CFU}/\text{dm}^2$  [46]. Formel 2.1 viser utregning av  $\text{CFU}/\text{dm}^2$ , der areal tilsvarer området mikroorganismer ble samlet opp fra.

$$CFU/dm^2 = \frac{\text{Antallkolonier} * \text{fortynningsfaktor}}{\text{Areal}} \quad (2.1)$$

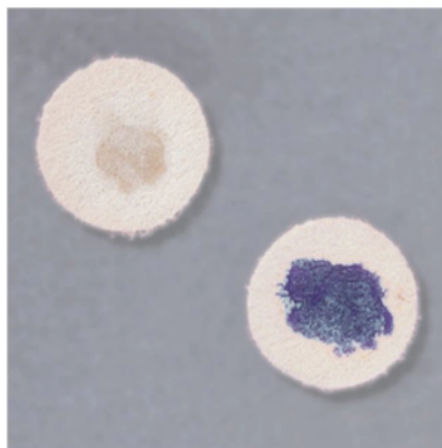
## 2.6 Påvisningstester av *S.aureus*

Som nevnt tidligere i Kapittel 2.5.2, blir *S.aureus* isolert ved bruk av blant annet MSA-plater. For et pålitelig resultat bør det utføres påvisningstester for å være sikre på at det er *S.aureus* som er til stede. For å påvise *S.aureus* utnyttes spesifikke egenskaper til bakterien for å skille *S.aureus* fra andre arter og mikroorganismer.

### 2.6.1 Deteksjon av oksidase

Som nevnt i Kapittel 2.3, er *S.aureus* oksidase-negativ. En påvisningstest som kan benyttes for deteksjon av oksidase, er ved hjelp av en mikrodase disk. Mikrodase disk er en plate impregnert med tetrametyl-p-fenylendiamin i metylsulfoksyd som blir benyttet for differensiering av stafylokokker og mikrokokker [48]. Testingen bør utføres på en aerob, katalase-positiv og gram-positiv koloni. Dette blir utført ved at en bakteriekoloni overføres til en mikrodase disk. Hvis det er positiv test, vil det dannes blå eller lilla-blå farge på mikrodase disken etter 2 minutter. Hvis det ikke har noen farge endringer etter 2 minutter, er dette en negativ test [49]. Figur 2.6 viser et bilde av en positiv og negativ oksidasetest.

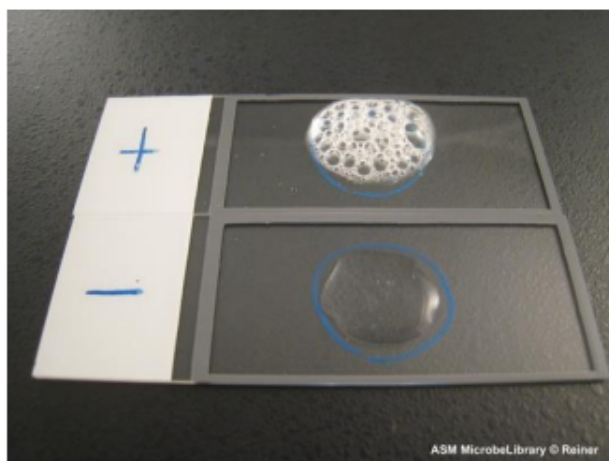
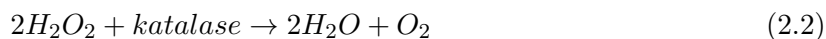
*S.aureus* og mikrokokker har lignende egenskaper. Mikrokokker og *S.aureus* er begge gram-positive, katalase-positiv og salt-tolerante kokker. Mikrokokker er koagulase-negative og oksidase-positiv, mens *S.aureus* er koagulase-positiv og oksidase-negativ [50]. Ved hjelp av en mikrodase disk kan mikrokokker og de fleste stafylokokker skilles. De differensieres ved påvisning av oksidase-enzymet [50]. På mikrodase disken, vil oksygen og oksidase reagere med tetrametyl-p-fenylendiamin og cytokrom C i bakterien. Alle mikrokokker inneholder cytokrom C, mens de fleste stafylokokker mangler cytokrom C. Dersom det utvikles en fargeendring, vil det si at cytokrom C er til stede [50].



**Figur 2.6:** Bilde av en positiv (nederst til høyre) og negativ (øverst til venstre) oksidasetest [48].

### 2.6.2 Deteksjon av katalase

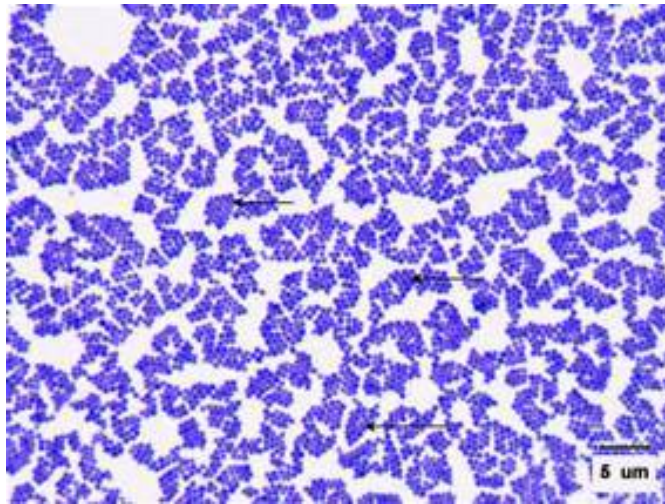
Det ble tidligere nevnt i Kapittel 2.3 at *S.aureus* er katalase-positive. Katalase er et enzym som spalter hydrogenperoksid ( $H_2O_2$ ) til vann og oksygen. Flere patogene mikroorganismer produserer katalase for å beskytte seg mot angrep fra hydrogenperoksid [51]. En katalasetest kan utføres ved at en bakteriekoloni overføres til et objektglass. Dette dekkes med én dråpe 10 % hydrogenperoksid. Hydroperoksid vil reagere med katalase og vil føre til at det bruser. Figur 2.7 illustrerer dette. Dette indikerer at det er oksyngengass til stede. Likning 2.2 viser reaksjonslikningen for denne reaksjonen [52].



Figur 2.7: Bilde av en positiv og negativ katalasetest [53].

### 2.6.3 Gramfarging av bakterier

Gramfarging benyttes for å klassifisere bakterier i to grupper, grampositive som beholder den blåfiolette fargen etter vask med etanol, og gramnegative som mister fargen etter vask med etanol [29]. Årsaken til at bakterier gramfarges forskjellig er på grunn av ulik oppbygning av celleveggen til gramnegative og grampositive bakterier. Under gramfarging av bakterier, trenger krystallfiolett og deretter jod inn i alle cellene. Dette fører til at det dannes et kompleks mellom krystallfiolett og jod inne i cellene [29]. Grampositive celler har tykt og finmasket nettverk av peptidoglykan slik at etanol ikke klarer å vaske fargekomplekset ut av cellen. Dette er grunnen til at grampositive celler beholder fargen. For gramnegative celler vil etanolbehandlingen ødelegge lipopolysakkaridlaget, ettersom porene er store i det tynne peptidoglykanlaget. Dette vil føre til at etanolen vasker krystallfiolett-komplekset ut av cellen, som igjen fører til at gramnegative celler blir fargeløse [29]. Fargeløse celler må kontrastfarges med safranin for at det skal være mulig å observere i lysmikroskopet [29]. Som tidligere nevnt i Kapittel 2.3, er *S.aureus* grampositiv. Det vil si at dersom det benyttes gramfarging av *S.aureus*, vil *S.aureus* beholde fargen. Fargen *S.aureus* beholder etter gramfarging er lilla som illustrert i Figur 2.8 [54].



*Figur 2.8: Etter gramfarging av S.aureus [54].*

### 3 Materialer og metoder

Metodedelen er delt inn i et feltforsøk og et kontrollert laboratorieeksperiment. Feltforsøket foregår på Flatåshallen der det ble tatt ut prøver direkte fra kunstgresset. Kunstgresset her tilsvarer en 7'er bane. Her var hensikten å undersøke generell bakterievekst på 4G-kunstgresset, samt teste effekten av rengjøringsmiddelet Nüescosept PRO mot mikrobiell vekst. Nüescosept PRO er et kjemikaliet levert av tyske Dr.Nüsken. Kjemikaliet er en blanding av didecyldimetylammoniumklorid ( $> 5\% - < 10\%$ ), kvartære ammoniumforbindelser ( $> 5\% - < 10\%$ ), (etylendioksy)dietanol ( $< 10\%$ ), isopropanol ( $< 5\%$ ), D-glykopyranose ( $> 1 - < 3\%$ ) og natriumhydroksid ( $< 0,5\%$ ). For det kontrollerte laboratorieeksperimentet ble det delt ut kunstgress som måtte blandes med riktig mengde fyllmateriale, for at det skulle være identisk likt kunstgresset på Flatåshallen. Hensikten her var å undersøke effekten av samme rengjøringsmiddel, men spesifikt for bakterien *Staphylococcus aureus*. Her var det ønskelig å samtidig undersøke reaksjonstiden på rengjøringsmiddelet, ettersom denne var ukjent.

#### 3.1 Materialer og kjemikalier

All laboratoriearbeid ble utført på Kalvskinnset NTNU, mens prøvetaking ble utført på Flatåshallen. Utstyr og reagenser sammen med produktnummer og produsent er presentert i Tabell 3.1.

*Tabell 3.1: Oversikt over utstyr og reagenser som ble benyttet.*

Utstyr og reagens	Produktnummer	Produsent
<i>Staphylococcus aureus</i> (pellets)	0179	Microbiologics
Tryptic Soy Broth (TSB)	22092-500G	Sigma-Aldrich
Agar	20767.298	VWR Chemicals
Mannitol salt agar (MSA)	12948244	Fisher Scientific
Remel Microdase disks	R21132	Fisher Scientific
Hydrogenperoksid (30%)	23622.298	VWR Chemicals
Petriskåler	2K359	VWR
Sprayflaske (500 mL)	215-4232	VWR
3M Swab-Samplers	RS9601LET	3M Norge
Objektglass		
Drigalskispatel		
Steril trepinne	112298	LP ITALIANA SPA
Kunstgressmatte		Utlevert av SIAT
Sand		Utlevert av SIAT
Olivengranulat		Utlevert av SIAT
Sterilskap (SAFE 2020)		Thermo Fisher Scientific
Inkubator	B 9051	Termaks
Autoklav	TOMY SX-700E	Tomy Digital Biology
Avtrekkskap		LabRum
Magnetrorer med varme		
Nüescosept PRO		DR.NÜSKEN

## 3.2 Metoder

### 3.2.1 Tillaging av TSA

Trypticase soy broth (30,0 g) og agar (15,0 g) ble tilsatt i to ulike pyrexflasker (1000 mL). En siste pyrexflaske (250 mL) ble tilsatt Trypticase soy broth (7,5 g) og agar (3,75 g). Alle tre flaskene ble satt på røring med varme, frem til pulveret løste seg. Løsningene ble sterilisert ved autoklaving (121°C, 2 timer). Etter autoklaving, ble TSA fordelt utover 120 petriskåler på en sterilbenk. Omtrent 1/3 – 1/2 av petriskålenes volum ble fylt opp med TSA. Platene stod først uten lokk i 15 minutter, og deretter med lokk i 24 timer i romtemperatur før de ble overført til kjølerom.

### 3.2.2 Tillaging av MSA

MSA (333 g) ble overført til en pyrexflaske (5000 mL) og løst i destillert vann (3000 mL). Deretter ble løsningen satt på røring med varme, frem til pulveret løste seg. Løsningen ble sterilisert ved autoklaving (121°C, 2 timer). Løsningen ble deretter fordelt til omtrent 150 petriskåler på en sterilbenk. Omtrent 1/3 – 1/2 av petriskålenes volum ble fylt opp med den steriliserte MSA-løsningen. Platene stod først uten lokk i 15 minutter, og deretter med lokk i 24 timer i romtemperatur før de ble overført til kjølerom.

### 3.2.3 Tillaging av TSB

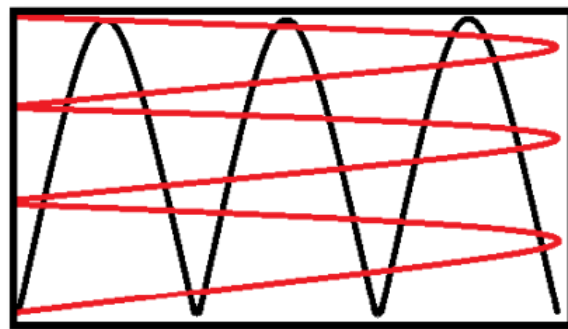
Trypticase soy broth (7,5 g) ble overført til en pyrexflaske (250 mL), og løst i destillert vann (250 mL). Løsningen ble satt på røring med varme, frem til pulveret løste seg. Når alt stoffet ble ferdig oppløst, ble pyrexflasken sterilisert ved autoklaving (121°C, 2 timer).

### 3.2.4 Forforsøk

Det ble hentet én parallell fra hvert område på Flatåshallen ved hjelp av 3M svab-sampler. Figur 3.1 viser bilde av 3M svab-sampler. Svaberen ble presset mot kunstgressfibrene uten å bli gravd ned i fyllmaterialet. Figur 3.2 viser mal som ble benyttet for prøvetaking fra kunstgressmatten. Prøvetakingen startet først i horisontal retning (rød linje) og deretter i vertikal retning (svart linje). Det ble benyttet en sterilisert plastramme som var 10 cm x 10 cm. Prøvetakingene ble gjort ved 8-meteren, hjørnesparket og midtsirkelen, som illustrert i Figur 3.3. I tillegg ble det hentet én parallell hver fra dørhåndtaket på et klasserom, dosetet på en felles do og av/på knapp på vanndispenser fra kantinen på NTNU Kalvskinnet. Det ble benyttet en sterilisert 5 cm x 5 cm plastramme under prøvetakingen av dosete, mens under prøvetakingen av vanndispenseren ble det benyttet 10 cm x 10 cm plastramme. Under prøvetakingen av dørhåndtaket ble det benyttet 2 cm x 5 cm plastramme. Alle seks prøvene ble inokulert til TSA-plater, der det ble tatt ut tre replikater fra hvert område. Prøvene ble oppbevart i plastpose frem til de ble overført til TSA-platene, samme dag som prøvetaking ble utført. Det ble tilsammen 18 TSA-plater. Dette ble utført på en sterilbenk. Alle TSA-plater ble inkubert i et sterilskap (37°C, 48 timer). Prøvene ble kontrollert for vekst etter 48 timer.



*Figur 3.1: Bilde av svaber som ble benyttet for prøvetaking [55].*

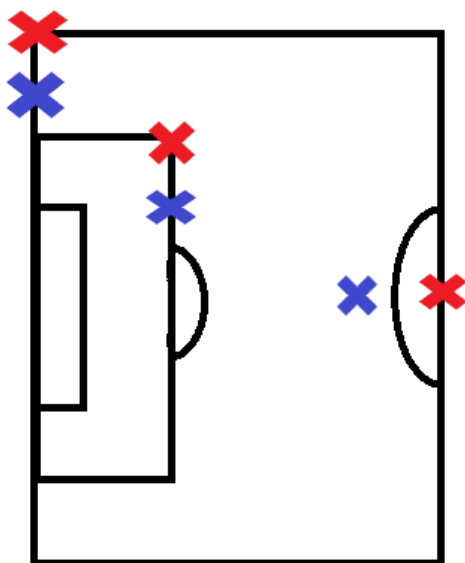


*Figur 3.2: Mal for utføring av prøvetaking.*

### 3.3 Feltforsøk - Omfanget av mikroorganismer på Flatåshallen

#### 3.3.1 Prøvetaking før- og etter rengjøring

Det ble tatt prøvetaking før og etter bruk av rengjøringsmiddelet Nüescosept PRO. Prøvetakingen ble utført ved hjelp av samme svaber som beskrevet i Kapittel 3.2.4. Metode og mal for prøvetaking ble utført samme måte som prøvetakingen utført på Flatåshallen i forforsøket. Prøvene ble hentet fra tre ulike områder på banen. Områdene ble valgt ut ifra der det pågår høyest aktivitet, slik at sannsynligheten for mikrobiell vekst er høyere. Det ble hentet prøver fra 8-meteren, midtsirkelen og hjørnesparket. Fra hvert område ble det hentet ut tre paralleller, der områdene er illustrert i Figur 3.3. Det ble benyttet en plastramme som var 10 cm x 10 cm. Plastrammen ble sterilisert med etanol mellom hver prøvetaking. Områdene der prøvetaking ble utført er markert med enten rød «X» eller blå «X». Rengjøringsmiddelet ble fortynnet til 0,25% og 0,5 %. Konsentrasjonene ble valgt ut ifra anbefalinger fra leverandøren av Nüescosept PRO. Rød «X» indikerer prøvetakingen før rengjøring og etter rengjøring med 0,25 % fortynning. Blå «X» indikerer for 0,5 % fortynning. Avstanden mellom rød «X» og blå «X» var 5 m, dette ble målt opp ved hjelp av en målestokk. Prøvetakingen fra alle de seks områdene ble utført to ganger på to ulike tidspunkt. Første prøvetaking ble utført 30 minutter etter rengjøring av de ulike områdene. Andre prøvetaking ble utført 24 timer etter rengjøring av de ulike områdene. Mellom første og andre prøvetaking var det aktivitet på banen. Prøvene ble oppbevart i plastpose frem til de ble overført til TSA-platene, samme dag som prøvetaking ble utført.



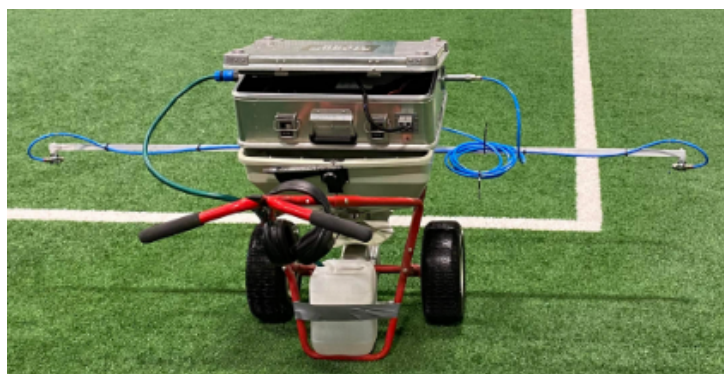
*Figur 3.3: Illustrasjon av en halv-fotballbane, inkludert markering av der de ulike prøvetakingene ble utført. Rød «X» indikerer prøvetakingen før rengjøring og etter rengjøring med 0,25 % fortynning. Blå «X» indikerer for 0,5 % fortynning.*

#### 3.3.2 Rengjøring av kunstgress

Rengjøring av kunstgress ble utført ved hjelp av apparatet som er vist i Figur 3.4 og 3.5. Bruk av apparatet ble gjennomført med assistanse fra Are Pedersen fra Elergy AS. Are Pedersen ga en innføring i hvordan apparatet fungerte. Det trengtes kun å skru på bryteren for å få generatoren i gang, slik at rengjøringsmiddelet med bestemt konsentrasjon kom ut av de to e-GM04 dysene.



Gåhastigheten under rengjøring ble beregnet til å være  $0,56 \frac{m}{s}$ . Beregninger er vist i Vedlegg A.3. Rengjøringen ble først utført med 0,25 % konsentrasjon av Nüescosept PRO. Nüescosept PRO (12,5 mL) ble fortynnet til en plastkanne (5 L). Dette ga en konsentrasjon på 0,25%, beregninger er vist i Vedlegg A.4. Områdene der rengjøringen ble gjennomført for 0,25 % konsentrasjon er illustrert som rød «X» i Figur 3.3. Tilsvarende ble Nüescosept PRO (25 mL) fortynnet til en plastkanne (5 L). Dette ga en konsentrasjon på 0,5 %, beregninger er vist i Vedlegg A.4. Etter rengjøring med 0,25 %, ble rengjøring med 0,5 % konsentrasjon av rengjøringsmiddelet benyttet. Områdene der rengjøringen ble gjennomført for 0,5 % konsentrasjon av rengjøringsmiddelet er illustrert som blå «X» i Figur 3.3.



*Figur 3.4:* Bilde av rengjøringsmaskinen som ble benyttet for rengjøring av kunstgressbanen.



*Figur 3.5:* Bilde av rengjøringsmaskinen under bruk.

### 3.3.3 Inokulering av prøvene på TSA-plater

Prøvene (75  $\mu$ L) ble overført til hver TSA-plate ved hjelp av en pipette. Det ble benyttet fire replikater fra hver parallell, der tre av replikatene ble overført til TSA-plater. En drigalskispattel av glass ble sterilisert og flambert, før den ble brukt til å fordele løsningen utover platene. Drigalskispatelen ble vasket med sprit og flambert mellom hver parallell og prøve. TSA-platene ble inkubert i sterilskap (37°C). Det ble kontrollert for oppvekst etter 48 timer.

### 3.3.4 Inokulering av prøvene på MSA-plater

Den siste replikaten (100 µL) fra hver parallell ble overført til MSA-plater ved hjelp av en pipette. En drigalskispattel av glass ble sterilisert og flambert, før den ble brukt til å fordele løsningen utover platene. Drigalskispattelen ble vasket med sprit og flambert mellom hver parallell og prøve. MSA-platene ble inkubert i sterilskap (37°C). Vekst ble kontrollert etter 48 timer. Det var kun gule kolonier på MSA-platen som ble dokumentert.

### 3.3.5 Påvisningstester for *S.aureus*

MSA-platene ble kontrollert for å påvise tilstedeværelse av *S.aureus*. Påvisningstester ble utført i form av katalase- og oksidasetesting. Katalasetesting ble utført ved at en bakteriekoloni ble overført til et objektglass. Dette ble overført ved hjelp av en steril trepinne. Hydrogenperoksid (3 mL, 30 %) ble overført til målesylinder (10 mL) sammen med vann (6 mL), som til slutt ga 10 % hydrogenperoksid. Hydrogenperoksid (én dråpe, 10%) ble dekket over bakteriekolonien. Resultatet ble dokumentert.

En modifisert oksidasetest ble utført ved at en bakteriekoloni ble overført til en mikrodase disk ved hjelp av en steril trepinne. Deretter ble dette inkubert i romtemperatur i to minutter. Resultatet ble ansett som negativ dersom det ikke var noen farge endringer etter 2 minutter. Det ble sett på som positiv test dersom det dannet blå eller lilla-blå farge på mikrodase disken etter 2 minutter. Resultatet ble dokumentert.

### **3.4 Kontrollert laboratorieeksperiment - Vekst av *Staphylococcus aureus* på kunstgressmatter fra Flatåshallen**

### **3.5 Dyrking av *Staphylococcus aureus***

Et sterilt reagensrør ble tilsatt en pellet av *S.aureus*. Pelleten ble knust med en steril trepinne, deretter overført til en steril dyrkningskolbe (250 mL). Dyrkningskolben med den knuste pelleten ble tilsatt TSB (250 mL). Rester av pelleten i reagensrøret ble skylt med TSB ned i dyrkningskolben. Dyrkningskolben ble dyrket i et sterilt inkubatorskap (37°C, 24 timer). Mediet i dyrkningskolben ble da stamløsning med 100% *S.aureus*.

#### **3.5.1 Nøyaktighetstesting av sprayflaske**

Nøyaktigheten av sprayflasken ble undersøkt ved hjelp av vann og veieskip. Vann ble overført til veieskip ved hjelp av fem fullstendige trykk på sprayflasken, med en avstand på fem cm. Veieskipet stod på en analysevekt, hvor vekten ble lest av med fire desimals nøyaktighet. Det ble utført ti paralleller.

#### **3.5.2 Forberedelse av kunstgressmatter med ulike fyllmaterialer**

Det ble mottatt tre blanke kunstgressmatter, samt sand og olivenkjerner fra SIAT. Tilhørende sertifikater for olivenkjerner og sand ble mottatt for optimal blanding av mattene. Det ble overført sand (300 g) og olivenkjerner (54,6 g) til en kunstgressmatte på 273 m<sup>2</sup>. Kontrollert laboratorieeksperiment ble altså utført på kunstgressmatte uten fyllmateriale, samt kunstgressmatte med olivenkjerner og sand som fyllmateriale. Beregninger av vekt for de ulike fyllmaterialene er vist i Vedlegg A.5.

#### **3.5.3 Desinfisering av kunstgressmatter**

Desinfisering av kunstgress ble utført for å eliminere mikroorganismer som allerede var til stede i kunstgresset. Kunstgressmattene ble desinfisert ved hjelp av UV-stråling. Mattene ble eksponert for UVC-stråling (254 nm) i 60 minutter. Det ble tatt prøver fra mattene etter UV-strålingen. Dette ble gjort med en steril bomullspinne dyppet i sterilt vann som ble strøket ut fem ganger vertikalt og fem ganger horisontalt på mattene. Prøvene ble deretter overført til TSA-plater der veksten ble undersøkt etter 24- og 48 timer.

#### **3.5.4 Overføring av *S.aureus* til kunstgressmatter**

Stamløsningen (50 mL) med *S.aureus* ble overført til en sprayflaske (500 mL), som ble fortynnet videre med sterilisert vann (450 mL). Dette ga en konsentrasjon på 10%, beregninger er vist i Vedlegg A.6. Sprayflasken ble på forhånd sterilisert ved hjelp av autoklaving (121°C, 2 timer). Sprayflasken (10% *S.aureus*) ble brukt til å overføre *S.aureus* til kunstgressmattene. Dette ble utført ved tre fullstendige trykk på sprayflaksen med en 90 graders vinkel og 10 cm avstand fra kunstgressmattene. Fem døgn etter overføringen av *S.aureus* til kunstgressmattene ble prøvetaking på mattene utført på samme måte som forklart i Kapittel 3.2.4. Bakterieveksten ble overført til MSA-platene ved hjelp av utstrykningsteknikk, som illustrert i Figur 3.2. Veksten ble dokumentert etter 48 timer i et sterilskap (37°C).

### **3.5.5 Rengjøring av kunstgresset etter overføring av *S.aureus***

Kunstgressmattene med *S.aureus* fra Kapittel 3.5.4 ble rengjort for å undersøke effekt av rengjøringsmiddelet. Nüescosept PRO (2,5 mL) ble overført til en sprayflaske (500 mL), og fortynnet med sterilisert vann slik at konsentrasjonen ble 0,5 %, beregninger er vist i Vedlegg A.4. Kunstgresset med fyllmaterialet ble delt i to deler. Den ene delen ble sprayet med tre fullstendige trykk på sprayflasken, mens den andre ble sprayet med seks fullstendige trykk. Kunstgresset uten fyllmateriale ble sprayet med tre fullstendige trykk. Prøvetaking ble gjort som beskrevet i 3.3.1. Prøvetaking ble gjort etter 48 timer og fem dager.

## 4 Resultater

### 4.1 Forforsøk

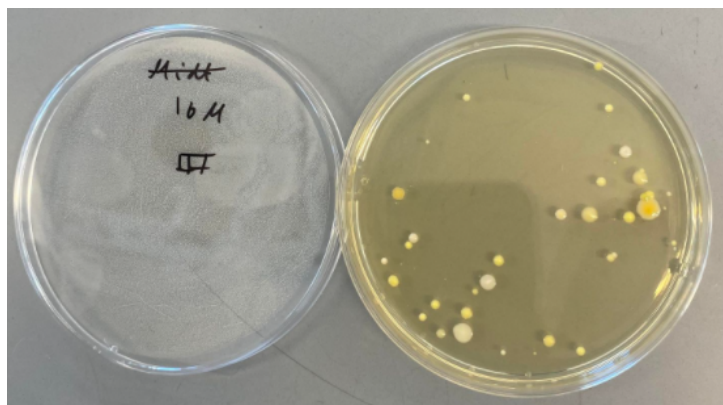
#### 4.1.1 Oversiktsresultater for kimtall fra Flatåshallen

Tabell 4.1 gir en oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra Flatåshallen fra forforsøket. Her ble det benyttet allikvoter på 50 µL, 75 µL og 100 µL. Prøvetakingene ble utført på midtsirkelen, 8-meteren og ved hjørnesparket. Kimtall oppgis i CFU/dm<sup>2</sup>, der CFU er antall kolonier multiplisert med fortynningsfaktor. Ingen prøver ble fortynnet gjennom hele prosjektet, og derfor var fortynningsfaktoren 1. Plastrammen benyttet under prøvetakingene hadde et areal på 1 dm<sup>2</sup>. Se Vedlegg A.1 for eksempel på beregning av kimtall til CFU/dm<sup>2</sup>. Tabellen 4.1 viser at samtlige allikvoter på 100 µL hadde høyest CFU/dm<sup>2</sup>. Det kan observeres fra samtlige områder at ingen hadde overvekst eller undervekst.

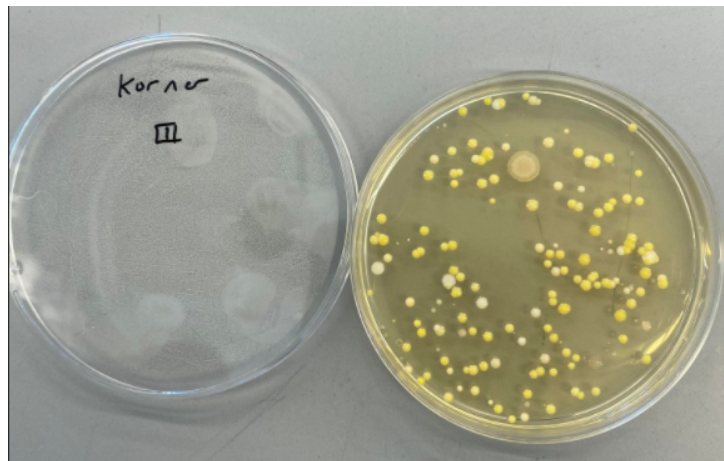
*Tabell 4.1: Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> for 50, 75 og 100 µL allikvote.*

Område	Allikvote [µL]	CFU/dm <sup>2</sup>
8-meteren	50	16
8-meteren	75	16
8-meteren	100	26
Hjørnesparket	50	60
Hjørnesparket	75	88
Hjørnesparket	100	100
Midtsirkelen	50	28
Midtsirkelen	75	49
Midtsirkelen	100	59

Figur 4.1 og 4.2 viser bilder av TSA-platene for 8-meteren og hjørnesparket. Platene ble inkubert i sterilskap (37°C, 48 timer). Allikvotene benyttet for begge platene var 100 µL. Antall kolonier er dokumentert i Tabell 4.1.



*Figur 4.1: Representativt bilde av TSA-platen til prøvetakingen som ble utført fra 8-meteren.*



*Figur 4.2:* Representativt bilde av TSA-platen til prøvetakingen som ble utført fra hjørnesparket.

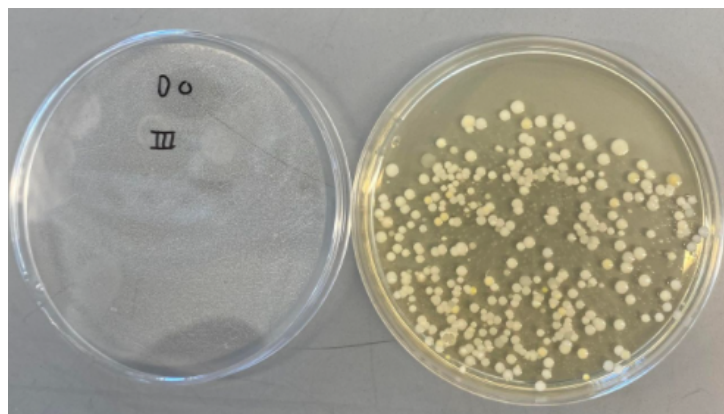
#### 4.1.2 Resultater for kimtall fra offentlige steder

Tabell 4.2 gir en oversikt over gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> fra ulike offentlige steder på NTNU Kalvskinnet. Prøvetakingene ble hentet fra en av/på knapp fra en vanddispenser, et dørhåndtak fra et klasserom og et toalettsete. I tabellen er det oppgitt areal av prøvetakingsområdet, gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> og standardavvik. Se Tabell B.1 for CFU/dm<sup>2</sup>-verdiene som ble benyttet for å beregne gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup>. Dette er vedlagt i Vedlegg B. Det kan observeres i tabellen at gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> for toalettet er betydelig høyere enn vanddispenseren og klasserommet, noe som gir mening.

*Tabell 4.2:* Oversikt over gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> fra ulike områder på NTNU Kalvskinnet.

Område	Areal [dm <sup>2</sup> ]	Gjennomsnittlig CFU/dm <sup>2</sup>	Standardavvik
Vanndispenser	1	71,7	19,8
Klasserom	0,1	26,7	5,8
Toalett	0,25	636	94,5

Figur 4.3 viser bilde av TSA-platen for toalettet. Platen ble inkubert i sterilskap (37°C, 48 timer). Allikvoten benyttet for denne platen var 100 µL. Denne platen ble benyttet for å beregne gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> for toalett som er dokumentert i i Tabell 4.2.



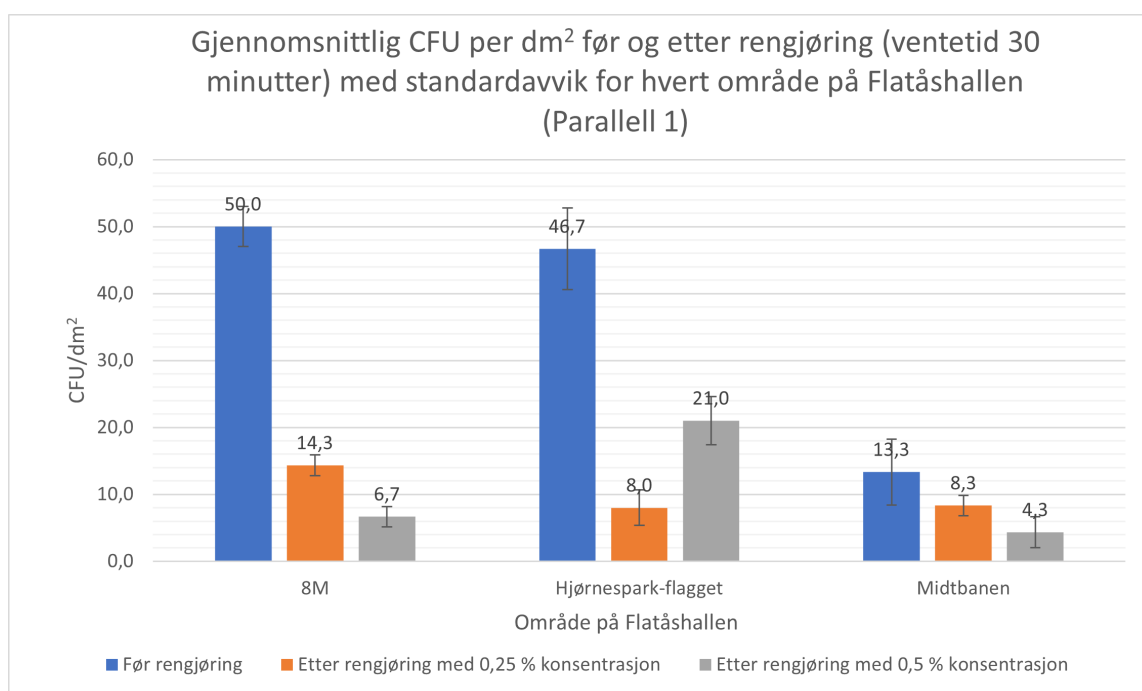
*Figur 4.3:* Representativt bilde av TSA-platen til prøvetakingen som ble utført fra toalettet.

## 4.2 Feltforsøk

### 4.2.1 Resultater for totalt kimtall fra Flatåshallen før rengjøring sammenlignet med etter rengjøring med ventetid på 30 minutter

Figur 4.4 gir en oversikt over første parallell for gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> av hvert område fra Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 30 minutter. De ulike områdene var 8-meteren, midtbanen og hjørnesparket. Figur 3.3 gir en oversikt hvor disse områdene befinner seg på banen. Tallverdi for CFU/dm<sup>2</sup> av replikatene fra første parallell er dokumentert i Tabell C.1 og C.4, som er vedlagt i Vedlegg C. Blå søyle representerer gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> før rengjøring. Oransje søyle representerer gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon. Grå søyle representerer gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon. Det ble tatt ut tre replikater fra hver parallell. Gjennomsnittet av replikatene representerer hver søyle som blir vist i Figur 4.4. Hver søyle består av en svart strek, kalt feilfelt, som viser ± av standardavviket til gjennomsnittsverdien. Desto lengre feilfelt, desto større standardavvik.

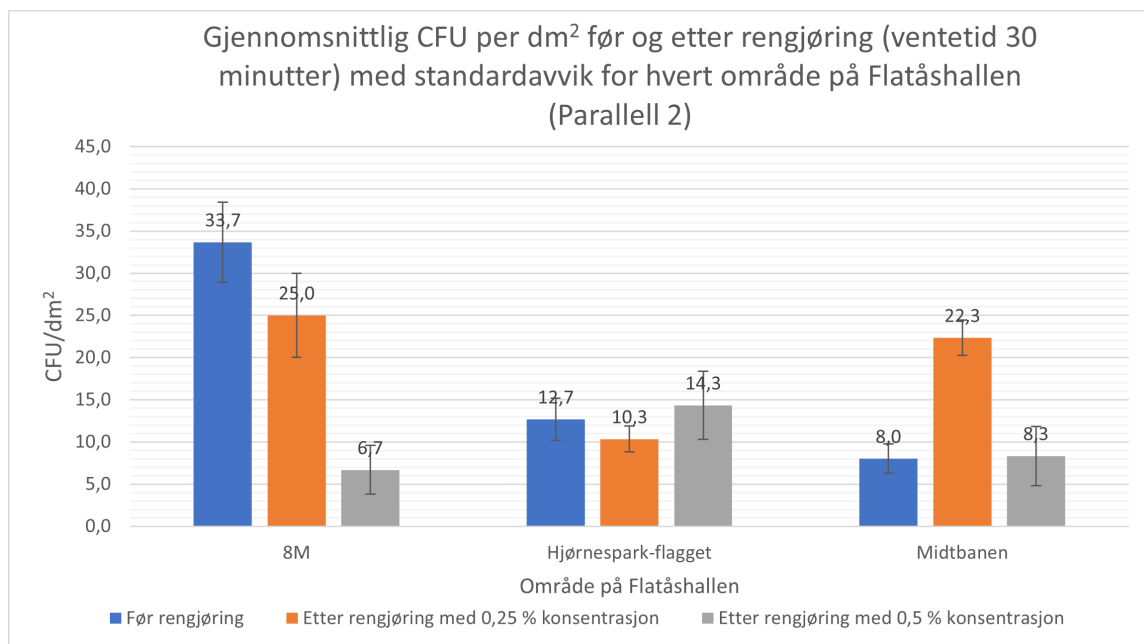
Ved hjelp av Figur 4.4 kan gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> sammenlignes før- og etter rengjøring med ulike konsentrasjoner. Det var høyere CFU/dm<sup>2</sup> for samtlige områder før rengjøring enn etter rengjøring. Parallellene fra hjørnesparket hadde etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon høyere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> enn etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon. Parallellene fra 8-meteren og midtbanen etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon hadde lavere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> enn etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon.



**Figur 4.4:** Stolpediagram som gir en oversikt over første parallell for gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> med standardavvik. Prøvetakingen ble utført på tre ulike områder på Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 30 minutter.

Figur 4.5 gir en oversikt over andre parallell for gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> av hvert område fra Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 30 minutter. Figur 4.5 har samme oppsett som Figur 4.4. Tallverdi for CFU/dm<sup>2</sup> av replikatene fra andre parallell er dokumentert i Tabell

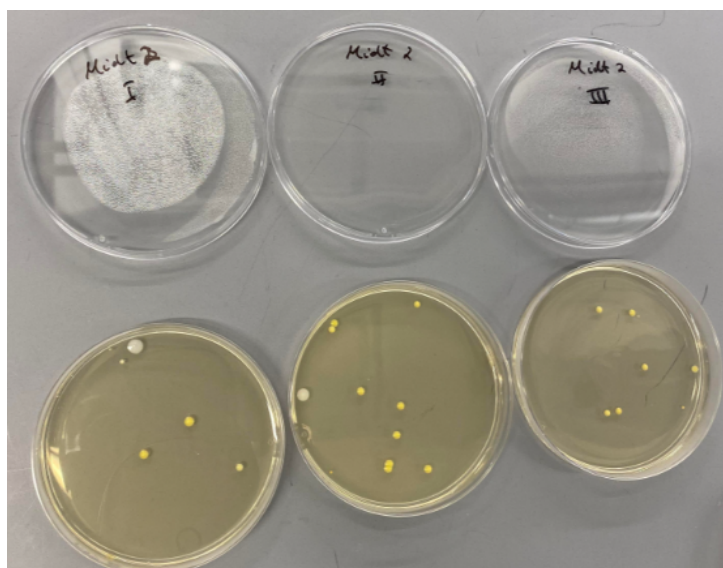
C.2 og C.5, som er vedlagt i Vedlegg C. Flere av parallellene hadde høyere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring enn før rengjøring. Dette kan observeres for parallellene fra hjørnesparket og midtbanen. Gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> for midtbanen etter rengjøring med 0,25 % var betydelig høyere enn gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> før rengjøring. Parallellen fra hjørnespark-flagget etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon hadde høyere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> enn parallellene fra hjørnesparket før rengjøring og etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon.



**Figur 4.5:** Stolpediagram som gir en oversikt over andre parallell for gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> med standardavvik. Prøvetakingen ble utført på tre ulike områder på Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 30 minutter.

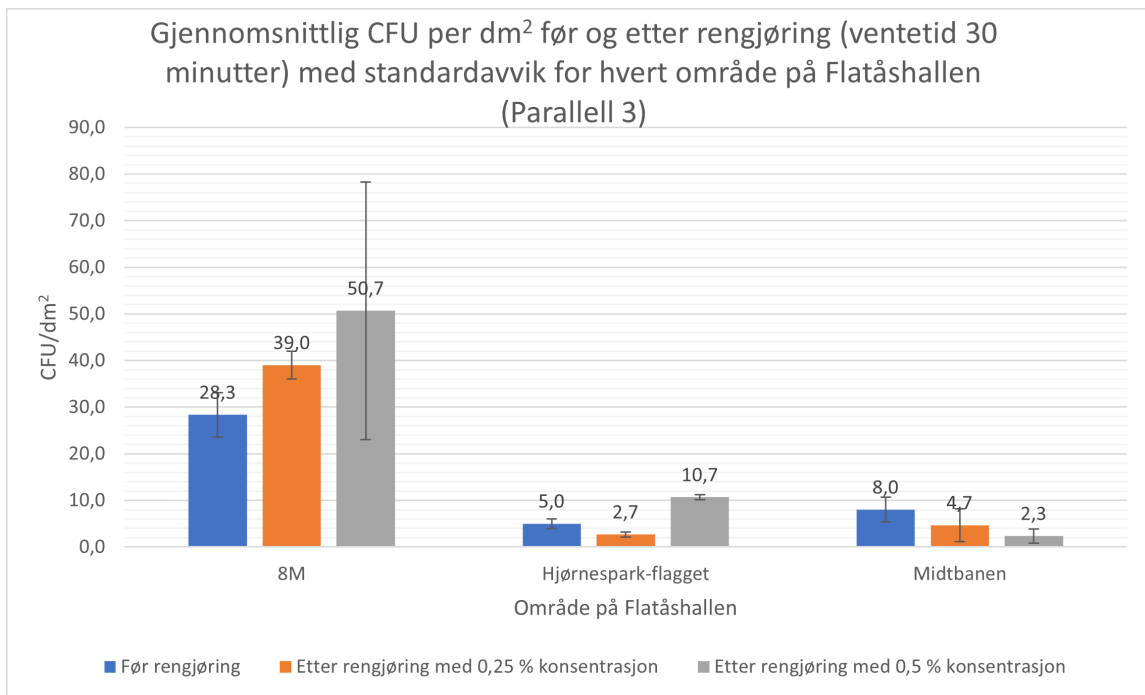
Figur 4.6 viser et bilde av tre TSA-plater, der prøvetakingen ble utført fra midtbanen før rengjøring. Dette er alle tre replikatene fra andre parallell. CFU/dm<sup>2</sup> er dokumentert i Figur 4.5 og Tabell C.2. Den blå søylen for midtbanen fra Figur 4.5 og 4.11 viser gjennomsnittet av disse tre TSA-platene.





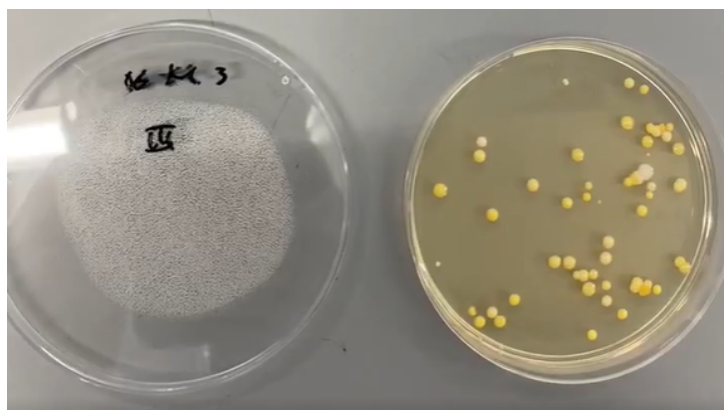
**Figur 4.6:** Bilde av TSA-platene fra midtbanen. Dette er alle replikatene fra andre parallell.

Figur 4.7 gir en oversikt over tredje parallell for gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> av hvert område fra Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 30 minutter. Figur 4.7 har samme oppsett som Figur 4.4 og 4.5. Tallverdi for CFU/dm<sup>2</sup> av replikatene fra tredje parallell er dokumentert i Tabell C.3 og C.6, som er vedlagt i Vedlegg C. Flere av parallellene hadde høyere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon enn før rengjøring. Dette kan observeres for parallellene til 8-meteren og hjørnesparket. Parallellen til 8-meteren etter rengjøring med 0,5% konsentrasjon hadde et uvanlig stort standardavvik. Gjennomsnittsverdien av CFU/dm<sup>2</sup> til denne parallellen ble beregnet til å være 50,7 ( $\pm 27,6$ ). Denne verdien er hentet fra Tabell C.11, som er vedlagt i Vedlegg C. Se Vedlegg A.2 for eksempel på beregninger av gjennomsnittsverdi og standardavvik. Grunnen for det store standardavviket er på grunn av de store forskjellene på replikatene. CFU/dm<sup>2</sup> for replikatene var 82, 40 og 30. Dette er hentet fra Tabell C.6, som er vedlagt i Vedlegg C.



**Figur 4.7:** Stolpediagram som gir en oversikt over tredje parallell for gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> med standardavvik. Prøvetakingen ble utført på tre ulike områder på Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 30 minutter.

Figur 4.8 viser TSA-plate fra prøvetaking som ble utført fra 8-meteren før rengjøring. Dette er tredje replikat fra tredje parallell. CFU/dm<sup>2</sup> fra denne TSA-platen er dokumentert i Tabell C.3. Dette var en av replikatene som ble benyttet for å beregne gjennomsnittsverdi av CFU/dm<sup>2</sup> for 8-meteren før rengjøring, som videre er dokumentert i Figur 4.7 og 4.13.

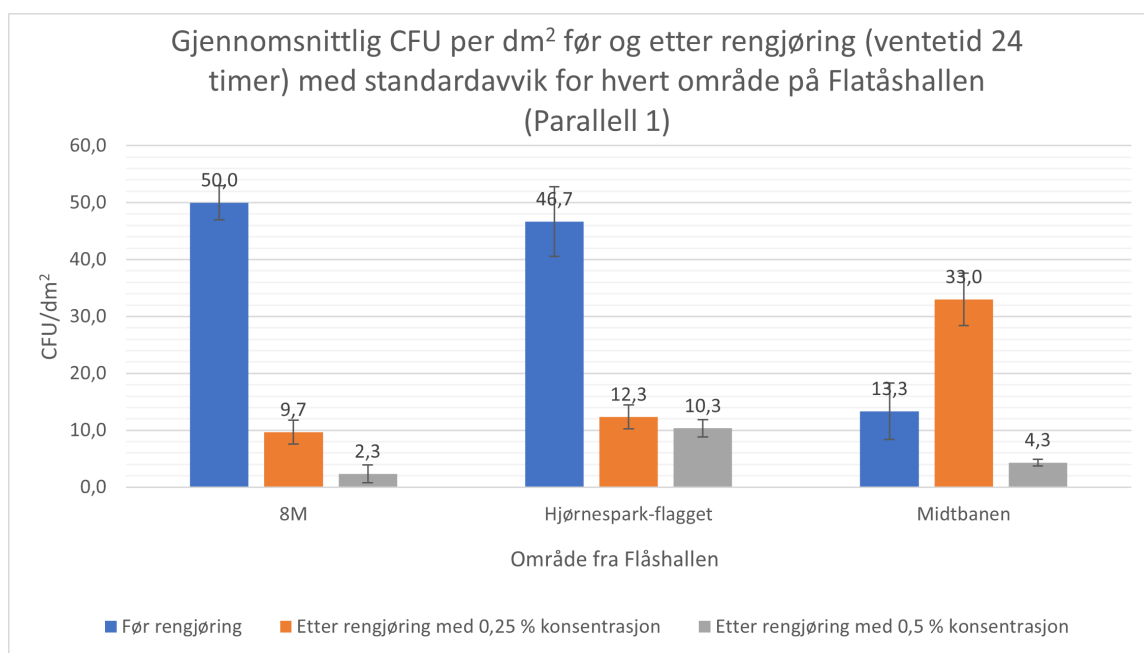


**Figur 4.8:** Bilde av TSA-plate fra tredje parallell til prøvetakingen fra 8-meteren.

#### 4.2.2 Resultater fra Flatåshallen før rengjøring sammenlignet med etter rengjøring med ventetid på 24 timer

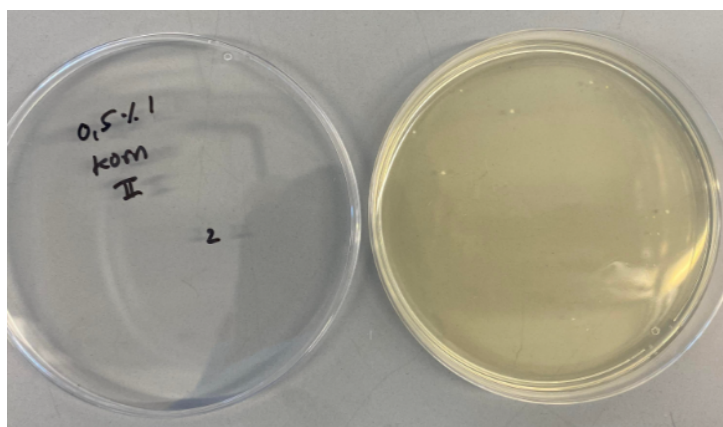
Figur 4.9 gir en oversikt over første parallell for gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> av hvert område fra Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 24 timer. De ulike områdene var 8-meteren, midtbanen og hjørnesparket. Figur 3.3 gir en oversikt hvor disse områdene befinner seg på banen. Tallverdi for CFU/dm<sup>2</sup> av replikatene fra første parallell er dokumentert i Tabell C.1 og C.7, som er vedlagt i Vedlegg C. Figuren har samme oppsett som Figur 4.4.

Ved hjelp av Figur 4.4 kan gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> sammenlignes før- og etter rengjøring med ulike konsentrasjoner. Her kan det observeres at rengjøring med 0,5 % konsentrasjon hadde lavere CPU/dm<sup>2</sup> enn før rengjøring og etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon for hvert område. CFU/dm<sup>2</sup> for midtbanen etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon var betydelig høyere sammenlignet med før rengjøring av midtbanen og etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon.



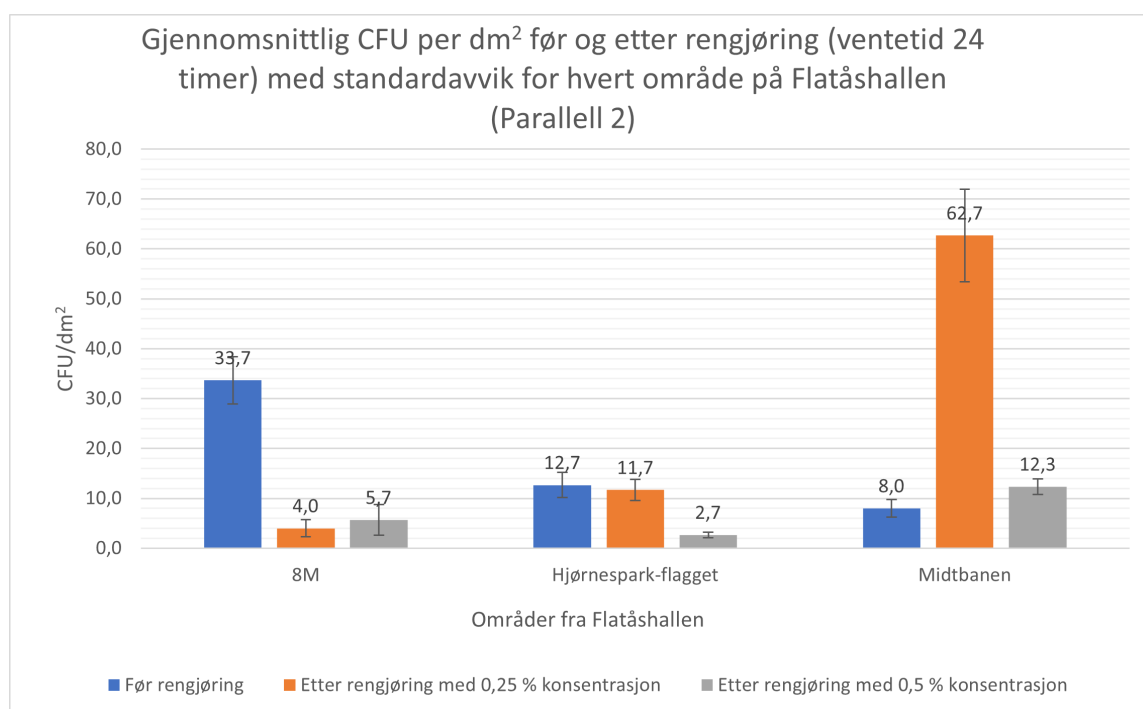
**Figur 4.9:** Stolpediagram som gir en oversikt over første parallell for gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> med standardavvik. Prøvetakingen ble utført på tre ulike områder på Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 24 timer.

Figur 4.10 viser TSA-platene fra prøvetaking som ble utført fra hjørnesparket etter rengjøring med ventetid på 24 timer. Området ble rengjort med 0,5 % konsentrasjon av rengjøringsmiddelet. Dette er den andre replikaten fra den første parallellen. CFU/dm<sup>2</sup> fra denne TSA-platen er dokumentert i Tabell C.7. Denne platen hadde en CFU/dm<sup>2</sup> verdi på 10. Dette var en av replikatene som ble benyttet for å beregne gjennomsnittsverdi av CFU/dm<sup>2</sup> for hjørnesparket etter rengjøring med 0,5% konsentrasjon, som videre ble dokumentert i Figur 4.9.



**Figur 4.10:** Bilde av TSA-plate fra den første parallellen til prøvetakingen fra hjørnespark-flagget.

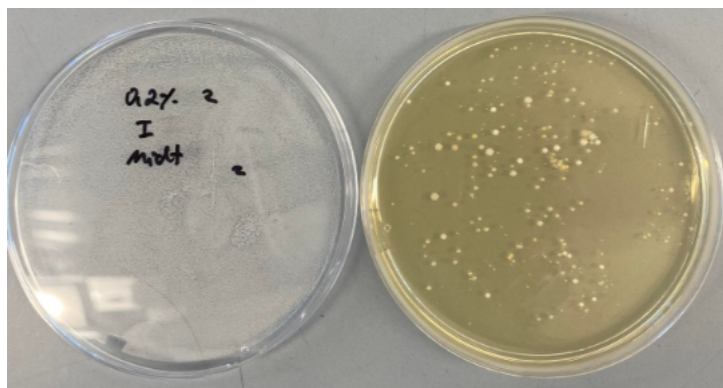
Figur 4.11 gir en oversikt over andre parallell for gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> av hvert område fra Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 24 timer. Figur 4.11 har samme oppsett som Figur 4.9. Tallverdi for CFU/dm<sup>2</sup> av replikatene fra tredje parallell er dokumentert i Tabell C.2 og C.8, som er vedlagt i Vedlegg C. Ved hjelp av Figur 4.11 kan det observeres at gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> for midtbanen var uvanlig. Det var høyere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring enn før rengjøring. Resterende områder var som forventet, som er høyere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> før rengjøring enn etter rengjøring.



**Figur 4.11:** Stolpediagram som gir en oversikt over andre parallell for gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> med standardavvik. Prøvetakingen ble utført på tre ulike områder på Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 24 timer.

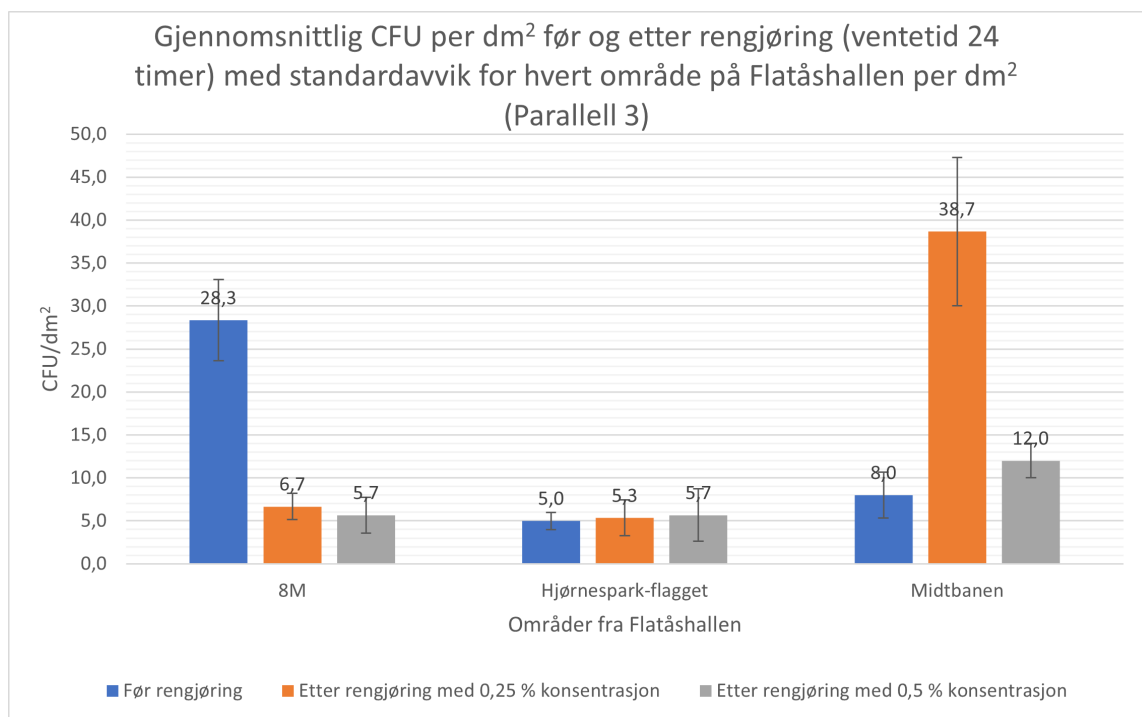
Figur 4.12 viser TSA-platen til prøvetakingen fra midtbanen etter rengjøring med ventetid på 24 timer. Området ble vasket med 0,25 % konsentrasjon av rengjøringsmiddelet. Dette er første replikat fra andre parallell. CFU/dm<sup>2</sup> ble telt til å være 60. Dette er dokumentert i Tabell C.8. Replikatet ble benyttet for å beregne gjennomsnittsverdi av CFU/dm<sup>2</sup> for midtbanen etter

rengjøring med 0,25% konsentrasjon, som videre ble dokumentert i Figur 4.11.



**Figur 4.12:** Bilde av TSA-plate fra den andre parallellen til prøvetakingen fra midtbanen.

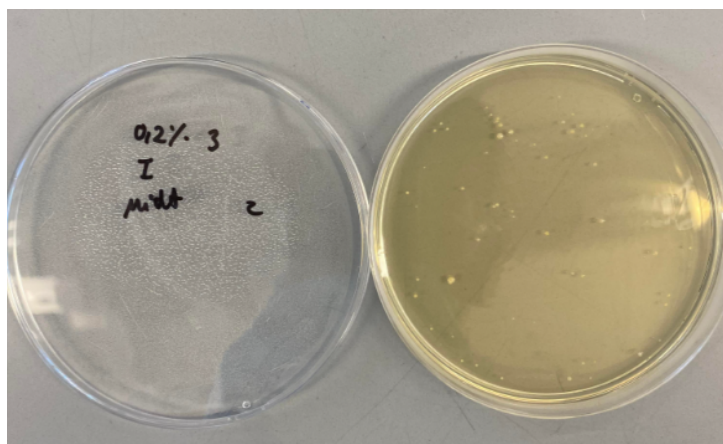
Figur 4.13 gir en oversikt over tredje parallell for gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> av hvert område fra Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 24 timer. Figur 4.13 har samme oppsett som Figur 4.9. Tallverdi for CFU/dm<sup>2</sup> av replikatene fra tredje parallell er dokumentert i Tabell C.3 og C.9, som er vedlagt i Vedlegg C. Ved hjelp av figuren, kan det observeres at midtbanen etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon hadde betydelig økning av CFU/dm<sup>2</sup> enn før rengjøring. Samtidig var CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon høyere enn før rengjøring for midtbanen. Det kan også observeres at søylene til hjørnesparket er omtrentlig like høye, noe som har vært uvanlig gjennom hele feltforsøket.



**Figur 4.13:** Stolpediagram som gir en oversikt over tredje parallell for gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> med standardavvik. Prøvetakingen ble utført tre ulike områder på Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 24 timer.

Figur 4.14 viser TSA-platen til prøvetakingen fra midtbanen med ventetid på 24 timer. Her ble det vasket med 0,25 % konsentrasjon av rengjøringsmiddelet. Dette er første replikat fra tredje

parallell. CFU/dm<sup>2</sup> ble telt til å være 48. Dette er dokumentert i Tabell C.9. Replikaten ble benyttet for å beregne gjennomsnittsverdi av CFU/dm<sup>2</sup> for midtbanen etter rengjøring med 0,25% konsentrasjon, som videre ble dokumentert i Figur 4.13.

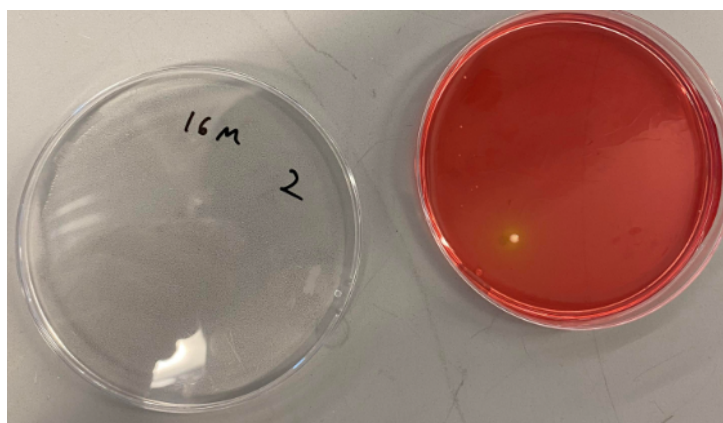


**Figur 4.14:** Bilde av TSA-plate fra tredje parallell til prøvetakingen fra midtbanen.

#### 4.2.3 Resultater av MSA-platene fra Flatåshallen før- og etter rengjøring

Det ble bestemt å ta fire replikater fra hver parallell. Tre av replikatene ble overført til tre TSA-plater, mens den siste replikaten ble overført til en MSA-platene. Dette er samme paralleller hentet fra Flatåshallen før- og etter rengjøring med ventetid på 30 minutter og 24 timer. Målet med bruk av MSA-plater i feltforsøket var å se om det var *S.aureus*, og eventuelt i hvor stor grad det befinner seg på kunstgresset. Det var også et ønske å se om rengjøringsmiddelet reduserte antall kolonier av *S.aureus*. Flere av MSA-platene både før- og etter rengjøring fikk ingen vekst, mens andre MSA-plater fikk vekst av 1-3 kolonier av *S.aureus*. Det var kun antatt at det var *S.aureus* til stede dersom det var positiv katalase-test og negativ oksidase-test. Dersom det var en gul farge rundt kolonien, som Figur 4.15 viser, ble kolonien antatt til å være *S.aureus*.

Figur 4.15 viser et bilde av MSA-plate som har vært inkubert i sterilskap i 48 timer. Prøvetakingen ble hentet fra 8-meteren før rengjøring, som senere ble inokulert på MSA-platen. Det kan observeres at det er kun én bakteriekoloni på platen.

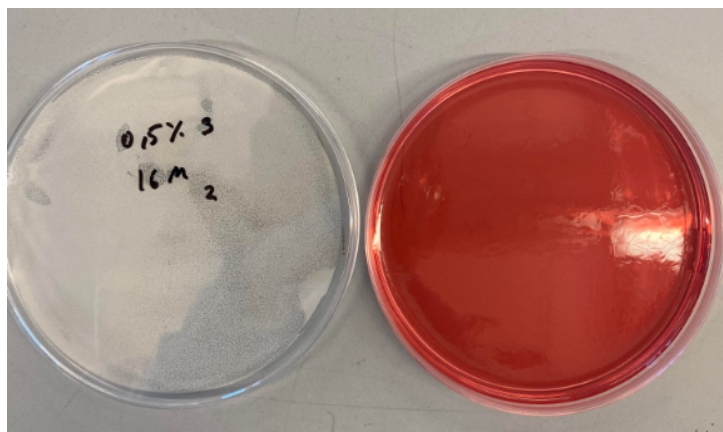


**Figur 4.15:** Bilde av MSA-plate fra andre parallell til prøvetakingen fra 8-meteren.

Figur 4.16 viser MSA-platen til prøvetakingen fra 8-meteren. Her ble det vasket med 0,5 % konsentrasjon av rengjøringsmiddelet. Dette er den tredje parallellen. Her kan det observeres at



det var ingen vekst av kolonier på denne MSA-platen.



Figur 4.16: Bilde av MSA-plate fra tredje parallell til prøvetakingen fra 8-meteren.

### 4.3 Kontrollert laboratorieeksperiment - Eksponering av *Staphylococcus aureus* til kunstgressmatter

#### 4.3.1 Testing av sprayflaske

Testing av sprayflaske ble utført for å undersøke nøyaktigheten til sprayflasken som ble benyttet i forforsøket og det kontrollerte laboratorieeksperimentet. Det ble utført ti paralleller, der hver parallell ble utført med tre fullstendige trykk på sprayflasken. Tabell 4.3 gir en oversikt over dette.

Tabell 4.3: Oversikt over masse (mg) fra tre fullstendige trykk fra ti paralleller.

Test	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Vekt [mg]	500,5	505,0	512,3	502,9	514,8	507,1	510,8	500,4	503,3	508,8

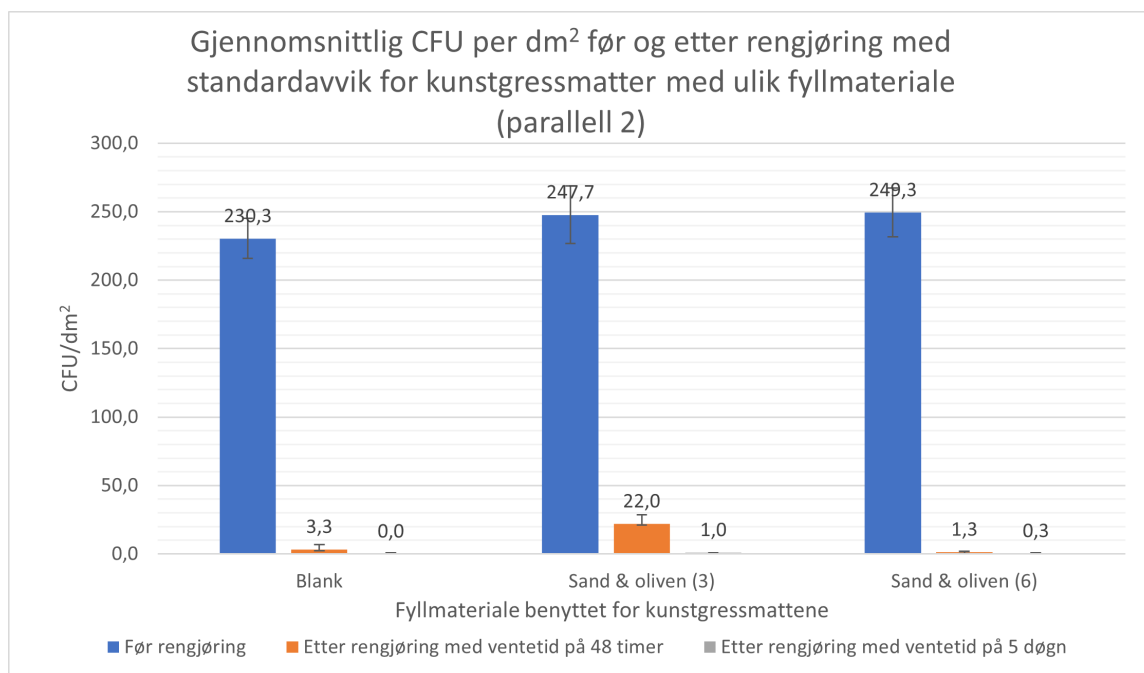
Standardavviket til massen ble regnet ut til å være  $\pm 5,0$  mg. Gjennomsnittsverdien var 506,6 ( $\pm 5,0$ ) mg. Eksempel for beregning av standardavvik og gjennomsnitt er vist i Vedlegg A.2.

#### 4.3.2 Kunstgressmatter eksponert for *S.aureus* - Resultater før- og etter rengjøring med Nüescsept PRO, med ventetid på 48 timer og fem dager

Figur 4.17 gir en oversikt over andre parallell for gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> før- og etter rengjøring, med standardavvik for kunstgressmatter med ulik fyllmateriale. Det ble benyttet en blank kunstgressmatte og to kunstgressmatter med fyllmaterialene sand og oliven. Her står tallet "3" og "6" i parentes da det ble benyttet tre- og seks trykk på sprayflasken med Nüescsept PRO under overføringen av rengjøringsmiddelet til kunstgressmatten. Til den blanke kunstgressmatten ble det benyttet tre trykk på sprayflasken med Nüescsept PRO ved rengjøring. Konsentrasjonen av rengjøringsmiddelet som ble benyttet var 0,5 %. Tallverdi for CFU/dm<sup>2</sup> av replikatene fra andre parallell er dokumentert i Tabell D.5 og D.8, som er vedlagt i Vedlegg D. Blå søyle representerer gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> før rengjøring. Oransje søyle representerer gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring med ventetid på 48 timer. Grå søyle representerer gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring med ventetid på fem døgn. Det ble tatt ut tre replikater fra hver parallell. Gjennomsnittet av replikatene representerer hver søyle som

blir vist i Figur 4.17. Hver søyle består av et svart feilfelt som viser  $\pm$  av standardavviket til gjennomsnittsverdien.

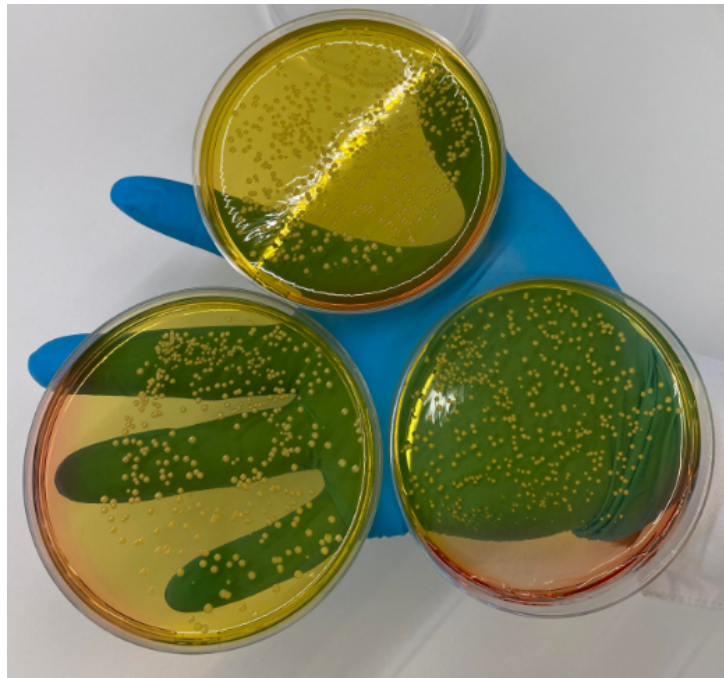
Ved hjelp av Figur 4.17 kan reaksjonstiden for den blanke kunstgressmatten og kunstgressmatten med sand og oliven sammenlignes. Samtidig kunne mengde rengjøringsmiddel tilført på kunstgressmattene sammenlignes. Det observeres at gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> minket betydelig etter rengjøring med ventetid på 48 timer. Figuren viser også at mengde av rengjøringsmiddel påført er en faktor å ta hensyn til, med tanke på aktiviteten til *S.aureus*. Sand & oliven (3) hadde høyere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> enn sand & oliven (6) etter rengjøringen. På grunn av lav gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring med ventetid på fem døgn er det umulig å observere den grå-fargede søylen.



**Figur 4.17:** Stolpediagram som gir en oversikt over andre parallell for gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> med standardavvik av det kontrollerte laboratorieeksperimentet.

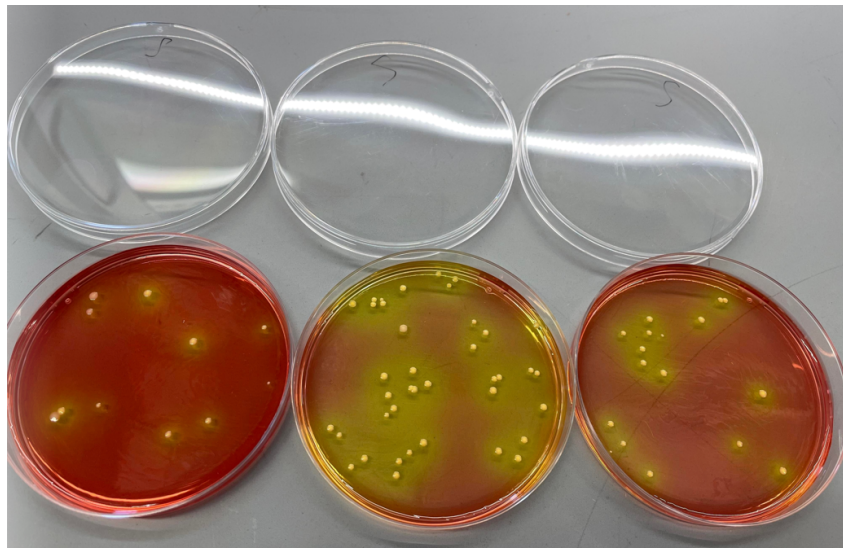
Figur 4.18 viser et bilde av alle tre replikatene fra første parallell av kunstgressmatten med sand og oliven etter overføring av *S.aureus* til kunstgressmatten. Her ble prøvetakingen utført før overføring av rengjøringsmiddelet til kunstgressmatten. Gjennomsnittet med standardavvik for disse tre replikatene er dokumentert i Figur D.1. Gjennomsnittet sammen med standardavviket ble beregnet til å være 234,3 ( $\pm 15,5$ ) CFU/dm<sup>2</sup>. Se Vedlegg A.2 for eksempel på beregning av gjennomsnittsverdi og standardavvik.





**Figur 4.18:** Et representativt bilde av alle tre MSA-replikatene fra første parallell av kunstgressmatten med sand og oliven før rengjøring.

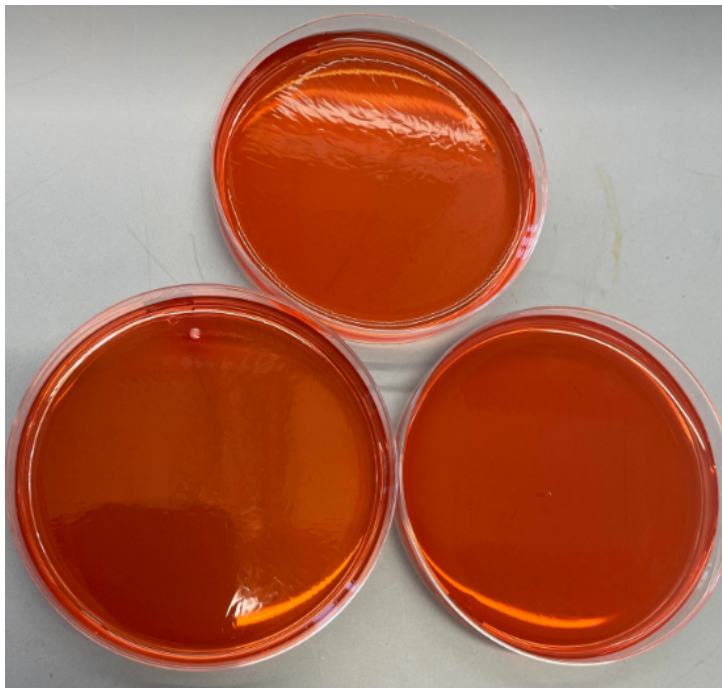
Figur 4.19 viser et bilde av alle tre replikatene fra andre parallell av kunstgressmatten med sand og oliven etter rengjøring. Her ble det benyttet tre trykk på sprayflasken. Det var en ventetid på 48 timer før prøvetakingen ble utført. Gjennomsnittet med standardavvik for disse tre replikatene er dokumentert i Figur 4.17. Gjennomsnittet sammen med standardavviket ble beregnet til å være  $22 (\pm 14)$  CFU/dm<sup>2</sup>. Se Vedlegg A.2 for eksempel på beregning av gjennomsnittsverdi og standardavvik.



**Figur 4.19:** Et representativt bilde av alle tre MSA-replikatene fra andre parallell av kunstgressmatten med oliven og sand 48 timer etter rengjøring.

Figur 4.20 viser et bilde av alle tre replikatene fra tredje parallell av den blanke kunstgressmatten. Her ble det benyttet tre trykk på sprayflasken. Det var en ventetid på fem døgn før prøvetakingen ble utført. Figuren viser ingen vekst av *S.aureus* kolonier for samtlige MSA-plater. Dette kan

observeres i Figur D.2, der det ikke er en grå søyle for «Blank».



**Figur 4.20:** Et representativt bilde av alle tre MSA-replikatenes fra tredje parallell av den blanke kunstgressmatten fem dager etter rengjøring.

På MSA-plater med bakteriekolonier ble det utført oksidasetest og katalasetest. Alle utførte katalasetester ga positivt svar, mens alle oksidasetester ga negativt svar. Dersom noen av platene kun hadde én bakteriekoloni, ble det utført oksidasetest.

## 5 Diskusjon

### 5.1 Forforsøket

Det var en usikkerhet om det skulle benyttes 50  $\mu\text{L}$ , 75  $\mu\text{L}$  eller 100  $\mu\text{L}$  allikvoter for inokulering i feltforsøket. For å være på den sikre siden, ble det bestemt å undersøke dette i forforsøket. Det var også et ønske om å få bakgrunnsverdier fra Flatåshallen før feltforsøket. Derfor ble det bestemt at det skal hentes en parallell fra midtsirkelen, 8-meteren og hjørnesparket. Tre replikater fra hver replikat ble inokulert med 50  $\mu\text{L}$ , 75  $\mu\text{L}$  og 100  $\mu\text{L}$  allikvoter. På den måten vil det være mulig å kartlegge om noen av allikvotene fører til undervekst eller overvekst av kolonier. Ut ifra resultatene oppnådd fra forforsøket, ble det bestemt å benytte 75  $\mu\text{L}$  allikvoter. Resultatene er dokumentert i Tabell 4.1. Ingen av allikvotene ga undervekst eller overvekst, og derfor ble det bestemt å gå midt i mellom. Det ble bestemt å benytte 100  $\mu\text{L}$  på MSA-platene, da det var ønsket å få med flest mulig kolonier.

Samtidig var det ønsket fra SIAT å sammenligne resultatene fra feltforsøket med tilsvarende områder som storkjøkken, offentlige bad eller helseinstitusjoner. Det ble bestemt å ta prøvetaking fra ulike områder på NTNU Kalvskinnet. Prøvetakingene ble hentet fra en av/på knapp fra en vanndispenser, et dørhåndtak fra et klasserom og et toalettsete. Det var ønsket å ta prøvetaking fra områder der det oppstår fysiske berøringer. Dette er en god mulighet til å se hvordan den mikrobielle aktiviteten på Flatåshallen er sammenlignet med offentlige steder.

#### 5.1.1 Resultater av forforsøk - Mikrobiell aktivitet på Flatåshallen sammenlignet med offentlige steder

I forforsøket ble det utført prøvetakinger fra NTNU Kalvskinnet. Ut ifra resultatene fra Flatåshallen og områdene på Kalvskinnet, kan det observeres at det er renere på kunstgresset i Flatåshallen, enn en felles toalett på Kalvskinnet, som er dokumentert i Kapittel 4.1.2. Samtlige prøvetakinger fra felles toalettet oppnådde vesentlig flere kolonier enn fra Flatåshallen. Det ble oppnådd en gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> på 71,7 ( $\pm 19,8$ ) fra vanndispenseren, 26,7 ( $\pm 5,8$ ) fra klasserom og 636 ( $\pm 94,5$ ) fra toalettet. Dette er dokumentert i Tabell 4.2. Gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> fra klasserommet ligger omtrent midt i mellom gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> før rengjøring av Flatåshallen. Gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> før rengjøring av Flatåshallen er dokumentert i Figur 4.4, 4.5 og 4.7. Høyeste gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> oppnådd før rengjøring av Flatåshallen var 50 ( $\pm 3$ ), mens laveste gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> var 5 ( $\pm 1$ ). Gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> oppnådd fra vanndispenseren var høyere enn alle gjennomsnittlige verdier oppnådd før rengjøring av Flatåshallen. Det var ikke betydelig høyere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup>, men en merkbar forskjell. Dette kan indikere at det er mer mikrobiell aktivitet på vanndispenseren enn det er på Flatåshallen.

### 5.2 Faktorer som påvirker mikrobiell vekst på kunstgress

Mikrobiell vekst på kunstgressbaner påvirkes blant annet av abiotiske faktorer som type fyllmateriale, temperatur, luftfuktighet, CO<sub>2</sub>-konsentrasjon og UV-stråling. Det kan også påvirkes av biotiske faktorer som tilgjengelighet for dyr og mennesker, og dyprens av banen. Om banen er lokalisert innen- eller utendørs er også av betydning. Fyllmateriale er den eneste relevante faktoren for denne oppgaven, og dermed fokuseres kun på dette.

### 5.2.1 Fyllmateriale

Fyllmateriale er en viktig del av kunstgresset da det påvirker kunstgresset i form av spillopplevelse. Fyllmateriale av SBR-granulat er det mest utbredte, men samtidig det mest miljøskadelige. SBR-granulat inneholder giftige kjemiske forbindelser, som sink og svovel, noe som hemmer mikrobiell vekst. I kontakt med vann vil SBR-granulat avgi større mengder av disse forbindelsene, samt andre metaller [2]. SBR-granulat inneholder også flyktige organiske forbindelser (VOC) og polysykliske aromatiske hydrokarboner (PAH). Disse forbindelsene har negativ helseeffekt, spesielt i innendørs haller [2]. Sannsynligheten for mikrobiell vekst på kunstgressfibrene fremfor gummigranulatene antas å være større, da selve kunstgressfibrene ikke har forbindelser som vil inhibere bakterievekst. En industriell studie sponset av Sprinturf, viser at en blanding av sand og gummigranulat som ifyll hadde 50 000 ganger høyere bakterienivå enn ifyll av gummigranulat alene [8]. Dette tyder på at sand ikke har samme inhiberende effekt som det SBR-gummigranulat har. Sand har derimot egenskaper som kan fremme bakterievekst, på grunn av dens porøsitet.

Organiske fyllmaterialer, som olivenkjerner, inneholder ikke giftige forbindelser som hemmer bakterievekst [19]. utfordringer hos organiske fyllmaterialer ligger i egenskaper som kan fremme bakterievekst [16]. Enkelte fyllmaterialer som kork og kokosfiber kan antas å redusere mikrobiell vekst, da de bidrar til svevestøv i innendørs haller.

Ettersom det ble tatt prøver fra Flatåshallen, ble samme fyllmaterialet brukt til forsøk på lab, som nå blir brukt i Flatåshallen. Dette er fyllmateriale av sand og olivenkjerner. Det er fortsatt aktuelt å finne en erstatning for nåværende kunstgressbaner med SBR-granulat som fyllmateriale, og Flatåsen har tatt i bruk 4G kunstgressmatten med olivenkjerner og sand som ifyll. Det ble i tillegg gjort forsøk på blankt fyllmateriale, altså kunstgressfiber. Før forsøkets oppstart ble det forventet å identifisere mikrobiell vekst på kunstgressmatten med sand/olivenstein ifyll. Begge fyllmaterialene som blandes er porøse, mens kun olivenstein er organisk. Fra teori og tidligere Bacheloroppgaver, er det forventet at organisk fyllmateriale gir gode vekstforhold for *S.aureus*.

### 5.3 Feltforsøket - Før og etter rengjøring av et bestemt areal på Flatåshallen

I dette kapitlet vil resultatene før- og etter rengjøring av et bestemt areal på Flatåshallen drøftes. Ved valg av prøvepunkter på banen, var det viktig å velge områder med høyest aktivitet. Innen fotball er 8-meteren et område hvor spillere oppholder seg mye. Nærliggende skoler har gymtimer inne i hallen, og under befaring ble det observert at aktivitetene foregår rundt 8-meteren. Midtbanen er også et område innen fotball det foregår mye aktivitet. Hjørnesparket er ikke et område det nødvendigvis oppholder seg spillere i fotball, men det ble observert under befaring at elever og spillere legger klær, sekker og gjenstander her. I tillegg til drøfting av resultater, vil nøyaktigheten og mulige feilkilder under feltforsøket bli kommentert.

#### 5.3.1 Valg av konsentrasjon for rengjøring av kunstgress

Det ble anbefalt av produsentene til rengjøringsmiddelet Nüescosept PRO om å benytte 0,5 % konsentrasjon. Siden dette er et rengjøringsmiddel som er lite utprøvd, ble det også bestemt å teste ut med 0,25 % konsentrasjon. Det ble bestemt å ikke prøve ut mer enn 0,5 % konsentrasjon på grunn av usikkerhet om kunstgressbanen tåler dette. Dersom 0,25 % konsentrasjon ga ønskede resultater, ville det ha vært mer økonomisk lønnsomt å benytte 0,25 % for rengjøring.

### 5.3.2 Bruk av oksidasetesting og katalasetesting

Det ble bestemt å benytte oksidasetesting og katalasetesting som påvisningstester av *S. aureus*. *S. aureus* er katalse-positiv [33]. Katalasetesting er ikke krevende og resultatet vises på kort tid. Problemet med katalasetesting er at både *S. aureus* og mikrokokker har lignende egenskaper og begge er katalase-positive [49]. For å være sikre, ble det også bestemt å ta i bruk oksidasetesting. *S. aureus* er oksidase-negativ, mens mikrokokker er oksidase-positiv [49]. Bruk av oksidasetesting vil differensiere *S. aureus* fra mikrokokker. Dessuten er ikke oksidasetesting krevende, og resultatet vises innen 2 minutter. Dermed ble det bestemt at katalasetesting og oksidasetesting vil mest sannsynligvis skille *S. aureus* fra de fleste andre mikroorganismer. Ved hjelp av oksidase- og katalasetesting ble tilstedeværelse av *S. aureus* bekreftet på flere av MSA-platene. Det ble kun utført oksidase- og katalasetest på gule kolonier, ettersom *S. aureus* fermenterer mannitol som fører til at det dannes gule kolonier [36]. Det var noen MSA-plater som hadde for små kolonier å utføre oksidase- og katalasetesting. Noen andre MSA-plater hadde for få kolonier å utføre både oksidase- og katalasetesting. Hvis det var for få kolonier å utføre både oksidase- og katalasetesting, ble kun oksidasetesting utført. Det ble bestemt å utføre oksidasetesting istedenfor katalasetesting, fordi det var ønsket å være sikker på at det ikke var mikrokokker til stede. På MSA-platene som kun ble utført oksidasetest, ble det funnet ut at det ikke var mikrokokker til stede. Dette bekreftes ved at mikrodase disken ikke endret farge, som betyr at det er oksidase-negativ. Dette øker sannsynligheten for at det er *S. aureus* til stede. På katalasetesten begynte kolonien å bruse da én dråpe 10 % hydrogenperoksid ble tilsatt. Dette betyr at det er katalse-positivt.

### 5.3.3 Totalt antall kimtall før rengjøring av Flatåshallen

Per dags dato utføres det ingen form for rengjøring på Flatåshallen. Organiske forbindelser som snørr, svette, hudceller, blod og hår overføres fra brukerne til kunstgresset. Ulempen med 4G kunstgresset på Flatåshallen er at det kan fremme mikrobiell vekst, ettersom det ikke inneholder forbindelser som betegnes som bakteriehemmende. I tillegg er det flere faktorer som påvirker mikrobiell vekst. Disse faktorene kan være nedbør, sollys og temperaturvariasjoner og generelt klima. På Flatåshallen er det ikke nedbør, sollys eller store temperaturvariasjoner, men det er et tørt inn klima. Det var forventet at total antall kimtall skulle være omtrent lik resultatene oppnådd fra forforsøket, der resultatene er oppgitt i Tabell 4.1. Total antall kimtall fra midtbanen for 75 µL allikvote var 49 kolonier. Total antall kimtall for 50 µL allikvote og 100 µL allikvote var henholdsvis 28 kolonier og 59 kolonier. Dette er oppgitt i Tabell 4.1. Dette ble ikke helt likt for feltforsøket. Samtlige gjennomsnittsverdier av parallellene fra midtbanen før rengjøring, hadde en CFU/dm<sup>2</sup> verdi som var lavere enn 28 CFU/dm<sup>2</sup>. Første parallell hadde 13,3 (±4,9) CFU/dm<sup>2</sup>, andre parallell hadde 8,0 (±1,7) CFU/dm<sup>2</sup> og tredje parallell hadde 8,0 (±2,6) CFU/dm<sup>2</sup> som er henholdsvis vist i Figur 4.4, 4.5 og 4.7. Prøvetakingen fra hjørnesparket er også i samme situasjon. Det var forventet å vokse flere, eller likt, antall kolonier enn koloniene oppnådd fra forforsøket. Hvorfor det har blitt slikt, kan skyldes flere faktorer.

En av faktorene kan være av at prøvetakingen for forforsøket ble utført noen dager før selve feltforsøket. Prøvetakingene for forforsøket og for feltforsøket ble hentet fra samme område. Dette kan ha resultert i at mange mikroorganismer ble tatt opp fra prøvetakingen som ble utført i forforsøket, og at det ble mindre mikroorganismer som ble tatt opp fra prøvetakingen som ble utført i feltforsøket. En idé til neste gang kan være å vente mer enn én uke før prøvetaking fra samme område utføres, slik at mikroorganismene kan vokse tilbake. Dette fører til at det blir mindre usikkerheter rundt resultatet. Det var betydelig mer vekst på 8-meteren

og hjørnesparkområdet enn det var på midtbanen. En av grunnene kan være fordi det er mer aktivitet rundt 8-meteren og hjørnesparkområdet enn det er rundt midtbanen. Samtidig blir mye utstyr som jakker og sekker lagt rundt hjørnesparkområdet, og dette er med på å øke den mikrobielle aktiviteten. Det kan være flere faktorer som spiller inn for resultatene som ble oppnådd fra prøvetakingen fra midtbanen. Dette er et område der skilleveggen pleier å være for å halvere banen. Dermed fører det til at det er mindre aktivitet på midtbanen enn det er på 8-meteren og hjørnesparkområdet. 8-meteren er et område der spillerene opplever mye fysisk kontakt som fører til at spillere blir felt ned. Dermed er det lettere for bakteriene å bli overført fra kroppen og klærne til kunstgressbanen.

#### **5.3.4 Total antall kimtall etter rengjøring av Flatåshallen med ventetid på 30 minutter**

Det ble bestemt at det skulle utføres prøvetaking fra Flatåshallen etter rengjøring med ventetid på 30 minutter. Det ble gitt beskjed fra ekstern veileder Bjørn Aas at rengjøringsmiddelet har en reaksjonstid som er ukjent. Derfor ble det bestemt at det skulle utføres prøvetaking etter rengjøring med ventetid på 30 minutter for å se om rengjøringsmiddelet har reagert innen 30 minutter. Resultatene var ikke som forventet. Flere av resultatene til TSA-platene etter rengjøring hadde høyere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> enn TSA-platene før rengjøring. Dette kan observeres i Figur 4.4, 4.5 og 4.7. Blant annet fra Figur 4.7 for 8-meteren, der både rengjøring med 0,25 % konsentrasjon og 0,5 % konsentrasjon hadde høyere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> enn før rengjøring. Gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> før rengjøring og etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon og 0,5 % konsentrasjon for 8-meteren var henholdsvis 28,3 (±4,7), 39,0 (±3,0) og 50,7 (±27,6). Det var forventet at total kimtall skulle minke, noe det ikke gjorde. Det var fortsatt en del andre områder som oppnådde lavere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring enn før rengjøring. Dette kan observeres i Figur 4.4 for samtlige områder. CFU/dm<sup>2</sup> for 8-meteren før rengjøring, etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon og 0,5 % konsentrasjon var henholdsvis 50,0 (±3,0), 14,3 (±1,5) og 6,7 (±1,5). Dette var et forventet resultat, der gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> minker etter rengjøring med økende konsentrasjon av rengjøringsmiddel. Det kan også observeres i Figur 4.4 at gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon var høyere enn etter rengjøring med 0,25 %. Dette var ikke et unormalt resultat. Det kan også observeres fra Figur 4.5 at gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> for rengjøring med 0,5 % konsentrasjon for hjørnesparket var 14,3 (±4,0). Gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> før rengjøring og etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon var henholdsvis 12,7 (±2,5) og 10,3 (±1,5). Det er ikke logisk at det er høyere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon enn før rengjøring og etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon. Det samme kan også observeres i Figur 4.7 for hjørnesparket, der gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> er høyere etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon enn før rengjøring og etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon. Unormale resultater som dette gir en indikasjon på at det muligens krever lengre tid enn 30 minutter for å reagere, selvom det var noen områder der gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> minket etter rengjøring. Reaksjonstid på 30 minutter er følgelig ikke tilstrekkelig.

#### **5.3.5 Total antall kimtall etter rengjøring av Flatåshallen med ventetid på 24 timer**

Det ble også bestemt å ta prøvetaking etter rengjøring med ventetid på 24 timer. Resultatene for 0,5 % var som forventet, men det var ikke resultatene for 0,25 %. Alle TSA-platene til prøvetakingene som ble utført på midtbanen etter rengjøring med 0,25 % rengjøringsmiddel, hadde betydelig høyere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> enn TSA-platene til prøvetakingen før

rengjøring fra midtbanen. Dette kan observeres i Figur 4.9, 4.11 og 4.13. Hvorfor dette har oppstått er usikkert. Gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon for henholdsvis parallell én, to og tre fra midtbanen var 33 ( $\pm 4,6$ ), 62,7 ( $\pm 9,3$ ) og 38,7 ( $\pm 8,6$ ). Dette er vesentlig høyere enn gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> før rengjøring for midtbanen. Gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> før rengjøring av midtbanen for henholdsvis parallell én, to og tre fra midtbanen var 13,3 ( $\pm 4,9$ ), 8 ( $\pm 1,0$ ) og 8 ( $\pm 2,6$ ). Verdiene er hentet fra Figur 4.9, 4.11 og 4.13. Det er et stort intervall mellom verdiene før rengjøring og etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon for midtbanen. Derfor er det en mistanke om at det har vært mye aktivitet før prøvetakingen fra midtbanen etter 24 timer ventetid. Gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> for midtbanen etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon for parallell én, to og tre fra midtbanen var henholdsvis 4,3 ( $\pm 0,6$ ), 12,3 ( $\pm 1,5$ ) og 12 ( $\pm 2,0$ ). Dette er mindre enn gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> oppnådd fra midtbanen etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon. Verdiene er hentet fra Figur 4.9, 4.11 og 4.13. Som det ble nevnt tidligere, kan dette ha vært på grunn av at det nylig har vært aktivitet rundt området der det ble vasket med 0,25 %. Det kan også være slik at det var mye aktivitet rundt områdene der det ble både vasket med 0,25 % og 0,5 % konsentrasjon, men at 0,5 % konsentrasjon har bedre reaksjonstid enn 0,25 % konsentrasjon. Dette kan dermed ha ført til at 0,5 % konsentrasjon dreper fortere og flere mikroorganismer enn 0,25 %. Etersom kunnskapen om Nüescosept PRO er minimal, er det vanskelig å fastslå om dette er tilfelle. Optimalt sett skulle det ikke vært aktivitet på banen etter rengjøringsprosessen var gjennomført, men dette var ikke mulig å få til. Dette er også en av grunnene til at eksperimentet i Kapittel 5.4 ble gjennomført, for å teste rengjøringsmiddelet uten interferenser.

Gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon var i stor grad forventede resultater. Flere av områdene etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon hadde lavere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> enn før rengjøring og etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon. Dette kan observeres for samtlige områder fra Figur 4.9, som gir en oversikt over første parallell. Det var noen paralleller der det var høyere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring enn før. Det kan observeres for midtbanen i Figur 4.11 og 4.13. Figurene gir en oversikt over andre og tredje parallell. Eksempelvis i Figur 4.13 observeres det at gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> for midtbanen etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon og 0,5 % konsentrasjon var 38,7 ( $\pm 8,6$ ) og 12,0 ( $\pm 2,0$ ). Gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> for midtbanen før rengjøring var 8,0 ( $\pm 2,6$ ). Samtidig kan det observeres i Figur 4.13 at gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> for hjørnesparket etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon var 5,7 ( $\pm 3,1$ ). Denne figuren gir en oversikt over tredje parallell. Gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> fra hjørnesparket før rengjøring og etter rengjøring med 0,25 % konsentrasjon var 5,0 ( $\pm 1,0$ ) og 5,1 ( $\pm 2,1$ ), som er mindre enn gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring med 0,5 %. Dette gir en indikasjon på at lav mengde av mikroorganismer kan gjøre det vanskelig å måle effekten av rengjøringsmiddelet. Høyeste gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon med 24 timer ventetid var 12,3 ( $\pm 1,5$ ) fra midtbanen. Dette er dokumentert i Figur 4.11. En gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> på 12,3 ( $\pm 1,5$ ) er relativt lavt. Dette kan indikere at rengjøring med 0,5 % konsentrasjon er mest effektiv, men denne effektiviteten blir vanskelig å måle når det er lav aktivitet av mikroorganismer.

### 5.3.6 Tilstedeværelse av *S.aureus* etter rengjøring av Flatåshallen

Resultatene oppnådd fra MSA-platene var som forventet. MSA-platene bekreftet at det er *S.aureus* til stede både før- og etter rengjøring, men resultatene er ikke entydige nok til å bestemme omtrent hvor mye *S.aureus* det befinner seg på banen før- og etter rengjøring. Mesteparten av MSA-platene før- og etter rengjøring hadde ingen eller 1-2 kolonier. Dette gjorde

det vanskelig å få et entydig svar på hvor effektiv rengjøringsmiddelet var mot *S.aureus* ute i felt.

### 5.3.7 Nøyaktighet og mulige feilkilder av feltforsøket

Det metodiske på lab kunne vært bedre. Det er forventet at replikater fra samme parallell har omtrent lik antall kolonier. Det er nødvendig at replikatene er omtrentlig lik slik at det er mulig å få en pålitelig og tydelig tolkning av resultatene. Slik var det ikke med alle replikatene. Et eksempel kan hentes fra tredje parallell for TSA-platene etter rengjøring med ventetid på 30 minutter, altså fra Figur 4.7. Her var gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> 50,7 ( $\pm 27,6$ ) for 8-meteren etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon. Replikatenes fra denne parallellen for 8-meteren hadde en CFU/dm<sup>2</sup> verdi på 82, 40 og 30. På grunn av den store forskjellen mellom 82 CFU/dm<sup>2</sup> og 30 CFU/dm<sup>2</sup> kolonier er ikke disse tre replikatene pålitelige. Dette er også grunnen for at standardavviket ble  $\pm 27,6$ . Det hadde muligens vært mindre usikkerhet hvis én og samme person utførte pipetteringen. Det ble benyttet sterilbenk for å opprettholde sterilteknikken. Pipettespisser var autoklavert, og drigalskispattel ble desinfisert og flambert mellom hver replikat og parallell. Dette var for å forsikre om å eliminere faren for andre mikroorganismer.

For å få mest mulig nøyaktighet under prøvetakingen ble det benyttet en plastramme med arealet 10 cm x 10 cm. Dette ble benyttet for å passe på at prøvetakingsområdet er like stort for alle paralleller. Det var én og samme person som utførte alle prøvetakingene. Dette var for å minke usikkerheten.

## 5.4 Kontrollert laboratorieeksperiment - Eksponering av *Staphylococcus aureus* til kunstgressmatter

Hensikten med det kontrollerte laboratorieeksperimentet var å sammenligne reaksjonstiden på rengjøringsmiddelet for kunstgressmatter av sand/olivenkjerner og en blank kunstgressmatte. Etersom reaksjonstiden var ukjent, ble det tatt flere analyser med større tidsmellomrom fra tidspunktet rengjøringsmiddelet ble påført kunstgressmattene som ble eksponert for *S.aureus*. Selve valget av bakterien *S.aureus* kommer fra risikovurderinger på ulike bakteriers forekomst på kunstgressmatter, som beskriver denne bakterien som den mest helsefarlige og som har størst sjanse for å oppstå på kunstgressmatter. MRSA er også et problem som kan oppstå. Denne smitten overføres oftest ved berøring [38], og det har blitt observert utbrudd av CA-MRSA blant idrettsutøvere [42]. CA-MRSA gir ikke mer alvorlige infeksjoner enn *S.aureus*, men det er mer krevende å behandle. Derfor er dette en risiko som befinner seg på kunstgressbanen. Det er følgelig ønsket å se hvordan rengjøringsmiddelet håndterer *S.aureus*. Det er ikke realistisk å tro at rengjøringsmiddelet kommer til å eliminere all *S.aureus* som befinner seg på kunstgressbanen, men det er mulig å tro at middelet reduserer mengden *S.aureus* som befinner seg på banen. Dermed kan det minke risikoen for spredning av *S.aureus*, samt utvikling av hudinfeksjoner.

### 5.4.1 Bruk av 10 % *S.aureus*

Det var planlagt å undersøke ulike konsentrasjoner av *S.aureus* på kunstgressmatter, men på grunn av tidsbegrensinger ble ikke det utført. "Mikrobiologiske undersøkelser av kunstgress: Oppvekst av *Staphylococcus aureus* på fjerde generasjons fyllmateriale", skrevet av Saxrud I og Wesche A, hadde dokumentert undersøkelser av *S.aureus* med ulike konsentrasjoner på kunstgressmatter [56]. Saxrud I. og Wesche A. hadde fortynnet ulike konsentrasjoner av *S.aureus*



og spredd det utover ulike kunstgressmatter uten fyll. Ut ifra resultatene oppnådd ble det bestemt at 10 % av *S.aureus* var nok for å ikke få overvekst eller undervekst. Derfor ble det bestemt å benytte 10 % *S.aureus*.

#### **5.4.2 Resultater for kunstgressmatter eksponert for *S.aureus* før rengjøring med Nüescosept PRO**

Figur 4.18 viser resultatene for kunstgressmatten med sand og oliven som fyllmateriale, før rengjøringsmiddelet ble påført kunstgressmattene. Det er et betydelig antall kolonier av *S.aureus*. Det var forventet at det ikke skulle være mulig å telle antall kolonier, da mattene ble eksponert for *S.aureus*. Figur D.3 viser resultater for blank kunstgressmatte, altså kun kunstgressfiber, før rengjøringsmiddelet ble påført. Dette er i Vedlegg D. Figurene viser ikke noe forskjell på vekst av *S.aureus*. Ettersom det ikke er naturlig vekst av *S.aureus*, var det forventet å få tilnærmet lik vekst på kunstgressmatte med- og uten fyllmateriale.

#### **5.4.3 Resultater for kunstgressmatter eksponert for *S.aureus* 48 timer etter rengjøring med Nüescosept PRO**

Som beskrevet i Kapittel 3.5.5, ble det sprayet to forskjellige mengder på kunstgresset. Dette ble utført for å undersøke om mengden av rengjøringsmiddelet hadde en betydning for hvor effektiv rengjøringen er. Figur 4.17 viser en tydelig effekt av mengde rengjøringsmiddel brukt for kunstgress med olivenkjerner og sand som fyllmateriale. Spesielt etter 48 timer har en mengde på seks trykk betydelig lavere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> enn for tre trykk. Dette er en antydning på at mengde kan være en faktor som påvirker grad av rengjøring. På den andre siden, viser Figur D.1 at rengjøringsmiddelet med tre trykk på sprayflasken har en betydelig effekt. Gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> ble redusert fra 234,3 CFU/dm<sup>2</sup> før rengjøring til 20,7 CFU/dm<sup>2</sup> 48 timer etter rengjøring. Dette illustreres ved hjelp av Figur 4.19, som viser MSA-platene 48 timer etter 0,5% Nüescosept PRO er påført kunstgressmatten med sand og olivenkjerner. Samlet forteller dette at rengjøringsmiddelet med konsentrasjon på 0,5% har en betydelig effekt mot *S.aureus*, for både tre- og seks trykk. Det ble prøvetatt tre paralleller, med tre replikater per parallell. Figur D.1 og D.2 viser henholdsvis første- og tredje parallell av gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> før- og etter rengjøring. Alle tre paralleller viser mer eller mindre likt resultat for gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup>, som tilsier at resultatene er pålitelige. Dette viser også Tabell D.6 og D.7, der standardavvikene, for henholdsvis resultater etter 48 timer og fem døgn, er lave. Dette er også med på å bekrefte resultatenes pålitelighet. Under kontrollerte laboratorieeksperimenter kontrolleres faktorer som ellers vil være til stede under feltforsøk. Dette er faktorer som aktivitet på banen før- og etter rengjøringsmiddelet er påført, samt reaksjonstid slik at rengjøringsmiddelet får tid til å virke mot mikrobiell vekst. Sammenlignet med feltforsøket, hvor disse faktorene ikke kontrolleres, observeres det en tydelig effekt av rengjøringsmiddelet mot *S.aureus* allerede etter 48 timer

Tre trykk på sprayflasken ble brukt for den blanke kunstgressmatten, som viser lavere gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> sammenlignet med fyllmateriale av oliven og sand. En mulig grunn for det er oliven og sand sin porøsitet, samt at oliven er organisk [16]. På feltforsøket ble prøvetaking etter rengjøring gjort på tiden 30 minutt og 24 timer etter rengjøringsmiddelet ble påført. Her viste det seg at effekten ikke var stor. For det kontrollerte laboratorieeksperimentet viser det seg at etter 48 timer har rengjøringsmiddelet med 0,5 % konsentrasjon en betydelig effekt på *S.aureus*, samt at grad av effekt øker med mengden brukt. Dette er en indikasjon på at

rengjøringsmiddelet fungerer under kontrollerte forhold, mens i felt var antall mikroorganismer en del lavere som fører til at det er vanskeligere å måle effekt. Generelt vil det bli renere jo mer rengjøringsmiddel en bruker på de fleste gjenstander og områder, men det kan være en faktor å bemerke seg for bruk på kunstgress.

#### **5.4.4 Resultater for kunstgressmatt eksponert for *S.aureus* fem døgn etter rengjøring med Nüescosept PRO**

Etter fem døgn ble det en tydelig forskjell i antall kolonier. Figur 4.17 illustrerer en nedgang av gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> for kunstgressmatt med- og uten fyllmateriale fra 48 timer til fem dager. Kunstgressmatten bestående av olivenkjerner og sand viser en større nedgang fra 48 timer til fem dager, enn det den blanke kunstgressmatten viser, spesielt med tre trykk på sprayflasken. Den blanke kunstgressmatten ble fri for antall kolonier, mens for fyllmateriale minket gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> fra 22 ( $\pm 14,0$ ) CFU/dm<sup>2</sup> til 1,0 ( $\pm 1,0$ ) CFU/dm<sup>2</sup>. Etersom den blanke matten kun hadde 3,0 ( $\pm 3,6$ ) CFU/dm<sup>2</sup> 48 timer etter rengjøring, vil ikke lengre reaksjonstiden være nødvendig da rengjøringsmiddelet var effektivt nok etter 48 timer. For fyllmateriale av olivenkjerner og sand vil reaksjonstiden være en større faktor, spesielt for forsøk direkte på banen. I Kapittel 5.4.3 ble det nevnt at mengde kan være en faktor til effekten av rengjøringsmiddelet. I tillegg til mengde, viser resultatene for Kapittel 5.4.4 at reaksjonstid absolutt er en faktor å ta hensyn til. Etersom resultatene for tre trykk på sprayflasken hadde en vesentlig nedgang av antall kolonier fra 48 timer til fem døgn, kan det argumenteres for at reaksjonstid er en viktig faktor. Dette muliggjør det å redusere mengden kjemikalier brukt, som igjen kan redusere kostnader og arbeid. Det er altså en tendens for at vekst av *S.aureus* reduseres jo lenger kjemikallet får virke. Det er derimot ikke mulig å si hvor lenge dette vil virke, før en eventuell ny gjennomgang av rengjøring er nødvendig.

#### **5.4.5 Nøyaktighet og feilkilder ved det kontrollerte laboratorieeksperimentet**

Sterilteknikk er viktig under mikrobiologisk arbeid, da mikroorganismer er rundt hos til enhver tid. Sterilbenk ble brukt ved overføring av prøver til MSA-plater, der pipettespisser er autoklavert, mens drigalskispatele ble desinfisert og flambert mellom hver replikat og parallell. Dette eliminerer fare for forstyrrelser av andre mikroorganismer, og forsikrer at all mikrobiell vekst på MSA-platene stammer fra kunstgressmattene. Denne praksisen ble forøvrig brukt under alt eksperimentelt arbeid. Som nevnt i 3.5.4 ble sterilisert vann brukt ved fortykning av stamløsningen, samt fortykning av rengjøringsmiddelet.

Krysskontaminasjon er en mulig feilkilde, da kunstgressmatten med- og uten fyllmateriale ble oppbevart i samme avtrekksskap under oppvekst av *S.aureus*. Dette er en mulig feilkilde som ble undersøkt på forhånd av forsøket, ved å lese tidligere Bacheloroppgaver. Bacheloroppgaven ”Mikrobiologiske undersøkelser av kunstgress: Oppvekst av *Staphylococcus aureus* på fjerde generasjons fyllmateriale”, skrevet av Saxrud I og Wesche A [56], viser til forsøk gjort med blindtester for å undersøke krysskontaminering. Resultater viser at det er lite grunn til at krysskontaminasjon har en effekt på resultatene, ettersom det vokste to-tre kolonier på blindtestene. Dette ble ikke utført av oss grunnet tidsmangel.

Det kan argumenteres mot at forsøket ikke er realistisk da kunstgressmattene blir eksponert for *S.aureus*. Dette fører naturligvis til at kunstgressmattene ikke har blitt utsatt for de samme miljøfaktorene som ved en kunstgressbane i bruk. Mangel på biologisk materiale, som ellers ville vært til stede på en kunstgressbane i bruk, vil være en faktor som hemmer veksten av

*S.aureus* [35]. Ettersom mattene er utsatt for UV-stråling, vil det fjerne store mengder biologisk materiale som muligens er til stede. Faktorer som temperatur, fuktighet og UV-stråling påvirker bakteriell vekst [35] [36]. *Staphylococcus aureus* former seg fra temperatur 10°C til 46°C [35]. Ettersom dyrkingen av *S.aureus* på kunstgressmattene var ved romtemperatur, vil det fremme veksten av *S.aureus*. Som nevnt tidligere er hensikten med dette forsøket å teste effektiviteten og reaksjonstiden til rengjøringsmiddelet. Til tross for disse faktorene vil det ikke påvirke forsøket, da hensikten var utelukkende å undersøke rengjøringsmiddelet.

## 5.5 Generelle anbefalinger til videre arbeid

Gruppen har sett for seg områder det er mulig å forbedre. Dette gjelder det praktiske arbeidet, samt videre anbefalinger for håndtering av kunstgresset.

Ved videre arbeid ved denne metoden anbefales det å bruke sterilbenk til overføringen av *S.aureus* til kunstgressmattene og ikke avtrekkskap. Dette ble ikke gjort for denne oppgaven, ettersom sterilbenken på NTNU Kalvskinnnet ikke er stort nok til å romme kunstgressmattene. Sterilbenk vil gjøre at usikkerheter ved krysskontaminasjon under eksponering og oppbevaring blir redusert. Det vil også være sikrere med tanke på HMS for de som utfører forsøket og andre som kan befinne seg på samme laboratorium. Det burde også nevnes at dyrkningstiden på kunstgressmattene burde vært lengre. Dette er for å sikre optimal vekst. Som følge av mangel på tid og areal ble dyrkningstiden fem døgn.

Antall paralleller har blitt begrenset som følge av mangel på arbeidsareal. Flere paralleller anbefales for begge forsøk. Spesielt Figur 4.7, fra feltforsøket, viser variasjon i gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> og standardavvik mellom hvert sted det ble tatt prøvetaking fra. I tillegg viser Tabell D.11 fra Vedlegg D.6 at standardavvikene er høye for enkelte paralleller. Høyt standardavvik betyr stor spredning, som ikke gir et entydig svar. Dette tilsier en forskjell mellom resultatet i hver parallell, som er grunnen til at det anbefales å øke antall paralleller. Flere paralleller vil gi et mer entydig resultat av vekst, som vil redusere standardavvik og følgelig varians. Paralleller som antas å være avvik fra de andre parallellene, vil kunne bekreftes som faktiske avvik, fremfor at det betegnes som variasjoner i parallellene.

Vekstforhold for 4G kunstgress er bedre enn 3G kunstgress [16]. Anleggseiere for 4G kunstgressbaner burde derfor ha hyppigere undersøkelser av den mikrobielle veksten. Spesielt ved bruk av nye kjemikalier der det er usikkert hvor lenge kjemikallet virker mot mikrobiell vekst. Det burde også innføres gode hygienerutiner for å redusere biofilm på diverse utstyr. Fellesareal burde jevnlig vaskes og desinfiseres. Brukerne av kunstgresset har også en viktig rolle for å hindre bakteriespredning. God hygiene og vasking av klær og utstyr på høye temperaturer vil drepe bakterier. Brannsår kan lett oppstå på kunstgress, og er dermed viktig å stelle så fort som mulig for å redusere spredning av bakterier. Det burde unngås å spytte på banen, samt forsøpling av elementer som tyggegummi og snus.

## 6 Konklusjon

Hensikten med denne oppgaven var et feltforsøk for å kartlegge mikrobiell vekst på fjerde generasjons kunstgress i Flatåshallen, samt undersøke effekten av rengjøringsmiddelet Nüescosept PRO. Her ble Nüescosept PRO fortynnet til en konsentrasjon på 0,25 % og 0,5 % for å undersøke optimal konsentrasjon. Et kontrollert laboratorieeksperiment ble senere gjennomført for å undersøke rengjøringsmiddelets effekt spesifikt for bakterien *S.aureus*. I tillegg til hvordan *S.aureus* vokser på 4G kunstgressmatte bestående av sand og olivenkjerner som fyllmateriale, sammenlignet med blanke kunstgressmatter bestående kun av kunstgressfibre. Her ble kunstgressmatter eksponert for *S.aureus*, før rengjøringsmiddelet ble tilført.

Resultatene fra feltforsøket før rengjøring viser omfanget av mikroorganismer på kunstgressbanen i Flatåshallen. Rengjøringsmiddelet med konsentrasjon på 0,25 % hadde minimal effekt 30 minutt og 24 timer etter rengjøring. Ved konsentrasjon på 0,5 % ble resultatet bedre. Høyeste gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring med 0,5 % konsentrasjon av Flatåshallen med 24 timer var 10,3 (±1,5) fra hjørnesparket, som er relativt lite. Høyeste gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> før rengjøring av Flatåshallen fra hjørnesparket var 46,7 (±6,1). Dette gir en indikasjon at rengjøring med 0,5 % konsentrasjon er mest effektiv. Nøyaktig effekt av kjemikaliet direkte på banen er vanskelig å konkludere, ettersom reaksjonstiden var ukjent og prøvetaking ble tatt 30 minutt og 24 timer etter rengjøringsmiddelet ble påført. Anbefalt konsentrasjon til videre rengjøring av Flatåshallen er 0,5 %, ettersom denne konsentrasjonen viste seg å være mest effektiv. Reaksjonstiden burde undersøkes videre, helst uten aktivitet på banen etter rengjøringsmiddelet er påført.

For det kontrollerte laboratorieeksperimentet var påvisningstestene på antatt *S.aureus* kolonier alle katalsepositive og oksidasenegative som er karakteristisk for *S.aureus*. Dette fører til at det er sannsynlig at det er *S.aureus* som er dyrket frem. Resultatene viser at 0,5 % konsentrasjon av Nüescosept PRO gir effektiv rengjøring av blanke kunstgressmatter, samt matter med oliven og sand som fyllmateriale. 48 timer etter rengjøringsmiddelet ble påført ble det observert en tydelig nedgang i antall kolonier av *S.aureus*. For kunstgressmatten med olivenkjerner og sand som fyllmateriale, ble CFU/dm<sup>2</sup> redusert fra 247,7 (±24,7) til 22,0 (±14,0) etter 48 timer at 0,5 % Nüescosept PRO ble påført med tre trykk på sprayflasken. For seks trykk på sprayflasken ble CFU/dm<sup>2</sup> redusert til 1,3 (±1,5), som viser at volum Nüescosept PRO påført er en faktor som burde tas hensyn til. Etter fem dager ble mattene med tre- og seks trykk på sprayflasken redusert til henholdsvis 1,0 (±1,0) CFU/dm<sup>2</sup> og 0,3 (±0,6) CFU/dm<sup>2</sup>. Dermed er 0,5 % Nüescosept PRO effektivt mot fjerning av *S.aureus* på kunstgress, men hvor lenge mikroorganismene er fjernet er fortsatt usikkert.

For begge forsøkene anbefales det videre arbeid, hvor reaksjonstiden burde undersøkes nærmere. 0,5 % Nüescosept PRO er effektivt mot *S.aureus* under kontrollerte forhold, men under naturlige forhold er fortsatt usikkert. Det krever dermed flere paralleller og tid for å få et nøyaktig og pålitelig resultat, og følgelig konklusjon.

## Referanser

- [1] *Kunstgressbaner i Norge*. Publisert fotball.no. URL: <https://www.fotball.no/klubb-og-leder/anleggsutvikling/oversikt-anlegg-i-norge/> (sjekket 25.04.2022).
- [2] *SBR-granulat brukt på kunstgresser*. Publisert ntnu.no. URL: <https://www.ntnu.no/documents/11601816/1281185218/Prosjektbeskrivelse+ifyllsfrie+baner+-+et+miljperspektiv.pdf/b2508e1c-1a62-451c-a769-1c83627e5e6d> (sjekket 01.04.2022).
- [3] *Utforming av miljøvennlige kunstgressbaner*. Publisert fotball.no. URL: <https://www.fotball.no/globalassets/klubb-og-leder/anlegg/utforming-av-miljovennlige-kunstgressbaner.pdf> (sjekket 25.04.2022).
- [4] *Kunstgressets historie*. Publisert 28.01.2020. godeidrettsanlegg.no. 29. mar. 2020. URL: <https://www.godeidrettsanlegg.no/publikasjon/kunstgressets-historie/> (sjekket 29.03.2022).
- [5] *Mest mikroplast fra dekk, vei og gummigranulat*. Publisert 26.04.2021 miljodirektoratet.no. 26. apr. 2021. URL: <https://www.miljodirektoratet.no/aktuelt/fagmeldinger/2021/april-2021/mest-mikroplast-fra-dekkslitasje-veistov-og-kunstgressbaner/> (sjekket 25.04.2022).
- [6] *Gummigranulat fra kunstgressbaner*. Publisert miljodirektoratet.no. URL: <https://www.miljodirektoratet.no/ansvarsomrader/avfall/avfallstyper/gummigranulat-fra-kunstgressbaner/> (sjekket 25.04.2022).
- [7] *Environmentally friendly substitute products for rubber granulates as infill for artificial turf fields*. Publisert Miljødirektoratet.no. URL: <https://www.miljodirektoratet.no/globalassets/publikasjoner/m955/m955.pdf> (sjekket 30.03.2022).
- [8] *Synthetic Turf: Health Debate Takes Root*. Publisert fotball.no. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2265067/> (sjekket 25.04.2022).
- [9] *THE DEFINITIVE GUIDE TO ALL TYPES OF SYNTHETIC PITCHES: 2G, 3G, 4G, 5G AND BEYOND*. Publisert 13.03.2019. sispatches.com. 13. mar. 2019. URL: <https://www.sispitches.com/the-definitive-guide-to-all-types-of-astro-turf-pitches-2g-3g-4g-and-beyond/> (sjekket 29.03.2022).
- [10] *3G pitches - How are they made*. Publisert forevergreenlawns.co.uk. URL: <https://www.forevergreenlawns.co.uk/3g-pitches-how-are-they-made/> (sjekket 29.03.2022).
- [11] *Kunstgressboka*. Publisert Regjeringen.no. URL: [https://www.regjeringen.no/contentassets/99ad796eeffe4a688d9fb93f2c22ed83/v-0975b-veileder\\_kunstgress\\_2015.pdf](https://www.regjeringen.no/contentassets/99ad796eeffe4a688d9fb93f2c22ed83/v-0975b-veileder_kunstgress_2015.pdf). (sjekket 29.03.2022).
- [12] *Kunstgressbaner*. Publisert 11.07.2019 ullensaker.kommune.no. 11. jul. 2019. URL: [https://www.ullensaker.kommune.no/siteassets/10-tekstbibliotek/varv/vassdragsovervakning/2019\\_kunstgressbaner.pdf](https://www.ullensaker.kommune.no/siteassets/10-tekstbibliotek/varv/vassdragsovervakning/2019_kunstgressbaner.pdf) (sjekket 04.04.2022).
- [13] *Exploring the toxicity of the aged styrene-butadiene rubber microplastics to petroleum hydrocarbon-degrading bacteria under compound pollution system*. Publisert 20.12.2021 Sciencedirect.com. 20. des. 2021. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651321010150> (sjekket 01.04.2022).
- [14] *Kunstgressgummi er en miljøversting. I denne byen har de muligens funnet løsningen*. Publisert 17.12.2019 Aftenposten.no. 17. des. 2019. URL: <https://www.aftenposten.no/sport/fotball/i/50QE0E/kunstgressgummi-er-en-miljoeversting-i-denne-byen-har-de-muligens-funn> (sjekket 06.04.2022).
- [15] *Obos-klubben har en helt spesiell kunstgressbane*. Publisert 27.07.2019 tv2.no. URL: <https://www.tv2.no/a/10743917/> (sjekket 27.04.2022).

- [16] *Research Shows Wood Infill is Safer For Athletes and Artificial Fields*. Publisert 13.01.2021 brockeuorpe.com. URL: <https://www.brockeuorpe.com/research-shows-wood-infill-is-safer-for-athletes-and-artificial-fields/> (sjekket 27.04.2022).
- [17] *Oliven kan være kunstgress-løsningen*. Publisert 16.06.2020 nrk.no. 16. jun. 2020. URL: <https://www.nrk.no/vestfoldogtelemark/olivensteiner-kan-vaere-kunstgress-losningen-1.15053636> (sjekket 06.04.2022).
- [18] *Fra svarte gummikuler til knuste olivensteiner*. Publisert 08.04.2021 varden.no. 8. apr. 2021. URL: <https://www.varden.no/meninger/fra-svarte-gummikuler-til-knuste-olivensteiner/> (sjekket 06.04.2022).
- [19] *Olive Stone Infill Material and Sand for Artificial Grass*. Publisert bio-powder.com. URL: <https://www.bio-powder.com/en/artificial-turf-infill/olive-stone-infill-material-sand-artificial-grass> (sjekket 06.04.2022).
- [20] *Rensing og etterfylling av gummigranulat*. Publisert fotball.no. URL: <https://www.fotball.no/globalassets/krets/sogf/anlegg/vedlikeholdsprogram-unisport.pdf> (sjekket 07.04.2022).
- [21] *Dyprens av utendørs og innendørs kunstgressbaner*. Publisert tebe-sport.no. URL: <https://www.tebe-sport.no/dyprens-av-kunstgress/> (sjekket 07.04.2022).
- [22] *Dyprens av innendørs eller utendørs 7'er bane*. Publisert tebe-sport.no. URL: <https://www.tebe-sport.no/product/dyprens-av-7er-kunstgressbane/> (sjekket 11.05.2022).
- [23] *Harving/oppmykning*. Publisert tebe-sport.no. URL: <https://www.tebe-sport.no/harving-oppmykning/> (sjekket 07.04.2022).
- [24] *Utlegging av granulat*. Publisert tebe-sport.no. URL: <https://www.tebe-sport.no/utlegging-av-ifyll/> (sjekket 07.04.2022).
- [25] *Måling av luftkvalitet i innendørs haller*. Publisert tebe-sport.no. URL: <https://www.tebe-sport.no/maling-av-innendørs-luftkvalitet/> (sjekket 07.04.2022).
- [26] *desinfeksjon*. Publisert sml.no. URL: <https://sml.sml.no/desinfeksjon> (sjekket 11.05.2022).
- [27] *Comparative efficacy evaluation of disinfectants routinely used in hospital practice*: Publisert researchgate.net. URL: [https://www.researchgate.net/publication/233789653\\_Comparative\\_efficacy\\_evaluation\\_of\\_disinfectants\\_routinely\\_used\\_in\\_hospital\\_practice\\_India](https://www.researchgate.net/publication/233789653_Comparative_efficacy_evaluation_of_disinfectants_routinely_used_in_hospital_practice_India) (sjekket 11.05.2022).
- [28] Abdigadir S og Sørensen C Ludviksen T. «Microbial Growth on Indoor Artificial Turf and Assessment of Suitable Disinfection Methods». I: *NTNU* (2021), s.23.
- [29] A. Tronsmo. *Innføring i mikrobiologi*. Universitetsforlaget, 2016. ISBN: 978-82-15-02592-6.
- [30] S.Dincer. *Bacterial Biofilms*. IntechOpen, 2020. ISBN: 978-1-78985-900-3.
- [31] Wozniak DJ Flemming HC Neu TR. «The EPS matrix: the "house of biofilm cells"». I: *Journal of bacteriology*. Vol 189(22). (2007), s.7945–7947.
- [32] *Bakterier i kunstgress?* Publisert 19.10.2019 tebe-sport.no. 8. okt. 2019. URL: <https://www.tebe-sport.no/bakterier-i-kunstgress/> (sjekket 08.04.2022).
- [33] Av Tone Tønjum. *Stafylokokker*. sml.sml.no. URL: <https://sml.sml.no/stafylokokker> (sjekket 24.03.2022).
- [34] *Why artificial turf may truly be bad for kids*. Publisert 06.03.2017 theconversation.com. 6. mar. 2017. URL: <https://theconversation.com/why-artificial-turf-may-truly-be-bad-for-kids-72044> (sjekket 08.04.2022).
- [35] B.Chess K.P.Talaro. *Foundations in microbiology*. McGraw-Hill Education, 2012. ISBN: 978-0073375298.
- [36] A. Fetsch. *Staphylococcus aureus*. Academic Press, 2018. ISBN: 978-0-12-809671-0.

- [37] Waninger & Rooney & Miller & Berberian & Fujimoto & Buttaro. «Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Survival on Artificial Turf Substrates». I: *Medicine & Science in Sports & Exercise* Vol 43 (2011), s.779–784.
- [38] *Generelt om MRSA*. Publisert FHI.no. URL: [https://www.fhi.no/contentassets/3fba276368d247128f7a9ced6e6fb51f/vedlegg/2016\\_om-mrsa-og-mrsa-barere\\_norsk-bokmal-pdf.pdf](https://www.fhi.no/contentassets/3fba276368d247128f7a9ced6e6fb51f/vedlegg/2016_om-mrsa-og-mrsa-barere_norsk-bokmal-pdf.pdf) (sjekket 29.03.2022).
- [39] Bendinelli M. Honeyman A. Friedman H. *Staphylococcus aureus Infection and Disease*. Kluwer Academic Publishers, 2002. ISBN: 0-306-46848-4.
- [40] Av Langøen A. og Gürgen M. *Dette må du vite om biofilm*. Sykepleien.no. URL: <https://sykepleien.no/forskning/2019/04/dette-ma-du-vite-om-biofilm> (sjekket 01.04.2022).
- [41] Weigelt J. *MRSA*. informa healthcare, 2007. ISBN: 1-4200-4549-0.
- [42] *Community-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (CA-MRSA) - Fact Sheet*. Publisert Health.ny.gov. URL: [https://www.health.ny.gov/diseases/communicable/staphylococcus\\_aureus/methicillin\\_resistant/community\\_associated/fact\\_sheet.htm](https://www.health.ny.gov/diseases/communicable/staphylococcus_aureus/methicillin_resistant/community_associated/fact_sheet.htm) (sjekket 07.04.2022).
- [43] *Community-associated Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (CA-MRSA): Fact Sheet for Healthcare Providers*. Publisert health.state.mn.us. URL: <https://www.health.state.mn.us/diseases/staph/mrsa/mrsahealthcare.html> (sjekket 07.04.2022).
- [44] *Vancomycin*. Publisert felleskatalogen.no. URL: <https://www.felleskatalogen.no/medisin/pasienter/pil-vancomycin-mip-pharma-628086> (sjekket 07.04.2022).
- [45] *Tryptic Soy Agar*. Publisert av Merck Millipore. URL: <https://www.sigmaaldrich.cn/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/850/388/tn1817en-mk.pdf> (sjekket 30.03.2022).
- [46] *Colony Forming Units CFU*. Publisert merusonline.com. URL: <https://www.merusonline.com/cfu-colony-forming-units/> (sjekket 14.05.2022).
- [47] *Colony Forming Unit*. Publisert sciencedirect.com. URL: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/colony-forming-unit> (sjekket 14.05.2022).
- [48] .
- [49] *remel MIKRODASE DISK*. Thermofisher.com. URL: <https://www.thermofisher.com/document-connect/document-connect.html?url=https%3A%2F%2Fassets.thermofisher.com%2FIFS-Assets%2FSLG%2Fmanuals%2FIFU21132.pdf&title=TWljcm9kYXN1IERpc2s=> (sjekket 04.04.2022).
- [50] Charles W. Stratton Yi-Wei Tang. *Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology*. Springer, 2013. ISBN: 978-1-4614-3970-7.
- [51] Iwase & Tajima & Sugimoto & Okuda & Hironaka & Kamata & Takada & Mizunoe. «A simple assay for measuring catalase activity: a visual approach». I: *Scientific reports* (2013).
- [52] *Catalase Test- Principle, Procedure, Types, Results, Uses*. Publisert av Microbe Notes. URL: <https://microbenotes.com/catalase-test-principle-procedure-and-result-interpretation/> (sjekket 21.04.2022).
- [53] *Bakterieidentifisering kort variant*. Publisert av Vetenskapenshus. URL: [https://www.vetenskapenshus.se/sites/default/files/skolprogram/material/2020-03/Bakterieidentifisering%20kort%20variant\\_f%C3%B6rarbetsmaterial.pdf](https://www.vetenskapenshus.se/sites/default/files/skolprogram/material/2020-03/Bakterieidentifisering%20kort%20variant_f%C3%B6rarbetsmaterial.pdf) (sjekket 22.04.2022).

- [54] *Staphylococcus Aureus*. Publisert av National Library of Medicine. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/> (sjekket 22.04.2022).
- [55] *3M™ Swab-Sampler with 1 mL Lethen Broth RS9601LET, 100 per case*. 3M.co.uk. URL: [https://www.3m.co.uk/3M/en\\_GB/p/d/v000075722/](https://www.3m.co.uk/3M/en_GB/p/d/v000075722/) (sjekket 06.04.2022).
- [56] Wesche A og Saxrud I. «Mikrobiologiske undersøkelser avkunstgress:Oppvekst av *Staphylococcus aureus* på fjerde generasjons fyllmaterial». I: *NTNU* (2021).



## A Vedlegg 1: Beregninger

### A.1 Beregning av kolonier til CFU/dm<sup>2</sup>

Likning A.1 viser et eksempel for beregning av kimtall til CFU/dm<sup>2</sup>. Der fortynningsfaktor er 1 og antall kolonier er 50. Arealet av prøvetakingsområdet var 1 dm<sup>2</sup>. Sterile plastrammen hadde en lengde og bredde som var 10 cm. Formel 2.1 ble benyttet:

$$CFU/dm^2 = \frac{(50 * 1)CFU}{1dm^2} \quad (A.1)$$

### A.2 Beregning av gjennomsnittsverdi, standardavvik og varians

Formel A.2 ble benyttet for å finne gjennomsnittsverdien.

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N} \quad (A.2)$$

Der telleren er summen av alle dataene og, N er totale antall data.

Formel A.3 ble benyttet for å beregne standardavviket.

$$s = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} \quad (A.3)$$

Der  $\bar{x}$  er gjennomsnittsverdien av dataene.

Tabell A.1 viser total kimtall fra TSA-platene fra 8-meteren etter rengjøring med ventetid på 24 timer. Tallene er hentet fra Tabell C.1. Tallene ble brukt for å vise eksempler for beregning av gjennomsnittsverdi, standardavvik og varians. Dette er vist under tabellen.

**Tabell A.1:** Oversikt over total kimtall fra TSA-platene fra 8-meteren etter rengjøring med ventetid på 24 timer.

Område	Parallell	Antall kolonier
8M	1	50
8M	2	47
8M	3	53

### Eksempel på beregning av gjennomsnittsverdi

Formel A.2 ble benyttet til å løse likning A.4:

$$\bar{x} = \frac{50 + 47 + 53}{3} = 50 \quad (A.4)$$

### Eksempel på beregning av standardavvik

Formel A.3 ble benyttet til å løse likning A.5:

$$s = \sqrt{\frac{(50 - 50)^2 + (47 - 50)^2 + (53 - 50)^2}{3 - 1}} = 3 \quad (A.5)$$

### A.3 Beregning av gåhastighet under rengjøring

Tiden det tok for å gå fra målstrek til 8-meteren: 16 sekunder

Strekningen mellom målstrek og 8-meteren: 9 meter

$$Hastighet = \frac{9m}{16s} = 0,56 \frac{m}{s} \quad (\text{A.6})$$

### A.4 Beregninger for fortytning av rengjøringsmiddel Nuescocept PRO

Beregning av volum som må tas ut til 5 liters plastkanne for å få konsentrasjon på 0,25 %:

$$0,0025 * 5000mL = 12,5mL \quad (\text{A.7})$$

Tilsvarende for konsentrasjon på 0,5 %:

$$0,005 * 5000mL = 25mL \quad (\text{A.8})$$

Beregning av volum som må tas ut til 500 mL sprafflaske for å få konsentrasjon på 0,5 %:

$$0,005 * 500mL = 2,5mL \quad (\text{A.9})$$

### A.5 Beregninger for tillaging av ifyll

Alle tall for beregninger av hvordan kunstgressmattene skal lages med riktig mengde ifyll, er hentet fra Nordic test certificatesom ble hentet fra Bjørn Aas.

#### Beregninger for olivenkjerner:

Fra sertifikatet står det 2  $kg/m^2$  olivenkjerner skal blandes. Omregning fra  $kg/m^2$  til  $g/cm^2$ :

$$2 \frac{kg}{m^2} * 0,1 \frac{g * m^2}{cm^2 * kg} = 0,2 \frac{g}{cm^2} \quad (\text{A.10})$$

Lengde og bredde til kunstgressmatten ble målt til henholdsvis 20,2 cm og 13,5 cm. Utregning av areal:

$$A = l * b = 20,2cm * 13,5cm = 273cm^2 \quad (\text{A.11})$$

Utregning for masse av olivenkjerner som skal overføres til kunstgressmatten:

$$0,2 \frac{g}{cm^2} * 273cm^2 = 54,6g \quad (\text{A.12})$$

#### Beregninger for sand:

Fra sertifikatet står det 11  $kg/m^2$  sand skal overføres til kunstgressmatten. Det skulle blandes 1,1  $g/cm^2$  til et areal på 273  $cm^2$ . Dette ga en masse på 300g sand, som ble overført til den blanke kunstgressmatten.

### A.6 Beregninger for 10% *S.aureus* stamløsning

50 mL fra stamløsning, fortynt til en 500 mL sprafflaske med 450 mL sterilisert vann:

$$\frac{50mL}{500mL} * 100\% = 10\%$$

## B Forforsøk - Tabeller av antall kolonier

*Tabell B.1: Oversikt over antall kolonier fra ulike områder på NTNU Kalvskinnnet*

Område	Allikvote [ $\mu\text{L}$ ]	Antall kolonier
Vanndispenser	50	50
Vanndispenser	75	76
Vanndispenser	100	89
Klasserom	50	3
Klasserom	75	2
Klasserom	100	3
Toalett	50	159
Toalett	75	124
Toalett	100	114

## C Felteforsøk - Tabeller av antall kolonier før og etter rengjøring

### C.1 Resultater fra Flatåshallen før rengjøring

*Tabell C.1: Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for første parallell.*

Område	Replikant	CFU/dm <sup>2</sup>
8M	1	50
8M	2	47
8M	3	53
8M MSA-plate	4	0
Hjørnespark-flagget	1	48
Hjørnespark-flagget	2	40
Hjørnespark-flagget	3	52
Hjørnespark-flagget MSA-plate	4	4
Midtbanen	1	19
Midtbanen	2	11
Midtbanen	3	10
Midtbanen MSA-plate	4	0

**Tabell C.2:** Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for andre parallell.

<b>Område</b>	<b>Replikant</b>	<b>Antall kolonier</b>
8M	1	32
8M	2	30
8M	3	39
8M MSA-plate	4	1
Hjørnespark-flagget	1	15
Hjørnespark-flagget	2	10
Hjørnespark-flagget	3	13
Hjørnespark-flagget MSA-plate	4	3
Midtbanen	1	7
Midtbanen	2	10
Midtbanen	3	7
Midtbanen MSA-plate	4	3

**Tabell C.3:** Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for tredje parallell.

<b>Område</b>	<b>Replikant</b>	<b>Antall kolonier</b>
8M	1	23
8M	2	30
8M	3	32
8M MSA-plate	4	6
Hjørnespark-flagget	1	4
Hjørnespark-flagget	2	5
Hjørnespark-flagget	3	6
Hjørnespark-flagget MSA-plate	4	0
Midtbanen	1	5
Midtbanen	2	10
Midtbanen	3	9
Midtbanen MSA-plate	4	1

## C.2 Resultater fra Flatåshallen etter rengjøring med ventetid på 30 minutter

*Tabell C.4: Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for første parallell.*

Område	Konsentrasjon	Replikant	Antall kolonier
8M	0,25 %	1	14
8M	0,25 %	2	16
8M	0,25 %	3	13
8M MSA-plate	0,25 %	4	1
Hjørnespark-flagget	0,25 %	1	5
Hjørnespark-flagget	0,25 %	2	10
Hjørnespark-flagget	0,25 %	3	9
Hjørnespark-flagget MSA-plate	0,25 %	4	0
Midtbanen	0,25 %	1	10
Midtbanen	0,25 %	2	8
Midtbanen	0,25 %	3	7
Midtbanen MSA-plate	0,25 %	4	1
8M	0,5 %	1	7
8M	0,5 %	2	5
8M	0,5 %	3	8
8M MSA-plate	0,5 %	4	1
Hjørnespark-flagget	0,5 %	1	20
Hjørnespark-flagget	0,5 %	2	25
Hjørnespark-flagget	0,5 %	3	18
Hjørnespark-flagget MSA-plate	0,5 %	4	2
Midtbanen	0,5 %	1	3
Midtbanen	0,5 %	2	7
Midtbanen	0,5 %	3	3
Midtbanen MSA-plate	0,5 %	4	1

**Tabell C.5:** Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for andre parallell.

Område	Konsentrasjon	Replikat	Antall kolonier
8M	0,25 %	1	25
8M	0,25 %	2	30
8M	0,25 %	3	20
8M MSA-plate	0,25 %	4	2
Hjørnespark-flagget	0,25 %	1	9
Hjørnespark-flagget	0,25 %	2	12
Hjørnespark-flagget	0,25 %	3	10
Hjørnespark-flagget MSA-plate	0,25 %	4	2
Midtbanen	0,25 %	1	23
Midtbanen	0,25 %	2	20
Midtbanen	0,25 %	3	24
Midtbanen MSA-plate	0,25 %	4	2
8M	0,5 %	1	5
8M	0,5 %	2	5
8M	0,5 %	3	10
8M MSA-plate	0,5 %	4	0
Hjørnespark-flagget	0,5 %	1	18
Hjørnespark-flagget	0,5 %	2	10
Hjørnespark-flagget	0,5 %	3	15
Hjørnespark-flagget MSA-plate	0,5 %	4	2
Midtbanen	0,5 %	1	5
Midtbanen	0,5 %	2	8
Midtbanen	0,5 %	3	12
Midtbanen MSA-plate	0,5 %	4	0

**Tabell C.6:** Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for tredje parallell.

Område	Konsentrasjon	Replikant	Antall kolonier
8M	0,25 %	1	39
8M	0,25 %	2	42
8M	0,25 %	3	36
8M MSA-plate	0,25 %	4	3
Hjørnespark-flagget	0,25 %	1	3
Hjørnespark-flagget	0,25 %	2	2
Hjørnespark-flagget	0,25 %	3	3
Hjørnespark-flagget MSA-plate	0,25 %	4	0
Midtbanen	0,25 %	1	5
Midtbanen	0,25 %	2	8
Midtbanen	0,25 %	3	1
Midtbanen MSA-plate	0,25 %	4	0
8M	0,5 %	1	82
8M	0,5 %	2	40
8M	0,5 %	3	30
8M MSA-plate	0,5 %	4	0
Hjørnespark-flagget	0,5 %	1	11
Hjørnespark-flagget	0,5 %	2	10
Hjørnespark-flagget	0,5 %	3	11
Hjørnespark-flagget MSA-plate	0,5 %	4	2
Midtbanen	0,5 %	1	1
Midtbanen	0,5 %	2	2
Midtbanen	0,5 %	3	4
Midtbanen MSA-plate	0,5 %	4	1

### C.3 Resultater fra Flatåshallen etter rengjøring med ventetid på 24 timer

*Tabell C.7: Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for første parallell.*

Område	Konsentrasjon	Replikat	Antall kolonier
8M	0,25 %	1	8
8M	0,25 %	2	12
8M	0,25 %	3	9
8M MSA-plate	0,25 %	4	0
Hjørnespark-flagget	0,25 %	1	13
Hjørnespark-flagget	0,25 %	2	10
Hjørnespark-flagget	0,25 %	3	14
Hjørnespark-flagget MSA-plate	0,25 %	4	3
Midtbanen	0,25 %	1	29
Midtbanen	0,25 %	2	38
Midtbanen	0,25 %	3	32
Midtbanen MSA-plate	0,25 %	4	2
8M	0,5 %	1	2
8M	0,5 %	2	1
8M	0,5 %	3	4
8M MSA-plate	0,5 %	4	0
Hjørnespark-flagget	0,5 %	1	12
Hjørnespark-flagget	0,5 %	2	10
Hjørnespark-flagget	0,5 %	3	9
Hjørnespark-flagget MSA-plate	0,5 %	4	0
Midtbanen	0,5 %	1	4
Midtbanen	0,5 %	2	5
Midtbanen	0,5 %	3	4
Midtbanen MSA-plate	0,5 %	4	0



**Tabell C.8:** Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for andre parallell.

Område	Konsentrasjon	Replikat	Antall kolonier
8M	0,25 %	1	3
8M	0,25 %	2	6
8M	0,25 %	3	3
8M MSA-plate	0,25 %	4	0
Hjørnespark-flagget	0,25 %	1	14
Hjørnespark-flagget	0,25 %	2	11
Hjørnespark-flagget	0,25 %	3	10
Hjørnespark-flagget MSA-plate	0,25 %	4	0
Midtbanen	0,25 %	1	60
Midtbanen	0,25 %	2	73
Midtbanen	0,25 %	3	55
Midtbanen MSA-plate	0,25 %	4	9
8M	0,5 %	1	3
8M	0,5 %	2	5
8M	0,5 %	3	7
8M MSA-plate	0,5 %	4	0
Hjørnespark-flagget	0,5 %	1	2
Hjørnespark-flagget	0,5 %	2	3
Hjørnespark-flagget	0,5 %	3	3
Hjørnespark-flagget MSA-plate	0,5 %	4	1
Midtbanen	0,5 %	1	12
Midtbanen	0,5 %	2	14
Midtbanen	0,5 %	3	11
Midtbanen MSA-plate	0,5 %	4	5

**Tabell C.9:** Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra TSA-plater og antall kolonier fra MSA-plater for tredje parallell.

Område	Konsentrasjon	Replikant	Antall kolonier
8M	0,25 %	1	5
8M	0,25 %	2	7
8M	0,25 %	3	8
8M MSA-plate	0,25 %	4	0
Hjørnespark-flagget	0,25 %	1	6
Hjørnespark-flagget	0,25 %	2	7
Hjørnespark-flagget	0,25 %	3	3
Hjørnespark-flagget MSA-plate	0,25 %	4	1
Midtbanen	0,25 %	1	48
Midtbanen	0,25 %	2	31
Midtbanen	0,25 %	3	37
Midtbanen MSA-plate	0,25 %	4	0
8M	0,5 %	1	8
8M	0,5 %	2	5
8M	0,5 %	3	4
8M MSA-plate	0,5 %	4	0
Hjørnespark-flagget	0,5 %	1	3
Hjørnespark-flagget	0,5 %	2	5
Hjørnespark-flagget	0,5 %	3	9
Hjørnespark-flagget MSA-plate	0,5 %	4	0
Midtbanen	0,5 %	1	12
Midtbanen	0,5 %	2	14
Midtbanen	0,5 %	3	10
Midtbanen MSA-plate	0,5 %	4	5

#### C.4 Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene før rengjøring

**Tabell C.10:** Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene før rengjøring av Flatåshallen

Område	Parallell	Gjennomsnittsverdi	Standardavvik
8M (Før rengjøring)	1	50	3
8M (Før rengjøring)	2	33,7	4,7
8M (Før rengjøring)	3	28,3	4,7
Hjørnespark-flagget (Før rengjøring)	1	46,7	6,1
Hjørnespark-flagget (Før rengjøring)	2	12,7	2,5
Hjørnespark-flagget (Før rengjøring)	3	5	1
Midtbanen (Før rengjøring)	1	13,3	4,9
Midtbanen (Før rengjøring)	2	8	1,7
Midtbanen (Før rengjøring)	3	8	2,6

## C.5 Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene etter rengjøring med ventetid på 30 minutter

*Tabell C.11: Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene etter rengjøring av Flatåshallen med ventetid på 30 minutter*

Område	Parallell	Gjennomsnittsverdi	Standardavvik
8M (0,25 %)	1	50	3
8M (0,25 %)	2	33,7	4,7
8M (0,25 %)	3	28,3	4,7
Hjørnespark-flagget (0,25 %)	1	46,7	6,1
Hjørnespark-flagget (0,25 %)	2	12,7	2,5
Hjørnespark-flagget (0,25 %)	3	5	1
Midtbanen (0,25 %)	1	13,3	4,9
Midtbanen (0,25 %)	2	8	1,7
Midtbanen (0,25 %)	3	8	2,6
8M (0,5 %)	1	6,7	1,5
8M (0,5 %)	2	6,7	2,9
8M (0,5 %)	3	50,7	27,6
Hjørnespark-flagget (0,5 %)	1	21	3,6
Hjørnespark-flagget (0,5 %)	2	14,3	4,0
Hjørnespark-flagget (0,5 %)	3	10,7	0,6
Midtbanen (0,5 %)	1	4,3	2,3
Midtbanen (0,5 %)	2	8,3	3,5
Midtbanen (0,5 %)	3	2,3	1,5

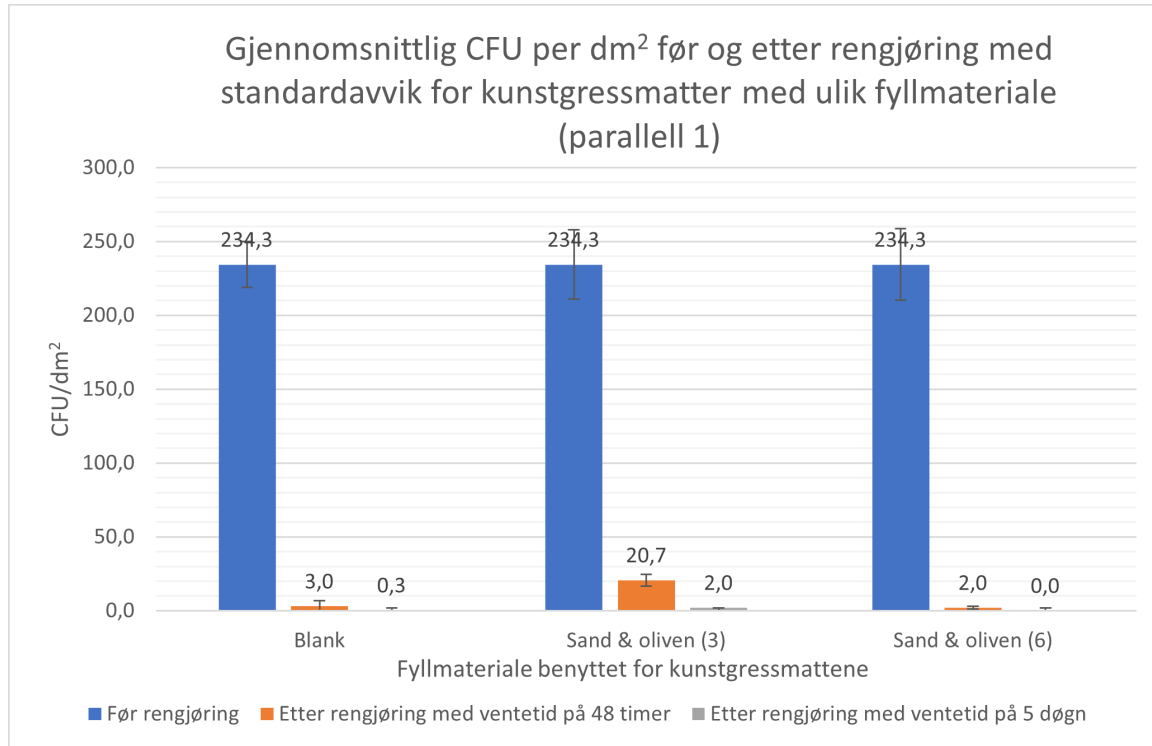
## C.6 Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene etter rengjøring med ventetid på 24 timer

*Tabell C.12: Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene etter rengjøring av Flatåshallen med ventetid på 24 timer*

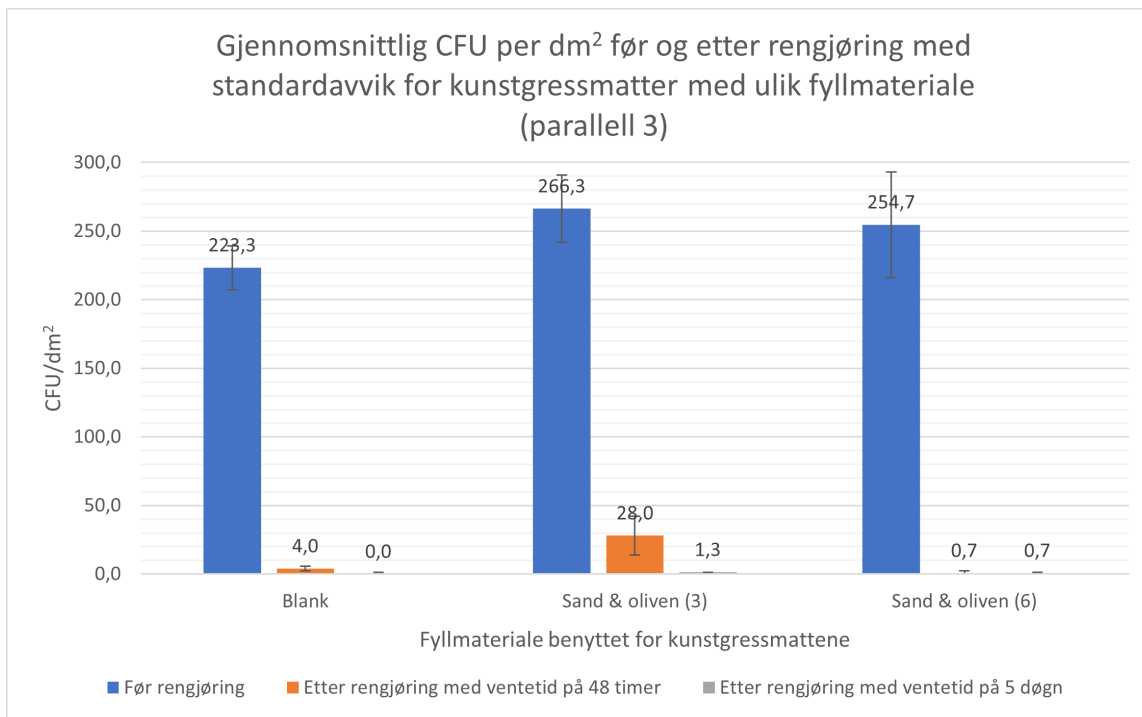
Område	Parallell	Gjennomsnittsverdi	Standardavvik
8M (0,25 %)	1	9,7	2,1
8M (0,25 %)	2	4	1,7
8M (0,25 %)	3	6,7	1,5
Hjørnespark-flagget (0,25 %)	1	12,3	2,1
Hjørnespark-flagget (0,25 %)	2	11,7	2,1
Hjørnespark-flagget (0,25 %)	3	5,3	2,1
Midtbanen (0,25 %)	1	33	4,6
Midtbanen (0,25 %)	2	62,7	9,3
Midtbanen (0,25 %)	3	38,7	8,6
8M (0,5 %)	1	2,3	1,5
8M (0,5 %)	2	5,7	3,1
8M (0,5 %)	3	5,7	2,1
Hjørnespark-flagget (0,5 %)	1	10,3	1,5
Hjørnespark-flagget (0,5 %)	2	2,7	0,6
Hjørnespark-flagget (0,5 %)	3	5,7	3,1
Midtbanen (0,5 %)	1	4,3	0,6
Midtbanen (0,5 %)	2	12,3	1,5
Midtbanen (0,5 %)	3	12	2

## D Kontrollert laboratorieeksperiment - Tabeller for antall kolonier etter rengjøring

### D.1 Kunstgressmatter eksponert for *S.aureus* - Resultater før- og etter Nüescosept PRO, med ventetid på 48 timer og fem dager



**Figur D.1:** Stolpediagram av gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> fra kunstgressmattene med ulik fyllmateriale etter 48 timer.



**Figur D.2:** Stolpediagram av gjennomsnittlig CFU/dm<sup>2</sup> fra kunstgressmattene med ulik fyllmateriale etter 5 døgn.



**Figur D.3:** Et representativt bilde av MSA-platen før overføring av rengjøringsmiddelet på den blanke kunstgressmatten.

## D.2 CFU/dm<sup>2</sup> før rengjøring

*Tabell D.1: Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra første parallell av kunstgressmattene med ulike fyll.*

Fyllmateriale	Replikat	Antall trykk på sprayflasken	Antall kolonier
Blank	1	3	234
Blank	2	3	250
Blank	3	3	219
Sand & oliven	1	3	259
Sand & oliven	2	3	212
Sand & oliven	3	3	232
Sand & oliven	1	6	212
Sand & oliven	2	6	260
Sand & oliven	3	6	231

*Tabell D.2: Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra andre parallell av kunstgressmattene med ulike fyll.*

Fyllmateriale	Replikat	Antall trykk på sprayflasken	Antall kolonier
Blank	1	3	246
Blank	2	3	231
Blank	3	3	214
Sand & oliven	1	3	231
Sand & oliven	2	3	276
Sand & oliven	3	3	236
Sand & oliven	1	6	279
Sand & oliven	2	6	206
Sand & oliven	3	6	263

*Tabell D.3: Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra tredje parallell av kunstgressmattene med ulike fyll.*

Fyllmateriale	Replikat	Antall trykk på sprayflasken	Antall kolonier
Blank	1	3	210
Blank	2	3	239
Blank	3	3	221
Sand & oliven	1	3	287
Sand & oliven	2	3	267
Sand & oliven	3	3	245
Sand & oliven	1	6	274
Sand & oliven	2	6	239
Sand & oliven	3	6	251

### D.3 CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring med ventetid på 48 timer

**Tabell D.4:** Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra første parallell av kunstgressmattene med ulike fyll, 48 timer etter rengjøring.

Fyllmateriale	Replikat	Antall trykk på sprayflasken	Antall kolonier
Blank	1	3	0
Blank	2	3	7
Blank	3	3	2
Sand & oliven	1	3	20
Sand & oliven	2	3	17
Sand & oliven	3	3	25
Sand & oliven	1	6	2
Sand & oliven	2	6	3
Sand & oliven	3	6	1

**Tabell D.5:** Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra andre parallell av kunstgressmattene med ulike fyll, 48 timer etter rengjøring.

Fyllmateriale	Replikat	Antall trykk på sprayflasken	Antall kolonier
Blank	1	3	2
Blank	2	3	3
Blank	3	3	5
Sand & oliven	1	3	12
Sand & oliven	2	3	38
Sand & oliven	3	3	16
Sand & oliven	1	6	0
Sand & oliven	2	6	1
Sand & oliven	3	6	3

**Tabell D.6:** Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra tredje parallell av kunstgressmattene med ulike fyll, 48 timer etter rengjøring.

Fyllmateriale	Replikat	Antall trykk på sprayflasken	Antall kolonier
Blank	1	3	5
Blank	2	3	7
Blank	3	3	0
Sand & oliven	1	3	22
Sand & oliven	2	3	35
Sand & oliven	3	3	27
Sand & oliven	1	6	1
Sand & oliven	2	6	1
Sand & oliven	3	6	0



#### D.4 CFU/dm<sup>2</sup> etter rengjøring med ventetid på fem døgn

**Tabell D.7:** Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra første parallell av kunstgressmattene med ulike fyll, fem døgn etter rengjøring.

Fyllmateriale	Replikat	Antall trykk på sprayflasken	Antall kolonier
Blank	1	3	0
Blank	2	3	0
Blank	3	3	1
Sand & oliven	1	3	3
Sand & oliven	2	3	0
Sand & oliven	3	3	3
Sand & oliven	1	6	0
Sand & oliven	2	6	0
Sand & oliven	3	6	0

**Tabell D.8:** Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra andre parallell av kunstgressmattene med ulike fyll, fem døgn etter rengjøring.

Fyllmateriale	Replikat	Antall trykk på sprayflasken	Antall kolonier
Blank	1	3	0
Blank	2	3	0
Blank	3	3	0
Sand & oliven	1	3	2
Sand & oliven	2	3	1
Sand & oliven	3	3	0
Sand & oliven	1	6	1
Sand & oliven	2	6	0
Sand & oliven	3	6	0

**Tabell D.9:** Oversikt over CFU/dm<sup>2</sup> fra tredje parallell av kunstgressmattene med ulike fyll, fem døgn etter rengjøring.

Fyllmateriale	Replikat	Antall trykk på sprayflasken	Antall kolonier
Blank	1	3	0
Blank	2	3	0
Blank	3	3	0
Sand & oliven	1	3	3
Sand & oliven	2	3	0
Sand & oliven	3	3	1
Sand & oliven	1	6	0
Sand & oliven	2	6	0
Sand & oliven	3	6	2

## D.5 Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene før rengjøring

*Tabell D.10: Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene før rengjøring av kunstgressmattene*

Område	Parallell	Gjennomsnittsverdi	Standardavvik
Blank	1	234,3	15,5
Blank	2	230,3	16,0
Blank	3	223,3	14,6
Sand & oliven (3)	1	234,4	23,6
Sand & oliven (3)	2	247,7	24,7
Sand & oliven (3)	3	266,3	21,0
Sand & oliven (6)	1	234,3	24,2
Sand & oliven (6)	2	249,3	38,4
Sand & oliven (6)	3	254,7	17,8

## D.6 Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene 48 timer etter rengjøring

*Tabell D.11: Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene 48 timer etter rengjøring av kunstgressmattene*

Område	Parallell	Gjennomsnittsverdi	Standardavvik
Blank	1	3,0	3,6
Blank	2	3,3	1,5
Blank	3	4,0	3,6
Sand & oliven (3)	1	20,7	4,0
Sand & oliven (3)	2	22,0	14,0
Sand & oliven (3)	3	28,0	6,6
Sand & oliven (6)	1	2,0	1,0
Sand & oliven (6)	2	1,3	1,5
Sand & oliven (6)	3	0,7	0,6

## D.7 Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene fem dager etter rengjøring

*Tabell D.12: Gjennomsnittsverdi og standardavvik av replikatene fem dager timer etter rengjøring av kunstgressmattene*

Område	Parallell	Gjennomsnittsverdi	Standardavvik
Blank	1	0,3	0,6
Blank	2	0,0	0,0
Blank	3	0,0	0,0
Sand & oliven (3)	1	2,0	1,7
Sand & oliven (3)	2	1,0	1,0
Sand & oliven (3)	3	1,3	1,5
Sand & oliven (6)	1	0,0	0,0
Sand & oliven (6)	2	0,3	0,6
Sand & oliven (6)	3	0,7	1,2

