

**Forekomst av *Staphylococcus aureus* på kunstgressbaner**

**Occurrence of *Staphylococcus Aureus* on Artificial Turf Fields**

**Bacheloroppgave**

Prosjektnummer: IMA-B-09-2020

Innleveringsdato: 20.05.2020

Gradering: Åpen

Forfattere: Eline Eikeland og Maria Eikenes Skorpen

Intern veileder: Lene Østby

Oppdragsgiver: SIAT – Senter for idrettsanlegg og teknologi

Kontaktperson: Bjørn Aas



Institutt for materialteknologi



## Forord

Rapporten er utarbeidet av bachelorstudenter ved studiet kjemiingeniør ved institutt for materialteknologi, fakultet for naturvitenskap, Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU), etter initiativ fra Senter for idrettsanlegg og teknologi (SIAT). Oppgaven ble gjennomført i tidsrommet 06.01.20 – 20.05.20. Det har vært en krevende, men også spennende og lærerik prosess. Oppgaven hadde opprinnelig en større praktisk del, men ble i stor grad bearbeidet til en teoretisk oppgave som følge av COVID-19 – pandemien.

Det er lite kunnskap om det mikrobiologiske samfunnet på kunstgressflater og hvordan dette påvirker brukerne av kunstgresset. Hensikten med oppgaven har vært å kartlegge sannsynligheten for tilstedeværelsen av *Staphylococcus aureus* på norske kunstgressbaner, og helserisikoen bakterien utgjør for brukerne.

Vi vil takke Bjørn Aas og Siri Marie Bø ved SIAT for en spennende oppgave, og god oppfølging underveis. Det har vært givende å arbeide selvstendig, og vi vil takke for tillitten dere har vist oss. Vi vil også takke intern veileder Lene Østby for god oppfølging og nyttige tilbakemeldinger. Intern veileder har vært tilgjengelig og behjelpelig under hele prosjektperioden. Videre vil vi takke Hege Sundgård for å være svært hjelpsom under planlegging og utføring av den praktiske delen på laboratoriet. Til slutt vil vi takke Christina Gabrielsen Ås, forsker ved MRSA referanselaboratorium, for gode svar på spørsmål og for å ha gitt oss muligheten til å bekrefte funn av MRSA på deres laboratorier på St. Olavs hospital.



---

Eline Eikeland



---

Maria Eikenes Skorpen

Trondheim, 13.05.2020



## Sammendrag

Den første kunstgressbanen innen idrett på verdensbasis ble bygget på 1960-tallet, og siden har kunstgress utviklet seg gjennom fire generasjoner. Tredje generasjons (3G) kunstgress består av kunstgressfibre, sand og gummigranulat, og er mest benyttet både i Norge og 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 i norsk natur, og det er derfor av interesse å erstatte syntetiske fyllmaterialer med miljøvennlige materialer. Kunstgress uten kunstig fyllmateriale betegnes som fjerde generasjons (4G) kunstgress, og kan blant annet inneholde organiske fyllmaterialer. På kunstgress har hudlesjoner en hyppigere forekomst sammenlignet med naturgress, som følge av skarpe kunstgressfibre. Hudlesjoner er en smittevei for patogene bakterier som *Staphylococcus aureus*. Bakterien finnes på hud og i slimhinner hos mennesker, og kan i sjeldne tilfeller forårsake sykdom hos friske personer. Dersom infeksjonen skyldes meticillin-resistent *Staphylococcus aureus* (MRSA), kan behandling med antibiotika være utfordrende. Mikrobiell vekst på kunstgress kan påvirkes av type fyllmateriale, temperatur, luftfuktighet, CO<sub>2</sub>-konsentrasjon, ultrafiolett stråling (UV-stråling) og dyprens. Om banene er innen- eller utendørs er også avgjørende. Utendørs kunstgressbaner tilføres mikroorganismer og organisk materiale fra dyr, fugler og nedbør, som kan bidra til biofilmdannelse. Ulike typer fyllmaterialer kan påvirke mikrobiell vekst på kunstgress. Styren-butadiengummigranulat (SBR-granulat) inneholder kjemiske forbindelser som inhiberer mikrobiell vekst, mens hydrofile og porøse organiske fyllmaterialer har en struktur som mikroorganismer og sekreter kan trenge inn i. Den porøse strukturen gir mulighet for biofilmdannelse, og beskytter cellene mot desinfiserende faktorer som kan inhibere mikrobiell vekst. I en praktisk del av oppgaven ble det hentet prøver fra tre områder, A, B og C, på en innendørs kunstgressbane med fyllmateriale av knuste olivenkjerne og sand. Det ble også hentet referanseprøver, R, fra en ubrukt kunstgressmatte av samme type kunstgress som i kunstgresshallen, men uten fyllmateriale. Prøvene ble dyrket på trypticase soy agar (TSA) og inkubert ved 37°C i 43 timer. Det ble observert bakterieoppvekst på 23 av 24 prøver, med variasjon i farge, form og størrelse. Gjennomsnittlig kimtall av prøver for områdene A, B, C og R (relatert til et areal lik 10cm x 10cm), var 3,5 (±1,9), 21,7 (±17,8) og 6,7 (±1,6) og 0,3 (±0,5). Resultatene indikerte et bredt spekter av bakterier, samt en tilførsel av mikroorganismer og organisk materiale som spytt og svette fra eksterne kilder. For å kunne undersøke tilstedeværelsen av *Staphylococcus aureus* burde det utføres en screening av bakterien, noe som ikke ble gjennomført som følge av COVID-19 – pandemien.



## Abstract

The first artificial turf playing field was built in the 1960s, and since then artificial turf fields have been developed through four generations. Third generation (3G) artificial turfs consist of artificial grass fibers, sand and crumb rubber. It is widely used in both Norway and worldwide since it promotes good properties for playing and because of its similarity to natural grass. Despite the popularity of 3G-artificial turfs, the environmental aspect of synthetic infill is discussed. In Norway, crumb rubber constitutes the second largest source to discharge of microplastic in the nature. Therefore, it is of interest to substitute synthetic infills with environmentally friendly products. Artificial turfs without synthetic infill are referred to as the fourth generation (4G) of artificial turfs, with infill such as organic materials. On artificial turfs, the occurrence of skin lesions are more frequent compared to natural grass, as a result of sharp artificial turf fibers. Skin lesions are an entrance for pathogenic bacteria such as *Staphylococcus aureus*, enabling them to form an infection. The bacterium is located on human skin and in mucous membranes, but can in rare cases cause disease among healthy people. If the infection is caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), treatment by antibiotics can be challenging. Microbial growth on artificial turfs can be influenced by infills, temperature, humidity, CO<sub>2</sub>-concentration, ultraviolet radiation (UV-radiation) and deep cleanings. Whether the fields are located in- or outdoors are essential. Microorganisms and organic materials from animals, birds and rainfall are added on outdoor fields, which can promote biofilm formation. Different types of infills can influence microbial growth on artificial turf. Styrene-butadiene rubber granules (SBR-granules) contain chemical compounds that inhibit microbial growth, while hydrophilic and porous organic infill have a structure that microorganisms and secretions can infiltrate. The porous structure enables biofilm formation, and protects the cells from disinfecting factors that may inhibit microbial growth. In a practical part of this study, samples were collected from three areas, A, B and C, from an indoor artificial turf field with crushed olive kernels and sand as infill. Reference samples, R, were collected from an unused artificial turf mat similar to the indoor field, but without infill. All of the samples were grown on trypticase soy agar (TSA) and incubated at 37 °C for 43 hours. Bacterial growth was observed in 23 out of 24 samples, and the colonies varied in color, shape and size. The average colony count of samples collected from the areas A, B, C and R (related to an area equal to 10cm x 10cm) was 3,5 (±1,9), 21,7 (±17,8), 6,7 (±1,6) and 0,3 (±0,5). The results indicated a wide range of bacterial growth, as well as a supply of microorganisms and organic materials such as spit and sweat from external sources. To be able to confirm the presence of *Staphylococcus aureus*, a screening of the bacterium should be carried out. In this study, a screening was planned but not completed due to the COVID-19 – pandemic.





# Innholdsfortegnelse

<b>Forord</b> .....	<b>III</b>
<b>Sammendrag</b> .....	<b>V</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>VII</b>
<b>Innholdsfortegnelse</b> .....	<b>IX</b>
<b>Figurliste</b> .....	<b>XI</b>
<b>Tabelliste</b> .....	<b>XII</b>
<b>Forkortelser</b> .....	<b>XIII</b>
<b>Ordforklaringer</b> .....	<b>XV</b>
<b>1 Innledning</b> .....	<b>1</b>
<b>2 Teori</b> .....	<b>2</b>
2.1 Generell oppbygning og bruk av kunstgress innen idrett .....	2
2.1.1 Generell oppbygning av 3G og 4G kunstgress.....	2
2.1.2 SBR-granulat som fyllmateriale på kunstgressbaner .....	4
2.1.3 Granulat laget av organiske materialer .....	5
2.1.4 Rengjøring av kunstgressbaner .....	5
2.2 Mikroorganismer på kunstgress .....	6
2.2.1 Hudlesjoner – en smittevei for mikroorganismer .....	6
2.2.2 Biofilmdannelse og smitterisiko ved patogene mikroorganismer .....	6
2.3 Faktorer som kan inhibere mikrobiell vekst på kunstgress.....	7
2.4 <i>Staphylococcus aureus</i> – egenskaper, sykdomsbilde og behandling.....	9
2.5 Antibiotikaresistens hos <i>Staphylococcus aureus</i> – sykdomsbilde og forekomst .....	11
2.5.1 Hvordan har <i>Staphylococcus aureus</i> oppnådd antibiotikaresistens?.....	12
2.5.2 Forekomst og smitte av MRSA .....	12
2.5.3 Årsaker til økende forekomst av MRSA.....	13
2.5.4 Påvisning av MRSA .....	14
2.6 Næringsmedier .....	14
2.6.1 Karakteristiske egenskaper til trypticase soy agar (TSA).....	14
2.6.2 Karakteristiske egenskaper til mannitol salt agar .....	14
2.6.3 Karakteristiske egenskaper til blodagar .....	15
2.6.4 Karakteristiske egenskaper til CHROMagar MRSA .....	16
2.7 Metoder for påvisning av <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
2.7.1 Observasjon av morfologi ved mikroskopering.....	16
2.7.2 Fastsettelse av cellestruktur ved gramfarging .....	17
2.7.3 Deteksjon av koagulase.....	18
2.7.4 Deteksjon av oksidase ved modifisert oksidasetest.....	19
2.7.5 Deteksjon av katalase.....	19

<b>3</b>	<b>Materialer og metoder .....</b>	<b>21</b>
3.1	Materialer .....	21
3.2	Metoder .....	22
3.2.1	Prøvetakning .....	22
3.2.2	Tillagning av mannitol salt agarplater .....	24
3.2.3	Tillagning av trypticase soy agarplater (TSA).....	25
3.2.4	Test av overlevelsen til <i>Staphylococcus Aureus</i> på blodagar .....	25
3.2.5	Inokulering av kontrollprøver på mannitol salt agar og blodagar .....	25
3.2.6	Inokulering av kunstgressprøver på trypticase soy agar (TSA).....	25
3.2.7	Inokulering av kunstgressprøver på mannitol salt agar .....	25
3.2.8	Subkultivering på mannitol salt agar og blodagar .....	26
3.2.9	Påvisningstester for <i>Staphylococcus aureus</i> .....	27
3.2.10	Inokulering på chromID MRSA agar .....	28
<b>4</b>	<b>Resultat.....</b>	<b>29</b>
4.1	Kimtall på kunstgressflater dyrket på TSA .....	29
<b>5</b>	<b>Diskusjon .....</b>	<b>34</b>
5.1	Kimtall på innendørs kunstgressbane og referansekunstgress.....	34
5.2	Faktorer som påvirker vekst av mikroorganismer på kunstgress .....	35
5.2.1	Fyllmaterialer .....	35
5.2.2	Temperatur, luftfuktighet og CO <sub>2</sub> -konsentrasjon .....	36
5.2.3	UV-stråling.....	37
5.2.4	Tilgjengelighet .....	37
5.2.5	Rensing av kunstgress .....	38
5.3	Faktorer som påvirker forekomsten av <i>Staphylococcus aureus</i> på kunstgress .....	38
5.3.1	Abiotiske faktorer.....	38
5.3.2	Biotiske faktorer .....	39
5.4	Potensiell effekt av <i>Staphylococcus aureus</i> på norske kunstgressbaner? .....	40
5.5	Forebyggende tiltak mot smitte av <i>Staphylococcus aureus</i> på kunstgress .....	41
5.5.1	Hvordan kan brukerne av kunstgressbaner forebygge smitte? .....	41
5.5.2	Hvordan kan eier av kunstgressanlegg forebygge smitte?.....	41
5.6	Videre arbeid for screening av <i>Staphylococcus aureus</i> på kunstgress.....	42
<b>6</b>	<b>Konklusjon .....</b>	<b>43</b>
<b>7</b>	<b>Referanser.....</b>	<b>44</b>
	<b>Vedleggsliste.....</b>	<b>51</b>

## Figurliste

Figur 1: Utviklingen av kunstgress.....	2
Figur 2: Tverrsnitt av en generell 3G/4G kunstgressbane.....	3
Figur 3: Staphylococcus aureus.....	9
Figur 4: Fagocyterende celle.....	10
Figur 5: Antibiotikaresistene Staphylococcus aureus.....	11
Figur 6: Tilfeller av MRSA i Norden.....	13
Figur 7: $\alpha$ -, $\beta$ - og $\gamma$ -hemolyse på blodagar.....	15
Figur 8: Bakteriers morfologi.....	17
Figur 9: Prøvetakingsområder (A, B, C).....	23
Figur 10: Prøvetakning fra en kunstgressflate.....	23
Figur 11: Metode for prøvetakning.....	24
Figur 12: Oversikt over subkultiveringer.....	26
Figur 13: Oppvekst i prøver fra områdene A og B.....	32
Figur 14: Oppvekst i prøver fra områdene C og R.....	33
Figur 15: Oppvekst i prøver fra område R.....	33

## Tabelliste

Tabell 1: Spesifikke egenskaper for ulike stafylokokkarter .....	18
Tabell 2: Utstyr og reagenser som ble benyttet .....	21
Tabell 3: Bakteriekolonier og tilhørende diameter. ....	29
Tabell 4: Kimtall av prøver fra område A.....	30
Tabell 5: Kimtall av prøver fra område B.....	30
Tabell 6: Kimtall av prøver fra område C.....	31
Tabell 7: Kimtall av prøver fra område R.....	31
Tabell 8: Gjennomsnittlig kimtall av prøver fra områdene A, B, C og R. ....	32

## Forkortelser

1G-4G	Første-, andre-, tredje- og fjerde generasjons kunstgress
CA-MRSA	Community-associated MRSA
EPDM	Ethylene propylene diene monomer
HA-MRSA	Healthcare-associated MRSA
KUD	Kulturdepartementet
LA-MRSA	Livestock-associated MRSA
MRSA	Meticillin-resistent <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	Meticillin-sensitiv <i>Staphylococcus aureus</i>
NFF	Norges Fotballforbund
NILU	Norsk institutt for luftforskning
NTNU	Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet
PAH	Polysykliske aromatiske hydrokarboner
PBP	Penicillin-bindende protein
PCR	Polymerase chain reaction
PVL	Panton Valentine Leucocidin
SBR	Styren-butadien gummi
SIAT	Senter for idrettsanlegg og teknologi
spa	Staphylococcal protein A
SSSS	Staphylococcal scalded skin syndrome
<i>subsp.</i>	Subspecies
SVOC	Halvflyktige organiske forbindelser
TMPD	Tetrametyl-p-fenyldiamin
TPE	Termoplastiske elastomerer

TSA	Trypticase soy agar
TSS	Toksisk sjokksyndrom
VISA	Vancomycin-intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
VOC	Flyktige organiske forbindelser
VRSA	Vancomycin-resistent <i>Staphylococcus aureus</i>

## Ordforklaringer

Abscess	Oppsamling av puss som hindrer spredning av bakterier til resten av kroppen.
Aerob	Avhengig av oksygen.
Agglutinasjon	Partikler i plasma bindes til hverandre, og felles ut som synlige flak eller klumper i suspensjonen.
Anaerob	Ikke avhengig av oksygen.
Biofilm	Samfunn av mikroorganismer som er festet til en overflate eller i hverandre. Mikroorganismene er innkapslet i et lag av slim, kalt matriks.
Differensierte næringsmedier	Medier som gir visuelle forskjeller ved oppvekst av ulike mikroorganismer, som endringer i koloni- og mediefarge.
Toksin	Kjemiske forbindelser produsert av mikroorganismer, som er giftig for mennesker og dyr.
Fagocytose	Fagocyterende celler omslutter og bryter ned fremmedlegemer til mindre ufarlige bestanddeler.
Gramfarging	Metode som farger bakterieceller rød (gram-negativ) eller blå (gram-positiv), avhengig av celleveggstruktur.
Hemolyse	Blanke områder som oppstår rundt bakteriekolonier som produserer enzymet hemolysin.
Hudlesjon	En del av huden med unormalt utseende eller vekst sammenlignet med huden i samme område, for eksempel et skrubbsår.
Kimtall	Totalt antall mikroorganismer i en prøve fra et definert område. Kimtallet registreres etter oppdyrking på et næringsmedie.

Koagulase	Enzym produsert av <i>Staphylococcus aureus</i> , som fører til agglutinasjon. Det finnes to typer; bundet koagulase og fri koagulase, som påvises av slide- og tube-koagulasetest.
Kromogene næringsmedier	Inneholder et substrat med affinitet til spesifikke enzymer produsert av bakterier, som resulterer i en spesifikk fargeendring hos kolonier av interesse.
Selektive næringsmedier	Inneholder kjemiske komponenter som selekterer vekst av enkelte bakterier.
Spa-typing	Kartlegging av spesifikke gener som ofte utsettes for spontane mutasjoner, og som benyttes ved bestemmelse av mikroorganismers slektskap.
Subkultivering	Overføring av en isolert koloni til en ny agarplate, for å danne en renkultur eller forlenge overlevelsen til mikroorganismen.
$\beta$ -laktamantibiotika	Antibiotika som inneholder en $\beta$ -laktamring (kjemisk struktur), derav meticillin og penicillin.



# 1 Innledning

Kunstgress er et alternativ til naturgress og benyttes ofte i sammenheng med idrett, særlig fotball. Både på verdensbasis og i Norge har det skjedd en kraftig økning i antall kunstgressbaner de siste tiårene. Ifølge Norges Fotballforbund (NFF) er det omtrent 1900 kunstgressbaner i Norge (1. januar 2020) [1]. Kunstgress har blitt utviklet gjennom fire generasjoner, hvor de to siste generasjonene er tredje generasjons (3G) og fjerde generasjons (4G) kunstgress [2]. 3G kunstgress er det mest populære kunstgresset i Norge og på verdensbasis, og inneholder et fyllmateriale av styren-butadien gummigranulat (SBR-granulat) og sand [3]. 4G kunstgress er et nyere alternativ som ikke inneholder syntetiske fyllmaterialer [2]. Ettersom SBR-granulat bidrar til utslipp av mikroplast i naturen er alternative fyllmaterialer bestående av organiske materialer, av interesse [4, 5]. I forbindelse med idrett og aktivitet på kunstgress overføres det organiske komponenter som svette, snørr, blod, hudceller og hår fra brukerne til kunstgresset [6]. Slike komponenter kan gi grunnlag for dannelse av biofilm, en kompleks klynge av ulike mikroorganismer [7]. SBR-granulat inneholder et bredt spekter av giftige kjemiske komponenter, blant annet sink og svovel, som betegnes som inhiberende for mikrobiell vekst [8]. Organiske fyllmaterialer inneholder ikke slike giftige forbindelser [5], og det er derfor hensiktsmessig å undersøke om slike typer fyllmaterialer kan gi grobunn for mikroorganismer. Faktorer som temperatur, luftfuktighet, CO<sub>2</sub>-konsentrasjon, ultrafiolett (UV-stråling) og dyprens [9-11], kan påvirke mikrobiell vekst. I USA har det blitt registrert utbrudd av *Staphylococcus aureus* blant fotballspillere [12]. Det er derfor aktuelt å undersøke helserisikoen bakterien utgjør for norske kunstgressbrukere, samt å studere forekomsten av *Staphylococcus aureus* på kunstgress i Norge. Med bakgrunn i dette har følgende problemstilling blitt utarbeidet:

**Er det grunn til å tro at det forekommer *Staphylococcus aureus* på norske kunstgressbaner?**

For å svare på problemstillingen har det blitt utarbeidet flere underpunkter;

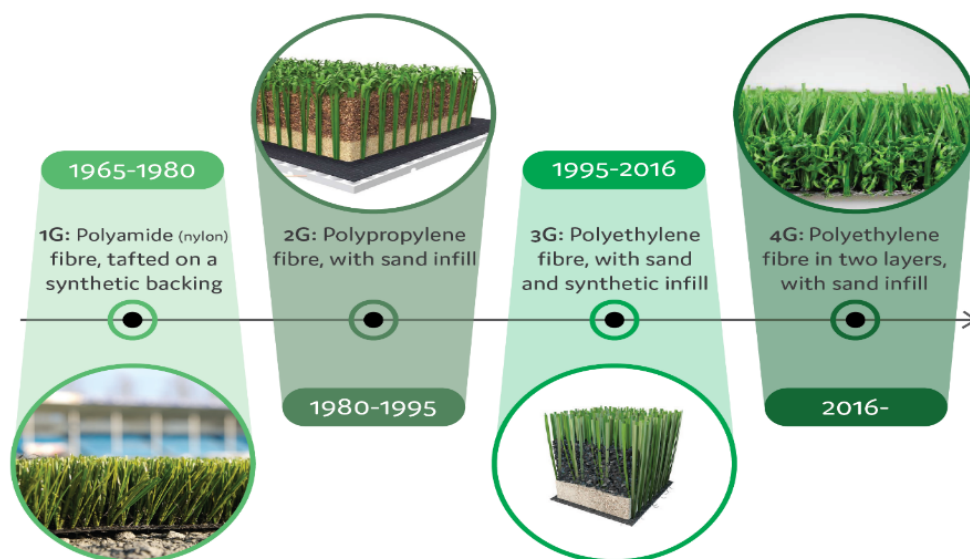
- 1. Hvilke faktorer påvirker forekomsten av *Staphylococcus aureus*, på innen- og utendørs kunstgressbaner?**
- 2. Gir organisk fyllmateriale bedre vekstforhold sammenlignet med SBR-granulat?**
- 3. Utgjør *Staphylococcus aureus* en helserisiko for brukerne av norske kunstgressbaner?**

## 2 Teori

Teorien gir en oversikt over generell oppbygning og bruk av kunstgress innen idrett, og belyser i tillegg miljø- og mikrobiologiaspektet. Det gis også en beskrivelse av egenskaper og karakteristikk til *Staphylococcus aureus*, en bakterie som kan forårsake hudinfeksjoner. Siste del av teorien forklarer bakgrunnen for flere påvisningstester som kan benyttes for screening av *Staphylococcus aureus*.

### 2.1 Generell oppbygning og bruk av kunstgress innen idrett

På 1960-tallet ble den første kunstgressbanen tatt i bruk på verdensbasis, og siden da har antall kunstgressbaner økt [13]. Samtidig har det skjedd en utvikling av kunstgressets oppbygning og spillegenskaper gjennom fire generasjoner, illustrert i figur 1 [2]. Det første kunstgresset som entret markedet var første generasjons kunstgress (1G), som bestod av korte gressfibre uten fyllmateriale [14]. På 1980-tallet ble det utviklet andre generasjons kunstgress (2G) som hadde lengre gressfibre, i tillegg til et fyllmateriale av kvartssand [5]. I de senere årene har tredje generasjons kunstgress (3G) blitt utviklet. Denne typen er bygget opp av kunstgressfibre, sand og gummigranulat, og er det mest populære kunstgresset innen idrett da det har lignende spillegenskaper som naturgress [3]. Fjerde generasjons kunstgress (4G) er et nyere alternativ som ikke inneholder fyllmateriale av kunstige materialer som gummi, plast eller plastbelagte sandkorn, men i stedet alternative fyllmaterialer som organiske materialer [2]. Generell oppbygning av 3G og 4G kunstgress er ellers lik [15].

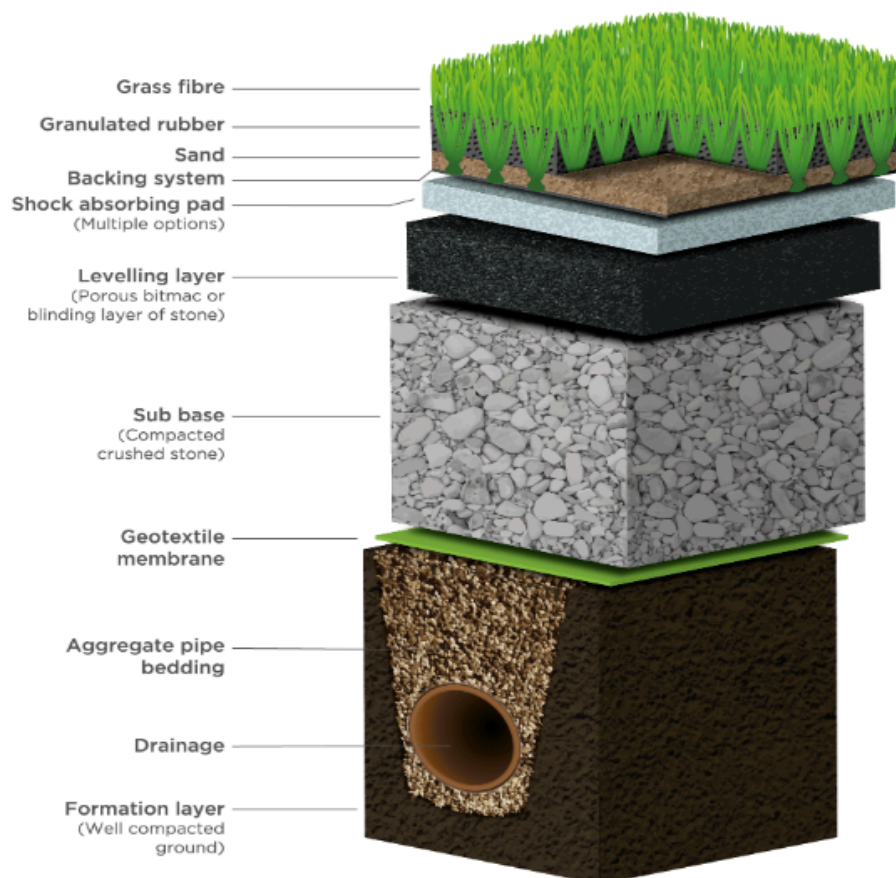


Figur 1: Oversikt over utviklingen av kunstgress gjennom fire generasjoner. Siden første generasjons kunstgress ble introdusert i 1965, har kunstgressfibre, fyllmateriale og støtdempende underlag blitt forbedret. I 2016 ble fjerde generasjons kunstgress introdusert som et alternativ uten kunstig fyllmateriale. [2]

### 2.1.1 Generell oppbygning av 3G og 4G kunstgress

Kunstgresset kan deles inn i to hovedelementer; et kunstgresssteppe og et dreneringslag. Kunstgresssteppet inneholder kunstgressfibre og et fyllmateriale bestående av sand nederst og granulat øverst, som vist i figur 2 [16]. Gressfibrene er ofte laget av polyetylen [3], og er sydd fast til en matte. Fyllmaterialet er plassert mellom fibrene for å holde fibrene oppreist, samt gi demping og grep [5].

Dreneringslaget fører vekk overflate- og eventuelt grunnvann, og hindrer nedbør å legge seg i dammer på kunstgressoverflaten. Komponentene i dreneringslaget er råjord, grus, dreneringsrør og et avrettingslag, eventuelt et støtdempende underlag (shockpads) som vist i figur 2 [16]. Bruk av støtdempende underlag avhenger av kunstgressfibreens 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 [2]. Så lenge kunstgressbanen oppfyller funksjonskravene til NFF og Kulturdepartementet (KUD), er et støtdempende underlag ikke nødvendig [3].



Figur 2: Tverrsnitt av en generell 3G/4G kunstgressbane, hvor de ulike komponentene i kunstgress er illustrert [15].

Det finnes ulike typer granulat som benyttes som fyllmateriale i kunstgressbaner, derav SBR, ethylene propylene diene monomer (EPDM), industrigummi, termoplastiske elastomerer (TPE) og organiske materialer [5]. Kapitlene 2.1.2 og 2.1.3 fokuserer på SBR-granulat som har vært mest benyttet i 3G kunstgress, samt organiske materialer som i større grad benyttes i 4G kunstgress.

### 2.1.2 SBR-granulat som fyllmateriale på kunstgressbaner

SBR-granulat er det fyllmaterialet som blir mest benyttet både i Norge og på verdensbasis, og så mye som 90% av kunstgressbaner i Norge inneholder denne typen fyllmateriale [5]. SBR-granulat er laget av oppmalte bildekk og størrelsen varierer mellom 0,8 mm og 3,0 mm [3]. Produktet gir gode spillegenskaper innen fotball, og har lave kostnader sammenlignet med andre typer granulat som EPDM, TPE og organiske materialer [3]. Kostnadene for SBR-granulat er rundt 1900-2500 kr/tonn, ifølge leverandørene Nordisk Kunstgræs og ProTurf AS [5]. Produktets negative sider er spredning av mikroplast og utslipp av giftige kjemiske forbindelser [3, 4]. Ifølge Miljødirektoratet er gummigranulat fra kunstgressbaner den nest største kilden til spredning av mikroplast i norsk natur, og mye tyder på at det hvert år forsvinner totalt over 1,5 tonn gummigranulat fra norske kunstgressbaner [4]. Årsaker er blant annet vinterdrift og rengjøring av banene, samt at granulatet fester seg til hud, klær og sko, og dermed fraktes ut av kunstgressbanene [3].

SBR-granulat betegnes som et blandingsprodukt. Det inneholder ulike kjemiske komponenter som sink, svovel, bly, kobber, svart karbon, polysykliske aromatiske hydrokarboner (PAH), flyktige organiske forbindelser (VOC) og halvflyktige organiske forbindelser (SVOC) [8, 17]. Flere av komponentene er kreftfremkallende, men helserisikoen de utgjør for brukerne er sannsynligvis liten [18]. Bruk av SBR-granulat forårsaker støvpartikler som har negativ innvirkning på luftkvaliteten, særlig i kunstgresshaller. En studie gjennomført av Norsk institutt for luftforskning (NILU) belyser problemet [19]. Her ble det foretatt en luftkvalitetsanalyse i kunstgresshaller med fyllmateriale av SBR-granulat. Svevestøvet i hallene hadde en sammensetning av kjemiske forbindelser som PAH, ftalater, SVOC, benzotiazoler og aromatiske aminer. Manglende lufting av hallene kunne i tillegg føre til en svært høy konsentrasjon av VOC. Slike komponenter relateres til negative helseeffekter [19]. Høy eksponering av enkelte VOC kan forårsake organsvikt, og eksponering av PAH over en lengre periode kan utgjøre en risiko for kreft. Metaller kan forårsake irritasjon av øyne, nese, hud og svelg, samt påvirke nervesystemet og organer. Effekten slike kjemiske forbindelser har på mennesker avhenger av eksponeringens frekvens, varighet og grad, samt kjemikalets toksisitet og mengden som absorberes i kroppen [8]. I tillegg kan kjemiske komponenter i SBR-granulat være miljøskadelige, da høye

konsentrasjoner kan være giftig for organismer i jord og vann [17]. Det kan lekke metaller fra SBR-granulat til omgivelsene, særlig når granulatet kommer i kontakt med vann. Både vann som renner av banen, dreneringsvann og grunnen under kunstgressbanen har derfor en risiko for forurensing [17].

### 2.1.3 Granulat laget av organiske materialer

I motsetning til SBR-granulat, inneholder ikke organiske fyllmaterialer giftige forbindelser [5]. Det finnes et begrenset utvalg av organiske fyllmaterialer til kunstgressbaner, og mest utbredt er kork, eller en blanding av kork og kokosfiber. Erfaringer ved bruk av kork er en generelt god spillopplevelse [20], men at produktet fester seg til klær når banen er våt [17]. I tillegg kan det smuldre opp og renne av banen, og forårsake et stort etterfyllingsarbeid. Kork og kokosfiber støver, og er derfor ugunstig å benytte som fyllmateriale i kunstgresshaller hvor dekket alltid er tørt [21]. Slike fyllmaterialer er hydrofile, som betyr at de trekker til seg fuktighet og fryser ved minusgrader [21]. På varme dager kan kunstgressbaner vannes, og et hydrofilt fyllmateriale vil bidra til en lavere temperatur ettersom det holder på vannet [22]. Når organiske materialer tilføres fuktighet dannes gode vekstforhold for sopp, som utgjør en potensiell helseisiko [5]. Andre organiske fyllmaterialer er sand, nøtteskall og knuste olivenkjerner. NFF oppgir at flere fotballspillere ikke er fornøyd med sand som eneste fyllmateriale da det oppleves hardt og glatt [5]. Knuste olivenkjerner er lite utprøvd som fyllmateriale i Norge, men det har fått gode tilbakemeldinger i land som Tyskland [20]. 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 inneklimate [21].

### 2.1.4 Rengjøring av kunstgressbaner

På kunstgressbaner er det viktig å opprettholde et rent dekke for å unngå helseplager og forbedre spillopplevelsen. Det utføres regelmessig dyprens for å fjerne fremmedlegemer som snus og tyggegummi, i tillegg til biologisk materiale som hudceller, blod og hår. En dyprens forbedrer også luftkvaliteten i innendørshaller og reduserer risikoen for luftveisrelaterte helseplager [6]. Ifølge TeBe sport, en av Norges største leverandører og samarbeidspartnere innen rens og vedlikehold av kunstgressbaner, benyttes en maskin som renser kunstgressfibrene ved hjelp av en roterende børste [6]. En dyprens bør utføres minst en gang i året, avhengig av bruksfrekvens og omkringliggende miljøer som løv, barnåler og mose [3].

## 2.2 Mikroorganismer på kunstgress

Mikroorganismer er små organismer som ikke kan observeres med det blotte øyet. De finnes i naturlige og menneskeskapt habitat, og er nødvendig for jordas økosystem. Noen grupper av mikroorganismer er bakterier, virus, sopp, protozoer, alger og helminter. Mikroorganismer forekommer sjeldent alene, men lever i komplekse klynger av ulike mikroorganismer, kalt biofilm. Biofilmdannelse er avhengig av et fuktig, tynt lag av organisk materiale. Dette laget tiltrekker mikroorganismer, som formerer seg og danner et større samfunn som skiller ut slim (matriks) [7]. Kunstgressbaner er en arena for idrett og aktivitet, og i den forbindelse overføres det organiske komponenter som svette, snørr, hudceller, blod og hår fra brukerne til kunstgresset [6]. Slike faktorer kan føre til biofilmdannelse [7].

### 2.2.1 Hudlesjoner – en smittevei for mikroorganismer

Hudlesjoner defineres som sår, skader eller andre patologiske endringer i huden [7], og blir ofte betegnet som en av de største helsemessige ulempene ved kunstgress [23]. Slike skader har en hyppigere forekomst ved aktivitet på kunstgress sammenlignet med naturgress. Kunstgressfibrene er skarpere, og ved interaksjoner mellom kunstgressflate og hud kan det dannes rifter og sår på huden [24], ofte brannsåre som følge av sklitaklinger [23]. Åpne sår kan være en smittevei for patogene mikroorganismer. Ulike typer kunstgressfibre skader hudoverflater i varierende grad. Gressfibrene i 1G kunstgress var av polyamid, et hardt og skarpt materiale som ofte forårsaket hudlesjoner [24]. Gressfibrene i 2G og 3G kunstgress ble derfor utformet med den hensikt å være snillere mot huden og redusere hudlesjoner. Til tross for både forbedringer av kunstgressfibrene og reduksjon av sårdannelse, eksisterer problemet fortsatt [23].

### 2.2.2 Biofilmdannelse og smitterisiko ved patogene mikroorganismer

Mikroorganismer kan danne biofilm på de fleste overflater. En studie gjennomført av Nofima Mat viser at bakterier lever i et tett samspill hvor de kan utnytte hverandres egenskaper [25]. Mikroorganismer med svak evne til å danne biofilm kan dra nytte av andre sin biofilmdannelse og dermed være kapabel til å etablere seg på overflaten [25]. Biofilm kan beskytte cellene mot ytre stress som desinfeksjonsmidler og uttørking, og harmløse bakterier kan dermed bidra til beskyttelse av patogene bakterier [26]. En studie viser at bakteriers overlevelse på kunstgress ikke er avhengig av biofilmdannelse, men av tilgang på næringsstoffer [27]. *Staphylococcus aureus* ble i studien benyttet som testbakterie, og fyllmaterialet var av sand og gummigranulat. En svakhet ved studien er at den ble gjennomført på et laboratorium, og bakteriene ble derfor ikke utsatt for faktorer som vanligvis påvirker mikrobiell vekst på kunstgressbaner, som UV-stråling og høyere temperaturer [27].

Mikroorganismer som naturlig finnes på kroppen utgjør menneskets normalflora, som gjennomsnittlig består av  $10^{14}$  mikroorganismer. De er viktig for kroppens immunforsvar, men havner de på feil sted kan de opptre som patogene mikroorganismer [7]. En slik bakterie er *Staphylococcus aureus*, som kan deles inn i to hovedgrupper; meticillin-sensitiv *Staphylococcus aureus* (MSSA) og meticillin-resistent *Staphylococcus aureus* (MRSA) [28]. En infeksjon forårsaket av *Staphylococcus aureus* gir normalt sett ikke alvorlige konsekvenser, men er infeksjonen forårsaket av den meticillinresistente varianten kan behandling med antibiotika bli krevende [29]. MRSA smitter hovedsakelig ved kontakt med andre bærere, men kan også smitte via kontaminerte overflater. En studie utført i USA viser funn av MRSA på blant annet garderobeskap og håndklær på idrettsarenaer, men ikke i like stor grad på kunstgressflaten [29]. Til tross for studiens resultater, betegnes kunstgress som en potensiell grobunn for bakterien [29]. Det er forsket lite på om hudlesjoner forårsaket av kunstgress blir direkte infisert av mikroorganismer på kunstgresset. Det er derimot sikrere kilder på at åpne sår er en infeksjonsvei for patogene mikroorganismer [27].

### 2.3 Faktorer som kan inhibere mikrobiell vekst på kunstgress

Naturgress har et mikrobiologisk samfunn som hovedsakelig består av mikroorganismer med et naturlig habitat i jord. Mikroorganismer på kunstgress stammer fra eksterne kilder, blant annet mennesker, dyr og omkringliggende kilder som løv og barnåler [9].

Flere abiotiske faktorer, både kjemiske og fysiske, kan redusere antall mikroorganismer på kunstgress. Fysiske faktorer er temperatur, UV-stråling og luftfuktighet, mens kjemiske faktorer er detergenter fra rengjøringsmidler, samt VOC, PAH og svevestøv forårsaket av blant annet fyllmaterialer [9]. En studie viser at *Staphylococcus aureus* har bedre evne til å overleve på kunstgressfibrene, i forhold til på selve gummigranulatet [10]. SBR-granulat inneholder et bredt spekter av ulike kjemiske forbindelser, derav sink og svovel som kan inhibere mikrobiell vekst [8]. I tillegg er det vist at fyllmaterialer bestående av en blanding av sand og SBR-granulat, inneholder omtrent 50 000 ganger flere bakterier enn fyllmaterialer bestående av kun gummigranulat [13]. Det antas at også andre materialer favoriserer og selekterer vekst av ulike mikroorganismer på kunstgress, særlig ved mangelfull rengjøring [9]. Porøse materialer har en struktur som mikroorganismer og sekreter kan trenge inn i. Den porøse strukturen kan beskytte cellene mot blant annet dehydrering og UV-stråling. Andre materialer som ikke er like porøse virker mindre beskyttende. Det er blitt dokumentert at antall levende kolonier reduseres raskere på glatte overflater, sammenlignet med mer porøse [11]. I en studie gjennomført på et laboratorium ved romtemperatur (22,9-24,5°C) og luftfuktighet mellom 30-49%, ble det vist at ulike

isolater av MRSA kan overleve i 40-51 dager på polyetylen. Polyetylen er et fibermateriale de fleste 3G og 4G kunstgressbaner benytter. MSSA kan overleve på det samme materialet i 22-90 dager ved samme betingelser [30]. Selv på en innendørs kunstgressbane uten kontrollerte forhold, vil *Staphylococcus aureus* overleve flere dager til tross for en betraktelig reduksjon av antall kolonier over tid [10]. *Staphylococcus aureus* kan eksistere i innendørs luft, men målinger fra en undersøkelse viste svært lav konsentrasjon av MSSA, og en konsentrasjonen av MRSA som var under deteksjonsgrensen [31]. Forekomsten av *Staphylococcus aureus* var avhengig av utskiftning av luft, luftfuktighet og sesong, der konsentrasjonen var høyest på sommeren og høsten [31].

Kunstgress betegnes som et dårlig underlag for mikrobiell vekst ettersom det er tørt og ofte utsettes for store temperatursvingninger [8]. Ved eksponering av sollys kan kunstgressbaner oppnå høye temperaturer, og det har blitt registrert opp mot 93°C på utendørs kunstgressbaner. På vinterhalvåret kan enkelte baner bli utsatt for minusgrader [22]. Slike temperaturer kan for mange mikroorganismer være for høye eller lave i forhold til deres optimale veksttemperatur. Til tross for varierende uteforhold, holder temperatur og luftfuktighet stabile verdier på innendørs kunstgressbaner. En studie viser at ved en stabil innetemperatur lik 5°C, er luftfuktigheten høyere innendørs sammenlignet med utendørs [32]. Årsaker kan være vanning av kunstgressbanen, lekkasjer eller lavt luftskifte. Lavt luftskifte og tilstedeværelse av forurensende kilder som svevestøv fra granulat, forbindes med høye CO<sub>2</sub>-konsentrasjoner. Samme studie viser at CO<sub>2</sub>-konsentrasjon på innendørs kunstgressbaner varierer med aktivitetsnivå, og målinger tatt over flere døgn varierte mellom 511ppm og 1299 ppm [32]. Utendørs varierte CO<sub>2</sub>-konsentrasjonen mellom 400-450 ppm [32]. UV-stråling kan også utgjøre en inhiberende faktor for mikrobiell vekst på kunstgress, hovedsakelig utendørs. En studie utført ved Pennsylvania State University, konkluderer med at UV-stråling og høye temperaturer er svært desinfiserende på utendørs kunstgressbaner [10]. Likevel kan biofilm beskytte enkelte bakteriearter mot UV-stråling [33].

Kunstgressbaner i Norge eksponeres for ulike værforhold avhengig av geografisk plassering. Norges kystlinje har et maritimt klima karakterisert ved mindre daglige og årlige temperaturskjeller, mer nedbør og høyere luftfuktighet, sammenlignet med innlandsområder preget av et kontinentalklima [34]. Sør-Norge kan i perioder utsettes for sur nedbør som inneholder forsurende forbindelser som svovel og nitrogen, og som fører til forsuring av vann og jordsmonn [35]. Temperatursvingninger, luftfuktighet, sollys og sur nedbør er faktorer som varierer ut fra geografisk plassering, og kan påvirke mikrobiell vekst [34].



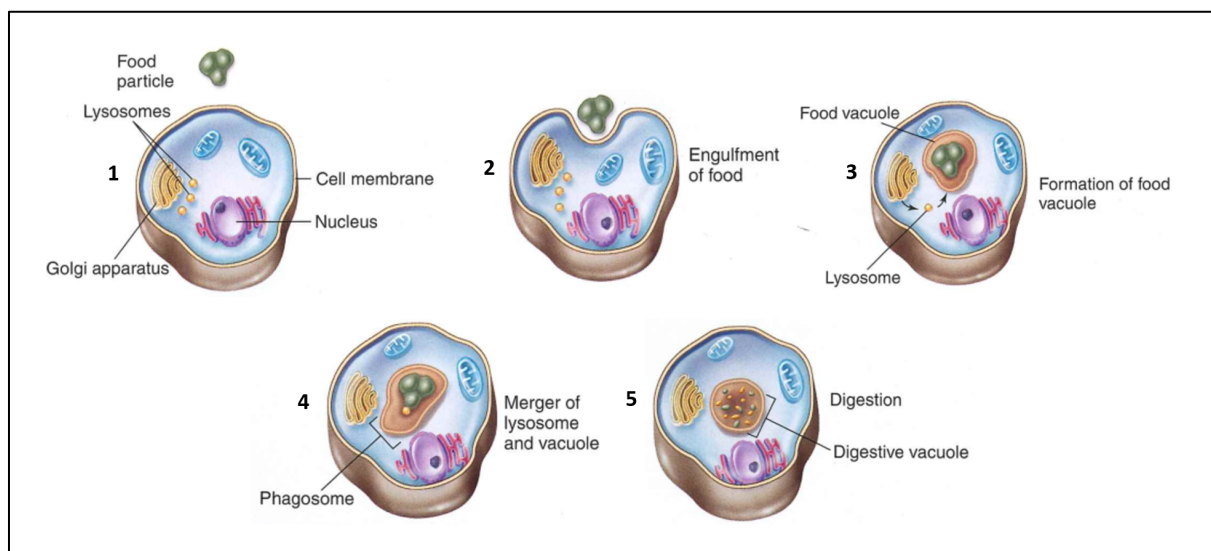
## 2.4 *Staphylococcus aureus* – egenskaper, sykdomsbilde og behandling

Stafylokokker er en slekt bestående av gram-positive og katalase-positive bakterier. De er immobile, danner ikke sporer og vokser ofte i druelignende klaser slik figur 3 viser [36]. En art innenfor stafylokokk-slekten er *Staphylococcus aureus*, også kalt gule stafylokokker. Bakterien er koagulase-positiv, oksidase-negativ og kan danne gule kolonier på blodagar. *Staphylococcus aureus* har blitt isolert fra menneske, storfe, sau, geit, gris, hest, hund, katt og fjærfe. På blodagar tilsatt sau- eller okseblod, kan det observeres hemolyse rundt kolonier av *Staphylococcus aureus* [36, 37]. Hemolyse er blanke områder som oppstår rundt bakteriekolonier som produserer toksinet hemolysin. *Staphylococcus aureus* har optimumstemperatur lik 37°C, men har også evne til formering ved temperaturer mellom 10 og 46°C [38]. Bakterien er fakultativ anaerob, som betyr at den kan vokse både med og uten tilgang på oksygen [39], men tilstedeværelse av O<sub>2</sub> eller CO<sub>2</sub> vil øke veksthastigheten. *Staphylococcus aureus* kan overleve høye konsentrasjoner av salt (7,5-10,0%) [38], pH mellom 4,0-10,0 [40] og høye temperaturer over kortere tid (opptil 60°C i 60 minutter). Bakterien har også evne til å overleve i tørt miljø over lengre tid [38], men foretrekker en høyere luftfuktighet. En studie undersøkte overlevelsen til *Staphylococcus aureus* på flere overflater, og konkluderte med at overlevelsen i de fleste tilfeller var høyest ved en relativ luftfuktighet på 65% [11]. Ekstremt høye eller lave verdier for luftfuktighet hadde en negativ effekt på forekomsten av bakterien. Det ble likevel konkludert med at overflatetyper var den mest avgjørende faktoren for overlevelsen til *Staphylococcus aureus* [11].



Figur 3: *Staphylococcus aureus* kalles en kokk fordi den har en rund form. Bakterien vokser ofte i klaser [41].

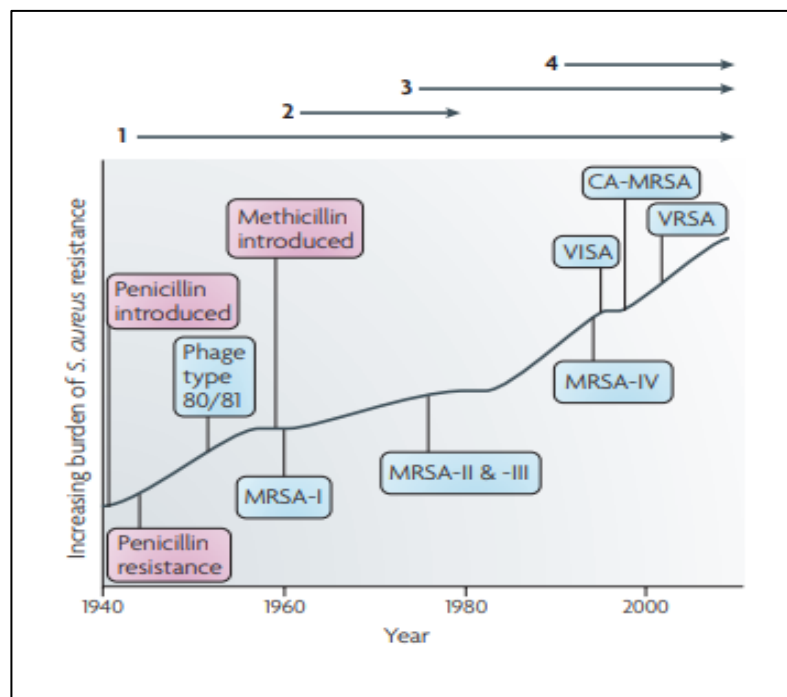
*Staphylococcus aureus* finnes på hud og i slimhinner hos mennesker [7], og det har blitt vist at mucin, hovedbestanddelen i spytt og slim, er en næringskilde for bakterien [27]. Som regel vil den leve fredelig uten å skape sykdom, verten er da bærer av *Staphylococcus aureus* [42]. 20-40 % av befolkningen er langvarige bærere [43]. Bærere utgjør en smitterisiko [42], men smitten kan forebygges ved god håndhygiene [44]. Enkelte personer er særlig utsatt for infeksjoner forårsaket av *Staphylococcus aureus*, derav personer med dårlig hygiene og kosthold, hudlesjoner, underliggende sykdom, pågående infeksjoner, diabetes mellitus eller nedsatt immunforsvar. Infeksjoner er ofte lokale på hud og i slimhinner, og vanligvis dannes en betent lesjon omsluttet av en kjerne av puss, kalt abscess. Lokale infeksjoner kan føre til systemiske infeksjoner dersom bakterien spres til resten av kroppen via blodbanen. Systemiske infeksjoner kan være svært alvorlige, som betennelse i benvev (osteomyelitt) og en lungebetennelse med dødelighetsrate på 50%. *Staphylococcus aureus* produserer toksiner assosiert med en rekke alvorlige sykdommer, herunder matforgiftning, staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS) og toksisk sjokksyndrom (TSS) [38]. Mennesket har opparbeidet seg et godt forsvar mot infeksjoner forårsaket av *Staphylococcus aureus*, som fagocytose illustrert i figur 4. I tillegg hindrer abscesser spredning av bakterien. Dersom kroppen ikke bekjemper infeksjonen er det nødvendig med en antibiotikabehandling. Økt bruk av antibiotika har forårsaket antibiotikaresistens blant stammer av *Staphylococcus aureus*, kalt meticillin-resistent *Staphylococcus aureus* (MRSA) [38].



Figur 4: Fagocyterende celler som nøytrofile granulocytter og makrofager omslutter et fremmedlegeme, og bryter det ned til mindre ufarlige bestanddeler [38].

## 2.5 Antibiotikaresistens hos *Staphylococcus aureus* – sykdomsbilde og forekomst

Etter at penicillin ble introdusert på 1940-tallet ble det oppdaget resistente stammer av *Staphylococcus aureus*, kalt fagtype 80/81 [45]. Et nytt  $\beta$ -laktamantibiotika, meticillin, kom på markedet i 1958, og kort tid etter ble det påvist *Staphylococcus aureus* som hadde utviklet meticillin-resistens. Bakterien fikk navnet MRSA, og er i dag lokalisert over hele verden [28]. Introduksjon av nye typer antibiotika har ført til utviklingen av stammer som MRSA-I, -II, -III, -IV, «vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*» (VISA), «community-associated MRSA» (CA-MRSA) og vancomycin-resistent *Staphylococcus aureus* (VRSA), som alle har varierende grad av resistens. Denne sammenhengen er illustrert i figur 5, som også viser de fire epidemiske bølgene av antibiotikaresistent *Staphylococcus aureus*. Den første epidemiske bølgen pågår enda [45], da resistens mot penicillin er vanlig hos de fleste kliniske stammene av *Staphylococcus aureus* [28]. MRSA-I ble raskt eliminert fra helseinstitusjoner, og den andre epidemiske bølgen ble derfor kortvarig. Siden slutten av 1970-tallet har det pågått en pandemi av MRSA-II og -III blant verdens helseinstitusjoner, noe som markerer den tredje epidemiske bølgen. Fram til 1990-årene var MRSA-infeksjoner hovedsakelig knyttet til helseinstitusjoner, men den fjerde bølgen representerer fremveksten av MRSA, derav MRSA-IV, VISA, CA-MRSA og VRSA, i miljøer utenfor slike institusjoner [45].



Figur 5: Etter at penicillin ble introdusert 1940-tallet har det kommet en rekke nye typer antibiotika på markedet. Dette har ført til en økende resistens blant stammer av *Staphylococcus aureus*, slik kurven viser. Den sist detekterte stammen (2009) kalles VRSA og er resistent mot vancomycin. Resistens blant *Staphylococcus aureus* har ført til fire epidemiske bølger, tre av dem fortsatt aktive (2009). De fire epidemiske bølgene er illustrert ved hjelp av piler øverst på bildet [45].

### 2.5.1 Hvordan har *Staphylococcus aureus* oppnådd antibiotikaresistens?

Penicillin-resistens hos *Staphylococcus aureus* skyldes et gen som koder for enzymet penicillinase. Penicillinase ødelegger den kjemiske strukturen og inaktiverer penicillin [28]. Vanligvis vil  $\beta$ -laktamantibiotika som meticillin og penicillin, bindes til *Staphylococcus aureus* og hindre celleveggsyntese [28]. Bindingen skjer ved hjelp av enzymet penicillin-binding protein (PBP), lokalisert i celleveggen til bakterien. Resistens mot meticillin skyldes enzymet penicillin-binding protein 2a (PBP-2a), kodet for av genet *mecA* [45]. PBP-2a er en versjon av PBP som har lav affinitet til antibiotika som meticillin. Enzymet gjør det mulig for *Staphylococcus aureus* å overleve ved tilstedeværelse av meticillin [28]. *Staphylococcus aureus* med resistens mot meticillin og oxacillin vil ofte være resistent mot alle  $\beta$ -laktamantibiotika, ettersom ingen av disse effektivt bindes til PBP-2a [46].

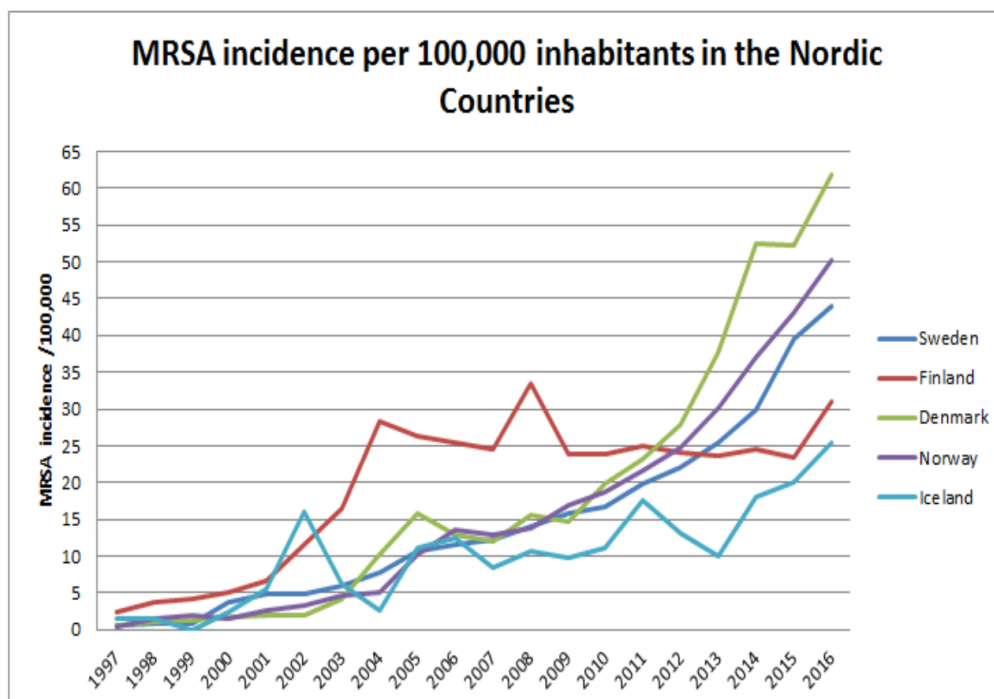
### 2.5.2 Forekomst og smitte av MRSA

Når det gjelder evne til å gi sykdom er det ingen store ulikheter mellom MRSA og meticillin-sensitiv *Staphylococcus aureus* (MSSA). Resistensen gjør det derimot nødvendig å benytte andre typer antibiotika ved behandling [28]. MRSA forekommer ofte på helseinstitusjoner, hvor bakterien er utsatt for flere typer antibiotika og derfor har stor sannsynlighet for å utvikle resistens [38]. Slike stammer kalles «healthcare-associated MRSA» (HA-MRSA). Siden 1990-tallet har det blitt observert en økende forekomst av MRSA uten relasjon til helseinstitusjoner, kalt CA-MRSA. Infeksjoner forårsaket av CA-MRSA er ofte mer alvorlig og dødelig enn infeksjoner forårsaket av MSSA og HA-MRSA [45]. Ifølge folkehelseinstituttet har det utenfor Norge blitt dokumentert større utbrudd av MRSA blant friske mennesker med mye fysisk kontakt, blant annet i idrettsmiljøer, skoler og barnehager [44]. I 2003 ble et utbrudd blant amerikanske fotballspillere fulgt opp av The Connecticut Department of Public Health [12]. MRSA ble trolig overført mellom spillerne ved nærkontakt under trening og øvelser, men boblebadet ble påpekt som en mulig smittekilde. Anbefalte retningslinjer for rengjøring av boblebadet ble ikke fulgt, og det ble istedenfor benyttet alternative rengjøringsmetoder. Under utbruddet oppsto det infeksjoner i brannsårl og mikrosårl fra barbering, og det ble i flere av infeksjonene påvist MRSA. I etterkant av utbruddet ble det innført rutiner for sårstell og desinfisering av boblebadene, samt påbud om tildekking av sårl ved spill. Håndklær ble tidligere vasket ved 44°C, men ble etter nye hygienetiltak vasket ved 71°C eller høyere temperaturer. Installasjon av såpedispensere i dusjanlegget var av betydning for utbruddets slutt, og da såpedispenserne ble tomme returnerte infeksjonsproblemene [12]. I Norge har det blitt varslet om mindre utbrudd av MRSA blant stoffmisbrukere og i idrettsmiljø, men det har ikke blitt påvist videre spredning til andre miljøer [44]. MRSA kan smitte fra dyr til menneske, hvor den viktigste smitteveien antas å være kontaktsmitte. «Livestock-associated MRSA»

(LA-MRSA) er stammer som smitter mellom produksjonsdyr, og dermed kan overføres til mennesker i kontakt med slike dyr. Det har vært få tilfeller av LA-MRSA blant husdyr i Norge [44].

### 2.5.3 Årsaker til økende forekomst av MRSA

*Staphylococcus aureus* oppnår ofte resistens ved horisontal genoverføring [45]. Horisontal genoverføring er genoverføring mellom organismer i en populasjon, blant annet i en biofilm, mens vertikal genoverføring er genoverføring fra organisme til avkom [7]. Økt resistens kan også oppnås ved mutasjon og seleksjon av antibiotikaresistente bakterier [45]. Risikoen for å teste MRSA-positiv er forhøyet blant pasienter som gjennomgår antibiotikabehandling [44]. Selektiv bruk av antibiotika var en av årsakene til et MRSA-utbrudd i Alaska [47]. For å bedre situasjonen ble helsearbeidere informert om MRSA. I tillegg ble det utarbeidet retningslinjer for behandling av hudinfeksjoner, blant annet reservering av antibiotika [47]. I Norge er bruk av antibiotika svært regulert, og blant land som overvåker MRSA har Norge og Island den laveste forekomsten [44]. Likevel øker antall tilfeller i Norge som et resultat av økt reisevirksomhet, særlig blant helsearbeidere og pasienter i kontakt med utenlandske sykehus [44]. I Norge har antall innsendte MRSA isolater økt fram til 2016, men har de senere årene stabilisert seg [28]. Utviklingen av antall MRSA-tilfeller i Norden frem til 2016, er presentert i figur 6.



Figur 6: Grafene viser en økning i antall tilfeller av MRSA i Norden fra 1997 til 2016. I 2016 hadde Danmark flest tilfeller av MRSA per 100 000 innbyggere, etterfulgt av Norge, Sverige, Finland og Island [48].

#### 2.5.4 Påvisning av MRSA

For å påvise MRSA kan det benyttes kromogene medier som selekterer vekst av MRSA, eksempelvis CHROMagar MRSA. MRSA kan også påvises ved deteksjon av markørgener som *mecA* og *luk-PV* [49]. *Luk-PV* koder for toksinet Panton Valentine Leucocidin (PVL), som er karakteristisk for patogene stammer av MRSA [50]. Toksinet resulterer i celledød blant hudceller og lysing av fagocytterende celler [51]. Slektskapet mellom MRSA-stammer kan kartlegges ved *spa*-typing [52], og benyttes i nasjonal overvåking og ved sporing av MRSA-utbrudd [28]. *Spa*-typing detekterer gener kalt Staphylococcal protein A (*spa*) som koder for protein A. Genene er lokalisert i *x*-regionen på *spa*, et område hvor det ofte oppstår spontane mutasjoner. Detekterte gener fra *spa*-typing sammenlignes med gener fra identifiserte MRSA-stammer i en større database [52].

## 2.6 Næringsmedier

For å dyrke mikroorganismer på et laboratorium, blir det benyttet næringsmedier som inneholder nødvendige næringsstoffer for mikrobiell vekst. Ettersom ulike mikroorganismer krever ulike næringsstoffer finnes det flere typer medier [7]. I kapittel 2.6.1-2.6.4 er ulike generelle-, selektive-, differensielle- og kromogene medier beskrevet.

### 2.6.1 Karakteristiske egenskaper til trypticase soy agar (TSA)

Trypticase soy agar (TSA) er et generelt medie som fremmer vekst av de fleste mikroorganismer, både aerobe og anaerobe. Mediet er komplekst, som betyr at sammensetningen av ulike komponenter ikke kan beskrives av en kjemisk formel. Et høyt innhold av næringsstoffer fører til stor variasjon i mikrobiell vekst [7]. Mediet inneholder blant annet kaseinpepton og soyapepton, som tilfører nitrogen, vitaminer og mineraler. Naturlig sukker fra soyapepton fremmer bakterievekst. Mediet er også tilsatt natriumklorid som opprettholder det osmotiske trykket. Ved bruk av selektive medier er TSA et godt referansemedie for å bestemme grad av inhibering. TSA kan også benyttes som base for blodagar, hvor hemolyse kan studeres ettersom mediet ikke er tilsatt ekstra karbohydrater [53].

### 2.6.2 Karakteristiske egenskaper til mannitol salt agar

Mannitol salt agar er et selektivt og differensielt medie som kan benyttes til isolering av *Staphylococcus aureus*. Mediet selekterer mikrobiell vekst av halofile mikroorganismer som stafylokokker, grunnet høy saltkonsentrasjon (7,5 % NaCl). Samtidig differensierer mannitol salt agar mikrobiell vekst, da det

inneholder indikatoren fenolrød som skifter farge ved pH-endringer. Mediet inneholder også sukkeret mannitol som kan fermenteres til syre, noe som påvirker pH. Nevnte faktorer gjør det mulig å skille mellom ulike stafylokokker. En bakterie som fermenterer mannitol er *Staphylococcus aureus*, og rundt kolonier av denne bakterien får mediet en gul farge. *Staphylococcus epidermidis* og de fleste andre stafylokokkarter fermenterer ikke mannitol, og forårsaker derfor ikke en fargeendring [7]. Noen bakterier kan gi falske positive resultater ettersom de kan danne gule områder på mannitol salt agar, blant annet *Enterococcus faecalis* [54, 55].

### 2.6.3 Karakteristiske egenskaper til blodagar

Blodagar er et næringsrikt, generelt medie som består av en base, eksempelvis TSA, tilsatt 5-10% blod. Blod fra sau og okse muliggjør deteksjon av hemolyse [37]. Hemolyse forårsakes av hemolysin, et toksin som lyses røde blodceller ved å ødelegge cellemembranen slik at hemoglobinpigment frigis. Bakterier som produserer hemolysin kan derfor gjenkjennes ved blanke områder rundt bakteriekolonien. Som figur 7 illustrerer har grad av hemolyseaktivitet ulike navn;  $\alpha$ -,  $\beta$ - og  $\gamma$ -hemolyse [38].



Figur 7:  $\alpha$ -,  $\beta$ - og  $\gamma$ -hemolyse på blodagar [56].

*Staphylococcus aureus* kan produsere både  $\alpha$ - og  $\beta$ -hemolysin. Bakteriestammer produserer hemolysin i ulik grad, og det finnes flere varianter av toksinet;  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - og  $\delta$ -hemolysin. De greske bokstavene som beskriver ulike typer hemolysin korresponderer ikke med de greske bokstavene som beskriver mønsteret ved hemolyse.  $\alpha$ -hemolysin gir fullstendig hemolyse kalt  $\beta$ -hemolyse, mens  $\beta$ -hemolysin gir ufullstendig hemolyse kalt  $\alpha$ -hemolyse [37, 38].

#### 2.6.4 Karakteristiske egenskaper til CHROMagar MRSA

CHROMagar MRSA er et selektivt og kromogent medie hvor MRSA kan observeres som rosa/lilla kolonier, mens oppvekst av andre bakterier gir blå eller fargeløse kolonier [57]. Selektive og kromogene medier er hyppig anvendt for screening av MRSA. De inneholder et kromogent substrat for spesifikke enzymer produsert av bakterien, noe som gir en spesifikk fargeendring av bakteriekolonier. Kromogene medier inneholder antibiotika, som regel cefoxitin, som inhiberer vekst av MSSA [58]. Under kromagarprosjektet i 2012 ble fem kromogene medier sammenlignet ved å dyrke 200 stammer av *Staphylococcus aureus* [58]. CHROMagar MRSA ble rangert som det nest beste mediet etter Chrom ID MRSA [58].

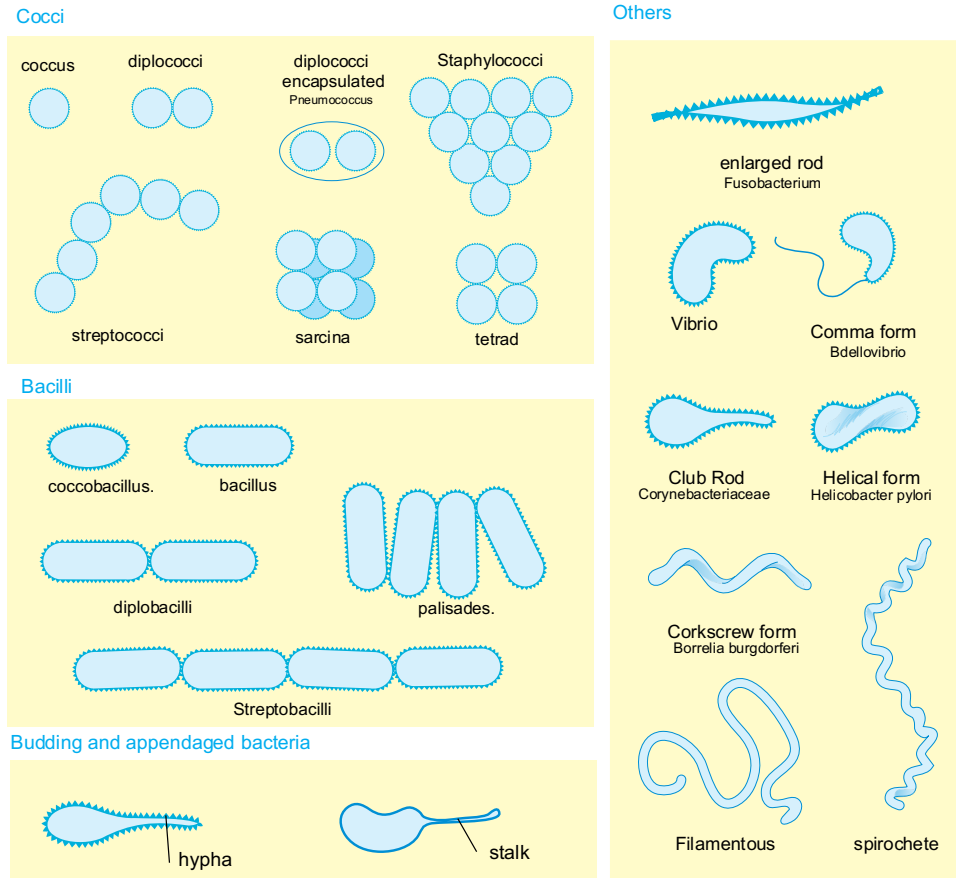
### 2.7 Metoder for påvisning av *Staphylococcus aureus*

Ved påvisning av *Staphylococcus aureus* utnyttet spesifikke egenskaper til bakterien, ofte produksjon av ulike enzymer. For et pålitelig resultat bør det utføres flere påvisningstester i kombinasjon med næringsmedier [38]. I kapittel 2.7.1-2.7.5 beskrives påvisningstester for *Staphylococcus aureus*.

#### 2.7.1 Observasjon av morfologi ved mikroskopering

Å studere morfologi ved bruk av mikroskop muliggjør en grovsortering av mikroorganismer. Mikroorganismer har ulik morfologi, derav kokker (cocci), staver (bacilli) og spiroketer (spirochete), illustrert i figur 8. De kan blant annet være ordnet i klaser, rekker eller opptre single. *Staphylococcus aureus* er en kokk som ofte er ordnet i klaser [37, 38].





Figur 8: Bakterier deles inn i grupper som kokker (cocci) og staver (bacilli) basert på morfologi. Noen av gruppene er delt i undergrupper som diplokokker (diplococci) og stafylokokker (staphylococci), som beskriver hvordan bakteriecellene vokser [59].

### 2.7.2 Fastsettelse av cellestruktur ved gramfarging

Gramfarging danner et fargekompleks i celleveggen som farger cellene rød eller blå, avhengig av celleveggstrukturen. Fargeendringen gjør det enklere å studere cellens morfologi under mikroskop.

Under gramfarging strykes cellene på et objektglass, etterfulgt av varmfiksing som dreper, tørker og fester cellene til objektglasset. Samtidig endres permeabiliteten slik at fargekomplekset trenger inn i celleveggen [60]. Fargekompleksene dannes ved at objektglasset tilsettes krystallfiolett og jod. Bakterier deles i gram-positive og gram-negative. Gram-positive bakterier har en tykkere cellevegg enn gram-negative, som resulterer i at flere jod-krystallfiolett-kompleks fanges i celleveggen og bidrar til sterkere farge. Gram-negative celler har en tynn celleveggstruktur og vil derfor bli fargeløse under vasking med destillert vann og etanol. Tilsats av safranin farger gram-negative celler rød, mens gram-positive celler forblir blå [38]. Eldre kulturer av gram-positive bakterier kan bli gram-negative eller gi et variabelt resultat, og det er derfor viktig å bruke ferske bakteriekulturer [60].

### 2.7.3 Deteksjon av koagulase

97% av stammer av *Staphylococcus aureus* isolert fra mennesker, produserer enzymet koagulase [38]. Koagulase sin funksjon ved en infeksjon er usikker, men en teori er at fibrin legger seg rundt bakteriecellen og hindrer prosesser som fagocytose. En annen teori er at enzymet fremmer binding mellom *Staphylococcus aureus* og vev [38]. Det finnes to former for koagulase; bundet og fri. Bundet koagulase er bundet til bakteriens cellevegg, mens fri koagulase frigjøres av cellen [61]. Derfor eksisterer det to tester for deteksjon av koagulase; slide-koagulasetest og tube-koagulasetest. Som tabell 1 viser er *Staphylococcus aureus* en av få stafylokokker som gir positivt utslag på både slide- og tube-koagulasetest [37].

Tabell 1: Oversikt over spesifikke egenskaper for ulike stafylokokkarter. Tegn i tabellen indikerer følgende; + (over 90% av stammene er positive), – (over 90% av stammene er negative), ± (dårlig utnyttelse), na (ikke tilgjengelig), v (varierende reaksjon) [37].

Arter	Kolonifarge	Hemolyse på blodagar, sau	Koagulaseproduksjon		Acetoinproduksjon	Maltosefermentering <sup>a</sup>
			Tube test	Slide test		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gul <sup>b</sup>	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	Hvit	+	+	-	+	±
<i>Staphylococcus intermedius</i>	Hvit	+	+	v	-	±
<i>Staphylococcus hyicus</i>	Hvit	-	v	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> , subsp. <i>anaerobius</i> <sup>c</sup>	Hvit	+	+	-	-	na
<i>Staphylococcus delphini</i>	Hvit	+	+	-	-	na
<i>Staphylococcus schleiferi</i> , subsp. <i>coagulans</i>	Hvit	+	+	-	+	na

a, 1% maltose i Purple Agar Base

b, kun stammer fra storfe og menneske

c, anaerobe

Slide-koagulasetest detekterer bundet koagulase, som omdanner fibrinogen til fibrin. Omdannelsen resulterer i agglutinasjon [36], og dersom agglutinasjon dannes innen 10 sekunder betegnes det som et positivt resultat [61]. For å utføre en slide-koagulasetest benyttes ofte egne kit, som Staphaurex (Remel) og BACTiStaph (Remel). De inneholder bæremolekyler dekket av plasma som detekterer bundet koagulase og protein A [36]. Et kit har høy spesifisitet og sensitivitet, og er nyttig ved påvisning av MRSA da bakterien kan gi et svakt positivt- eller et negativt resultat. Slike kit gir raskere resultater

sammenlignet med tube-koagulasetest som tar 24 timer. Ettersom kit kan gi falske negativer bør negative resultater likevel bekreftes ved tube-koagulasetest [36, 37].

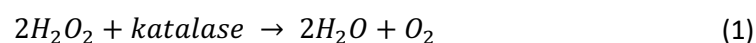
Tube-koagulasetest detekterer fri- og bundet koagulase. Testen utføres i et rør ved 37°C, og agglutinasjon anses som et positivt resultat [36, 37]. Agglutinasjonen kan løses opp over tid, som et resultat av at fribrinolysin angriper og deaktiverer fibrin. For å unngå en falske negativer bør rørene kontrolleres etter 4 timer, og ved mangel på agglutinasjon bør rørene settes i romtemperatur til neste dag. Årsaken til dette er at fribrinolysin-aktivitet er høy ved 37°C men reduseres ved lavere temperaturer [36]. Fri koagulase produseres av flere stafylokokkarter (se tabell 1), men ettersom slike arter ofte isoleres fra dyr vil et positivt resultat fra en klinisk prøve, i de fleste tilfeller skyldes tilstedeværelsen av *Staphylococcus aureus* [36].

#### 2.7.4 Deteksjon av oksidase ved modifisert oksidasetest

Mikrokokker og stafylokokker tilhører familien Microcococcaceae, og deler derfor flere egenskaper. Særlig *Staphylococcus aureus* har lignende egenskaper som mikrokokker. Begge er salt-tolerante kokker, som er gram-positive, katalase-positive og kan danne gule kolonier på blodagar [36, 39]. Mikrokokker er koagulase-negative, men en slide-koagulasetest kan gi varierende resultater. En modifisert oksidasetest skiller mellom mikrokokker og de fleste stafylokokker ved hjelp av en mikrodasedisk. I kontakt med oksygen reagerer oksidase med tetrametyl-p-fenylendiamin (TMPD) på mikrodasedisken og cytokrom c i bakterien. Mikrokokker og *Staphylococcus sciuri* inneholder cytokrom c og danner derfor et farget kompleks, som observeres som mørke flekker. Dersom det ikke oppstår en fargeforandring eller koloniene blir hvite/grå, tolkes testen som negativ. Stafylokokker gir et negativt resultat (med unntak av *Staphylococcus sciuri*) [61].

#### 2.7.5 Deteksjon av katalase

Katalase er et enzym som katalyserer reaksjonen gitt i ligning (1), hvor hydrogenperoksid brytes ned til vann og oksygen [62].



Hydrogenperoksid er sterkt oksiderende og derfor skadelig for cellen. Forbindelsen dannes under den aerobe respirasjonen, og mikroorganismer som *Staphylococcus aureus* er derfor katalase-positive

[38, 39]. Et positivt resultat observeres som brusing på grunn av oksygendannelse, mens et negativt resultat ikke fører til oksygendannelse [61, 62]. Katalasetesten muliggjør separasjon av stafylokokker fra anaerobe mikroorganismer som streptokokker og *Enterococcus faecalis* [38, 39, 55]. Bakteriekolonier dyrket på blodagar kan gi et falskt positivt resultat, ettersom blodceller er katalase-positive. Podenåler som inneholder nikkel kan også gi et falskt positivt resultat, og en steril trepinne bør derfor benyttes for overføring av celler fra næringsmedie til katalasetesten [61].

### 3 Materialer og metoder

Kapittel 3.1 og 3.2 beskriver materialer og metode som kan benyttes for screening av *Staphylococcus aureus*. Metoden tar utgangspunkt i gjennomføring på et laboratorium med tilgang på mikrobiologisk utstyr, presentert i tabell 2. På grunn av COVID-19 – pandemien ble kun metodene beskrevet i kapittel 3.2.1-3.2.8 gjennomført.

#### 3.1 Materialer

Utstyr som ble benyttet er presentert i tabell 2. Produktnummer og produsent er oppgitt for enkelte produkter. Det ble i tillegg benyttet ordinært laboratorieutstyr.

Tabell 2: Oversikt over utstyr og reagenser som ble benyttet. Produktnummer og produsent for enkelte produkter er oppgitt.

Utstyr og reagenser	Produktnummer	Produsent
<i>Staphylococcus aureus</i> (CCUG 31966)		Lever av laboratorium for matteknologi
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	0371L	Miclev (Lever av laboratorium for materialteknologi)
Mannitol salt agar	12948244	Fisher Scientific
Blodagar	10362223	Fisher Scientific
ChromID MRSA agar	MR502	Chromagar (Lever av St. Olav; Avdeling for medisinsk mikrobiologi; Seksjon spesialfunksjoner; Substrat)
Tryptic soy broth		
Agar		
ESWAB 480CE	4012538	St. Olav
Pastorex Staph Plus	56356	Fisher Scientific
Rabbit plasma	56352	Bio-Rad
Remel Microdase disks	R21132	Fisher Scientific
Sterile trepinner	112298	LP ITALIANA SPA
Hydrøgenperoksid (10%)		
Krystallfiolett		
Jodløsning		
Etanol (95%)		
Safranin		
Lysmikroskop (CH20BIMF200)		Olympus
Vortex (Combi-Spin FVL-2400N)		bioSan
Inkubator (B9051)		Termaks
Autoklav (TOMY SX-700E)		Tomy and Digital Biology
UV-skap (SAFE 2020)		Thermo SCIENTIFIC

## 3.2 Metoder

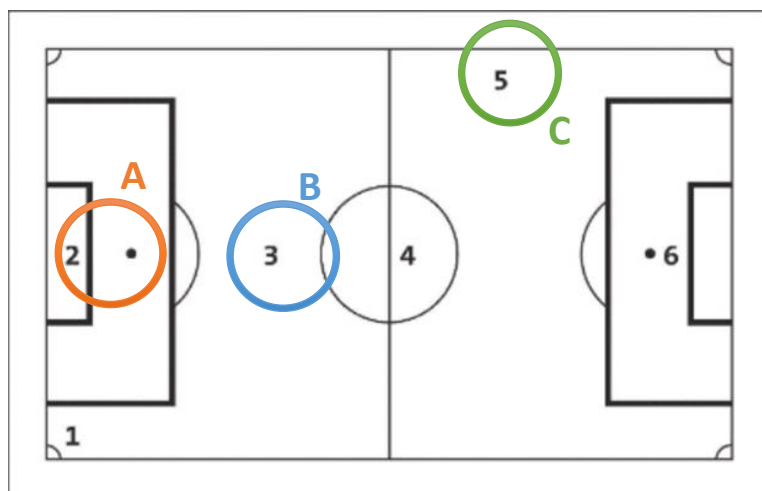
Det ble hentet prøver fra en innendørs kunstgressflate med fyllmateriale av knuste olivenkjerner og sand, samt referanseprøver fra en ubrukt kunstgressmatte uten fyllmateriale. I dette kapitlet er det gitt en beskrivelse av det praktiske arbeidet som ble utført.

### 3.2.1 Prøvetakning

Etter ønske fra SIAT ble det hentet prøver fra en innendørs kunstgressbane med fyllmateriale av knuste olivenkjerner og sand. Som referanse ble det benyttet en ubrukt kunstgressmatte (omtrent 0,5m x 1,0m) med samme type kunstgress som i kunstgresshallen, men uten fyllmateriale. Den ubrukte kunstgressmatten ble levert av SIAT, og ble oppbevart i en plastpose ved romtemperatur frem til prøvetakning. Posen var ikke forseglet. Det ble til sammen utført prøvetakning fra fire områder. Tre områder på kunstgressbanen; A, B og C som vist i figur 9, og et område på referansekunstgresset; R. Prøvetakning fra referansen ble utført på en steril benk på laboratoriet.

Punktene 1-6 i figur 9 illustrerer hvor det utføres funksjonstester for FIFA-godkjenning av kunstgressbaner [63]. Ut fra punktene har det blitt utarbeidet tre interessante områder for prøvetakning; A, B og C. Områdene representerer steder på en fotballbane hvor det trolig er et høyt aktivitetsnivå, og hvor det dermed forventes å finne mikroorganismer. I forbindelse med oppgaven ble det hentet prøver fra følgende områder:

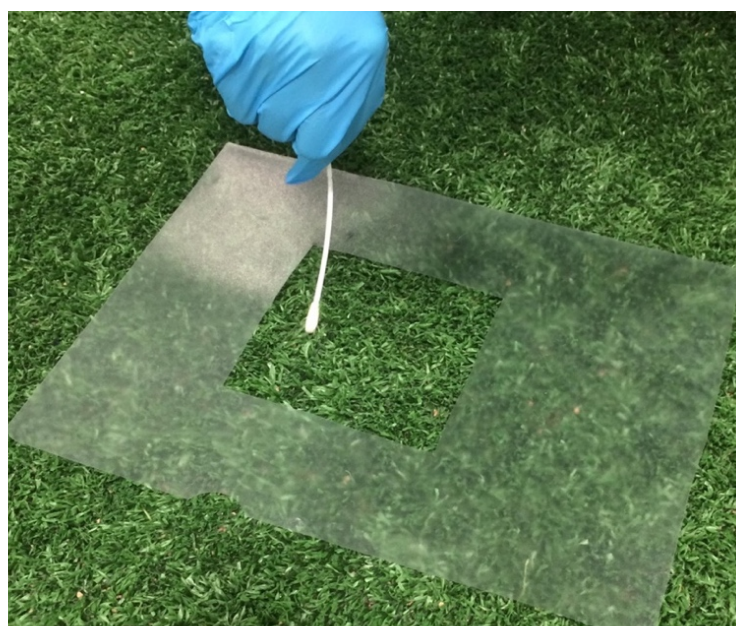
- A – målområdet, mellom straffemerket og 5-meteren
- B – mellom 16-meteren og midtsirkelen
- C – langs sidelinjen mellom 16-meteren og midtsirkelen



Figur 9: Oversikt over punkter hvor det utføres funksjonstester for FIFA-godkjenning av kunstgressbaner (1-6), samt prøvetakingsområder (A, B, C) [63].

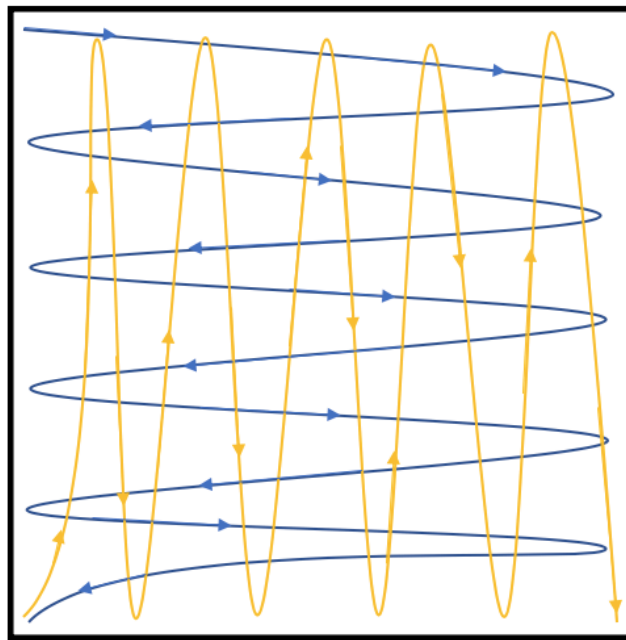
Det ble tatt fem paralleller fra fire ulike områder (A, B, C og R), og til sammen ble det 20 prøver.

Prøvene ble hentet fra et område lik 10 cm x 10 cm ved bruk av sterile vattpinner av typen ESWAB 480 CE, med tilhørende prøverør fylt med Amies transportmedie. For å sikre at prøvetakingsområdet var like stort, ble det brukt en «plastramme» som vist i figur 10. For hver parallell ble det benyttet en ny vattpinne, slik at utgangspunktet for hver prøve var identisk. «Plastrammen» ble sterilisert ved bruk av etanol (75%) mellom hver prøvetakning.



Figur 10: Prøvetakning fra en kunstgressflate ved bruk av plastramme og ESWAB 480 CE.

Metode for prøvetakning er vist i figur 11. Vattpinnen ble ført i et sikksakk-mønster ti ganger innenfor rammen, først i horisontal retning (blå linje), deretter i vertikal retning (gul linje). Vattpinnen ble presset mot kunstgressfibrene med middels styrke, uten å graves ned i fyllmaterialet. Til slutt ble vattpinnen plassert i tilhørende prøverør fylt med Amies transportmedie, og fraktet til et kjølerom for oppbevaring.



Figur 11: Metode for prøvetakning. Vattpinnen ble beveget i et sikksakk-mønster ti ganger, først i horisontal retning (blå linje), deretter i vertikal retning (gul linje).

### 3.2.2 Tillagning av mannitol salt agarplater

Mannitol salt agar (333 g) ble løst i destillert vann (3000 mL). Løsningen ble deretter satt på røring med varme for oppkok, inntil pulveret hadde løst seg opp. pH ble så justert til  $7,4 \pm 0,2$ , før autoklavering ( $121^{\circ}\text{C}$ , 15 min) [64]. Til slutt ble løsningen fordelt i 138 petriskåler, omtrent 20 mL løsning i hver som tilsvarte 1/3 fulle skåler. På grunn av et stort antall petriskåler ble arbeidet utført utenfor sterilskap, men ved bruk av sterilteknikk. Da agaren hadde stivnet ble platene plassert i kjøleskap for oppbevaring ( $4^{\circ}\text{C}$ ).

Prosedyren ble utført to ganger, og ga totalt 276 agarplater.



### 3.2.3 Tillagning av trypticase soy agarplater (TSA)

Trypticase soy broth (TSB) (30,0 g) og agar (15,0 g) ble løst i destillert vann (1000 mL). Løsningen ble deretter satt på røring med varme for oppkok, inntil pulveret hadde løst seg opp. pH ble så justert til 7,3 før autoklaving (121°C, 15 min) [60]. Til slutt ble løsningen fordelt i 48 petriskåler, omtrent 20 mL i hver som tilsvarte 1/3 fulle skåler. På grunn av et stort antall petriskåler ble arbeidet utført utenfor sterilskap, men ved bruk av sterilteknikk. Da agaren hadde stivnet ble platene plassert i kjøleskap for oppbevaring (4°C).

### 3.2.4 Test av overlevelsen til *Staphylococcus Aureus* på blodagar

Seks blodagarplater ble inokulert med en kontrollprøve av *Staphylococcus aureus* ved bruk av utstrykningsteknikk, og deretter inkubert ved 37°C. Da det ble observert oppvekst av bakteriekolonier ble tre plater flyttet til et kjøleskap (4°C). De resterende tre platene ble stående i inkubatoren ved 37°C. Platene ble kontrollert med 24 timers mellomrom for endringer i antall kolonier, farge og form.

### 3.2.5 Inokulering av kontrollprøver på mannitol salt agar og blodagar

Positiv kontroll (*Staphylococcus aureus*) og negativ kontroll (*Staphylococcus epidermidis*) ble overført til mannitol salt agarplater ved bruk av utstrykningsteknikk. For hver kontroll ble tre paralleller produsert, og totalt seks plater ble inokulert. Deretter ble platene inkubert ved 37°C, og ved observert oppvekst ble platene flyttet til et kjøleskap (4°C).

Prosedyren ble gjentatt på blodagar.

### 3.2.6 Inokulering av kunstgressprøver på trypticase soy agar (TSA)

Alikvoter (50 µL) av Amies transportmedie ble overført til TSA-plater, og deretter fordelt utover agaren ved hjelp av en steril glasstav. Platene ble inkubert ved 37 °C og kontrollert for oppvekst med 24 timers mellomrom.

### 3.2.7 Inokulering av kunstgressprøver på mannitol salt agar

20 prøver hentet fra område A, B, C og R, ble inokulert på mannitol salt agarplater. Prøverørene ble utsatt for vortex slik at mikroorganismene løsnet fra vattpinnene. En steril podenål ble deretter benyttet for å overføre bakterier fra prøverøret til agaren ved bruk av utstrykningsteknikk. Det ble

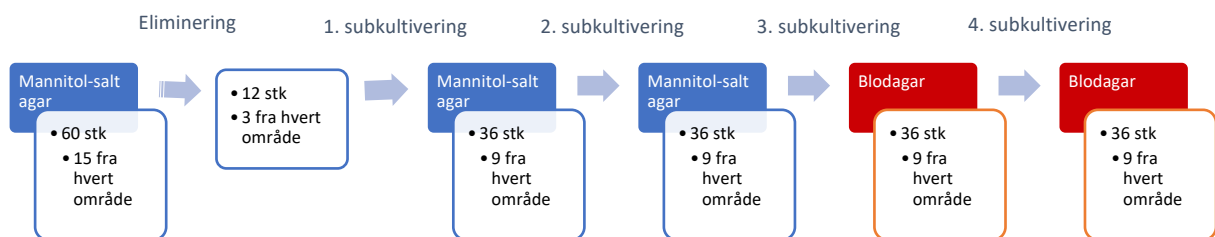
utført tre paralleller per prøve slik at det totalt ble inokulert 60 mannitol-salt agarplater, 15 plater fra hvert område (A, B, C og R).

Platene ble inkubert ved 37 °C, og kontrollert for oppvekst etter 24 timer. Etter observert oppvekst ble antall plater redusert, slik at 3 av 15 agarplater fra hvert av område (A, B, C og R), ble inkludert videre. Plater ble utvalgt på bakgrunn av flest og best separerte enkeltkolonier, og etter eliminasjonen var det totalt 12 agarplater igjen.

### 3.2.8 Subkultivering på mannitol salt agar og blodagar

Det ble utført subkultivering av kolonier fra 12 agarplater (fra kapittel 3.2.7). En godt separert enkeltkoloni ble overført til en ny mannitol salt agarplate ved bruk av utstrykningsteknikk. For et best mulig sammenlikningsgrunnlag var utvalgte enkeltkolonier tilsynelatende identiske. Prosedyren ble gjentatt på resterende plater, med tre paralleller for hver, og resulterte i 36 nye agarplater, altså 9 plater fra hvert område. Deretter ble platene inkubert ved 37 °C og kontrollert for oppvekst etter 24 timer. Til slutt ble 36 plater redusert til 12, basert på best separerte kolonier, farge og form.

Prosedyren ble gjentatt tre ganger (totalt 4 subkultiveringer), og de to siste subkultiveringene ble utført på blodagar. En oversikt over alle subkultiveringene er vist i figur 12. Figuren viser også totalt antall inokulerte agarplater etter hver subkultivering, samt antall fra hvert område.



Figur 12: Oversikt over gjennomførte subkultiveringer, antall agarskåler og type agar. Etter hver subkultivering er det totalt 36 inokulerte plater; 9 fra hvert område (A, B, C, R).

### 3.2.9 Påvisningstester for *Staphylococcus aureus*

Etter fire subkultiveringer var totalt 36 blodagarplater inokulert med prøver fra område A, B, C og R. Det var planlagt å velge ut 12 blodagarplater basert på best separerte kolonier, farge og form, men dette ble ikke gjennomført som følge av COVID-19-pandemien. For å påvise *Staphylococcus aureus* var skulle det utføres ulike tester; mikroskopering, gramfarging, tube- og slide koagulasetest, modifisert oksidasetest og katalasetest. For hver plate var det planlagt å utføre en påvisningstest med tre paralleller. Prosedyrene skulle gjentas for positiv- og negativ kontroll. Totalt skulle hver påvisningstest utføres 42 ganger. Kapittel 3.2.9.1-6, beskriver metode for påvisningstester.

#### 3.2.9.1 Mikroskopering

Alle glassflater på lysmikroskopet tørkes med linsepapir, fuktet med etanol. Deretter stilles lyset og avstanden mellom okularene inn. En bakteriekoloni fra en agarplate overføres til et rent objektglass ved bruk av en steril podenål, og plasseres på objektbordet. Først studeres prøven gjennom det største objektivet, 10x. For å oppnå et skarpt bilde stilles fokus inn. Deretter benyttes 40x objektivet, og fokus stilles inn på ny. Til slutt studeres kolonier av interesse ved bruk av 100x objektivet, hvor det benyttes et dekkglass og en dråpe immersjonsolje [60]. Morfologien til bakteriene bestemmes ut fra figur 8.

#### 3.2.9.2 Gramfarging

Ved bruk av en steril podenål overføres en bakteriekoloni til et rent objektglass. En dråpe sterilt vann påføres bakteriekolonien som deretter fordeles utover glasset. For å varmefiksere prøven benyttes en gassbrenner. Bakteriekolonien på objektglasset dekkes av en dråpe krystallfiolett, som etter ett minutt vaskes vekk med destillert vann. Deretter dekkes bakteriekolonien av en dråpe jodløsning, som etter ett minutt vaskes vekk med destillert vann. Bakteriekolonien på objektglasset vaskes så med 95% etanol i 20-30 sekunder, etterfulgt av vasking med destillert vann. Bakteriekolonien dekkes deretter av en dråpe safranin, som etter 10 sekunder vaskes vekk med destillert vann. Etter lufttørring studeres preparatet under mikroskop [39, 60].

#### 3.2.9.3 Slide koagulasetest

Ved utføring av slide koagulasetest benyttes det et kit (Pastorex Staph Plus) som inneholder latexreagens, et kort med markerte sirkler, en blandestav og negativ kontroll. En beholder med latexreagens blandes ved rolig risting, og en dråpe overføres til en markert sirkel på kortet. Deretter benyttes blandepinnen til å plassere 1-3 bakteriekolonier i sirkelen. Ved bruk av blandepinnen mikses

koloniene og latexreagensen i 10 sekunder, før løsningen fordeles utover så den dekker sirkelen. Med rolige bevegelser vugges kortet i 30-60 sekunder. Observasjon av agglutinasjon indikerer et positivt resultat. Prosedyren gjentas på de samme bakteriekoloniene, men med negativ kontroll istedenfor latexreagens [65].

#### 3.2.9.4 Tube koagulasetest

En bakteriekoloni overføres til trypticase soy broth og inkuberes i 18 timer ved 37°C. Deretter prepareres kaninplasma ved å overføre løsningsmiddel (R2) (10 mL) til en beholder med frysetørket kaninplasma (R1), og blande ved rolig risting. Kaninplasma (0,5 mL) og trypticase soy broth (0,5 mL) overføres til et reagensrør og inkuberes ved 37°C i 4 timer. Det sjekkes for agglutinasjon hver time [66]. Etter 4 timer flyttes rørene til romtemperatur for videre inkubasjon, så den totale inkubasjonstiden er 24 timer. Agglutinasjon kan observeres ved å vinkle røret [67, 68].

#### 3.2.9.5 Modifisert oksidasetest

En bakteriekoloni overføres til en mikrodasedisk ved bruk av en steril trepinne, etterfulgt av inkubering ved romtemperatur i to minutter. Utvikling av blå farge indikerer et positivt resultat, mens fargeløshet eller grå/hvite merker antyder et negativt resultat [69].

#### 3.2.9.6 Katalasetest

En bakteriekoloni fordeles i et tynt lag på et objektglass ved bruk av en steril trepinne. Deretter dekkes bakteriekolonien av en dråpe 10% hydrogenperoksid. Et positivt resultat observeres som brusing, mens et negativt resultat ikke gir en reaksjon [39, 62].

#### 3.2.10 Inokulering på chromID MRSA agar

På bakgrunn av resultatene fra kapittel 3.2.7-3.2.9 velges det ut blodagarplater (fra 4. subkultivering, se figur 12) med kolonier som trolig inneholder *Staphylococcus aureus*. En separat bakteriekoloni fra blodagar overføres til chromID MRSA agar ved bruk av utstrykningsteknikk. Det gjennomføres tre paralleller for hver agarplate, som så inkuberes i 37 °C og kontrolleres for oppvekst etter 24 timer.

## 4 Resultat

Kapittel 4.1 presenterer kimtall av prøver hentet fra en innendørs kunstgressflate og et referansekunstgress. Metoder for påvisning av *Staphylococcus aureus* (kapittel 3.2.9 og 3.2.10) ble ikke gjennomført. Resultatene fra kapittel 3.2.4, 3.2.5, 3.2.7 og 3.2.8 ble alene mangelfulle, og er derfor ikke presentert i oppgaven.

### 4.1 Kimtall av prøver fra kunstgressflater

Størrelsen til bakteriekolonier ble vurdert etter mål presentert i tabell 3.

Tabell 3: Oversikt over bakteriekolonier og tilhørende diameter.

Størrelse	Diameter [mm]
Svært liten	0 – 0,1
Liten	0,2 – 1
Mellomstor	2 – 4
Stor	5 ≥

Tabell 4, 5, 6 og 7 presenterer kimtall av prøver fra område A, B, C og R. Hver tabell viser kimtall av seks prøver, derav tre paralleller fra prøve 1 og tre paralleller fra prøve 2. Prøvene ble inkubert i 43 timer ved 37 °C. (+) indikerer oppvekst av mikroorganismer som ikke er separerte enkeltkolonier, og en nærmere beskrivelse er gitt under tabellene. Slike oppvekster er ikke inkludert i beregning av totalt kimtall.

Tabell 4 gir en oversikt over kimtall av prøver fra område A; målområdet, mellom straffemerket og 5-meteren. Prøve A.1.1 har høyest kimtall blant prøvene fra dette området, mens gjennomsnittlig kimtall av alle prøvene fra område A er 3,5 ( $\pm 1,9$ ).

Tabell 4: Oversikt over kimtall av prøver fra område A. Form og farge er beskrevet.

	A.1.1	A.1.2	A.1.3	A.2.1	A.2.2	A.2.3	Gjennomsnitt	Standardavvik
Hvit, stor	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
Hvit, mellomstor	2	0	1	0	0	1	0,7	0,8
Hvit, liten	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
Hvit, svært liten	0	0	1	0	2	1	0,7	0,8
Gul, stor	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
Gul, mellomstor	4	1	1	3	1	0	1,7	1,5
Gul, liten	1	1	1	0	0	0	0,5	0,5
Annet	0	0	0	(+) <sup>a</sup>	0	(+) <sup>b</sup>		
<b>Totalt kimtall</b>	<b>7</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>3,5</b>	<b>1,9</b>

a, gule sammenvokste kolonier langs kanten av skålen

b, to sammenvokste kolonier, og en liten hvit koloni med kantete form og matt overflate

Tabell 5 gir en oversikt over kimtall av prøver fra område B; mellom 16-meteren og midtsirkelen. Prøve B.1.1 har høyest kimtall blant prøvene fra dette området, mens gjennomsnittlig kimtall av alle prøvene fra område B er 21,7 ( $\pm 17,8$ ).

Tabell 5: Oversikt over kimtall av prøver fra område B. Form og farge er beskrevet.

	B.1.1	B.1.2	B.1.3	B.2.1	B.2.2	B.2.3	Gjennomsnitt	Standardavvik
Hvit, stor	0	3	0	0	0	0	0,5	1,2
Hvit, mellomstor	7	1	1	1	0	0	1,7	2,7
Hvit, liten	0	0	0	2	2	3	1,2	1,3
Hvit, svært liten	33	26	33 <sup>a</sup>	2	2	0	16,0	16,3
Gul, stor	0	0	1	0	0	0	0,2	0,4
Gul, mellomstor	1	0	0	0	3	2	1,0	1,3
Gul, liten	2	3	2	0	0	0	1,2	1,3
Annet	0	(+) <sup>b</sup>	0	(+) <sup>c</sup>	(+) <sup>d</sup>	0		
<b>Totalt kimtall</b>	<b>43</b>	<b>33</b>	<b>37</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>21,7</b>	<b>17,8</b>

a, blanke kolonier

b, mange sammenvokste, svakt hvite kolonier

c, gule sammenvokste kolonier langs kanten av skålen

d, hvit bakterievekst langt kanten av skålen

Tabell 6 gir en oversikt over kimtall av prøver fra område C; langs sidelinjen, mellom 16-meteren og midtsirkelen. Prøve C.2.3 har høyest kimtall blant prøvene fra dette området, mens gjennomsnittlig kimtall av alle prøvene fra område C er 6,7 ( $\pm 1,6$ ).

Tabell 6: Oversikt over kimtall av prøver fra område C. Form og farge er beskrevet.

	C.1.1	C.1.2	C.1.3	C.2.1	C.2.2	C.2.3	Gjennomsnitt	Standardavvik
Hvit, stor	0	0	1	0	1	1	0,5	0,5
Hvit, mellomstor	1	1	2	1	0	1	1,0	0,6
Hvit, liten	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
Hvit, svært liten	2	1	1	0	3	0	1,2	1,2
Gul, stor	0	1	0	0	0	0	0,2	0,4
Gul, mellomstor	4	4	0	4	1	6	3,2	2,2
Gul, liten	1	0	1	1	0	1	0,7	0,5
Annet	0	(+) <sup>a</sup>	0	0	(+) <sup>b</sup>	(+) <sup>c</sup>		
<b>Totalt kimtall</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>9</b>	<b>6,7</b>	<b>1,6</b>

a, gule kolonier langs kanten av skålen

b, en gul mellomstor koloni med hakkete form, matt overflate

c, en stor gul og en stor hvit koloni har vokst sammen

Tabell 7 gir en oversikt over kimtall av prøver fra område R; ubrukt kunstgressmatte. Prøve R.2.2 og 2.3 har en separat enkeltkoloni hver, mens R.1.1, 1.3 og 2.1 har annerledes oppvekst. Gjennomsnittlig kimtall av alle prøvene fra område R er 0,3 ( $\pm 0,5$ ).

Tabell 7: Oversikt over kimtall av prøver fra område R. Form og farge er beskrevet.

	R.1.1	R.1.2	R.1.3	R.2.1	R.2.2	R.2.3	Gjennomsnitt	Standardavvik
Hvit, stor	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
Hvit, mellomstor	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
Hvit, liten	0	0	0	0	0	1	0,2	0,4
Hvit, svært liten	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
Gul, stor	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
Gul, mellomstor	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0
Gul, liten	0	0	0	0	1	0	0,2	0,4
Annet	(+) <sup>a</sup>	0	(+) <sup>b</sup>	(+) <sup>c</sup>	0	0		
<b>Totalt kimtall</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0,3</b>	<b>0,5</b>

a, flere små og blanke kolonier samlet i en klynge

b, sammenvokst klump, både kremfarget og gul med matt overflate, blomsterform

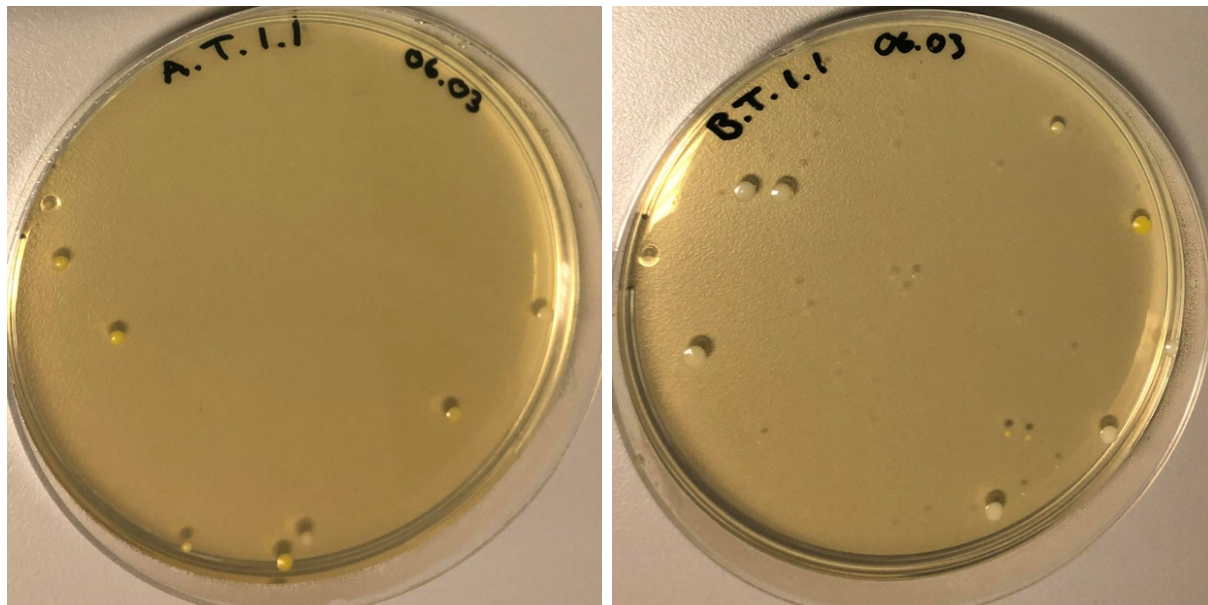
c, sammenvokst masse med slimete konsistens. Vondt lukt og oppvekst på både agaren, langs kantene og på lokket

Tabell 8 viser en samlet oversikt over verdier for gjennomsnitt og standardavvik for totalt kimtall av prøver fra område A, B, C og R. Verdiene er hentet fra tabell 4, 5, 6 og 7.

Tabell 8: Oversikt over gjennomsnittlig kimtall og standardavvik av prøver fra områdene A, B, C og R.

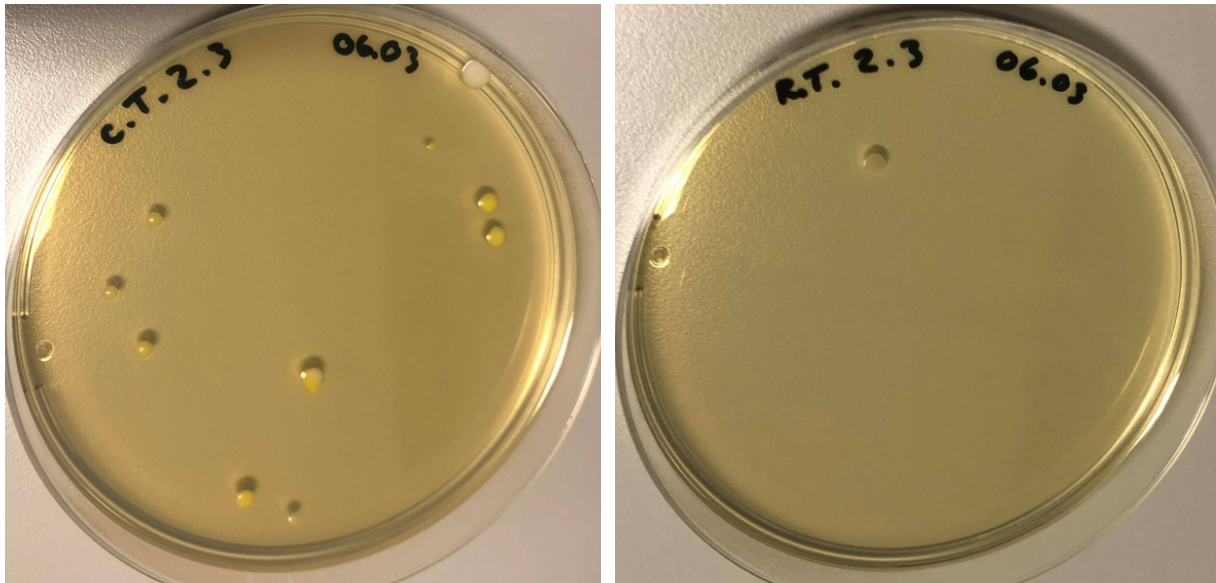
Område	Beskrivelse av område	Gjennomsnitt	Standardavvik
A	Målområde, mellom straffemerket og 5-meteren	3,5	1,9
B	Mellom 16-meteren og midtsirkelen	21,7	17,8
C	Langs sidelinjen, mellom 16-meteren og midtsirkelen	6,7	1,6
R	Ubrukt kunstgressmatte	0,3	0,5

Figur 13 og 14 viser en TSA-plate fra hvert av områdene A, B, C og R. Hver TSA-plate ble utvalgt på bakgrunn av hvilke plater som hadde høyest kimtall og samtidig var representative for tilhørende område.



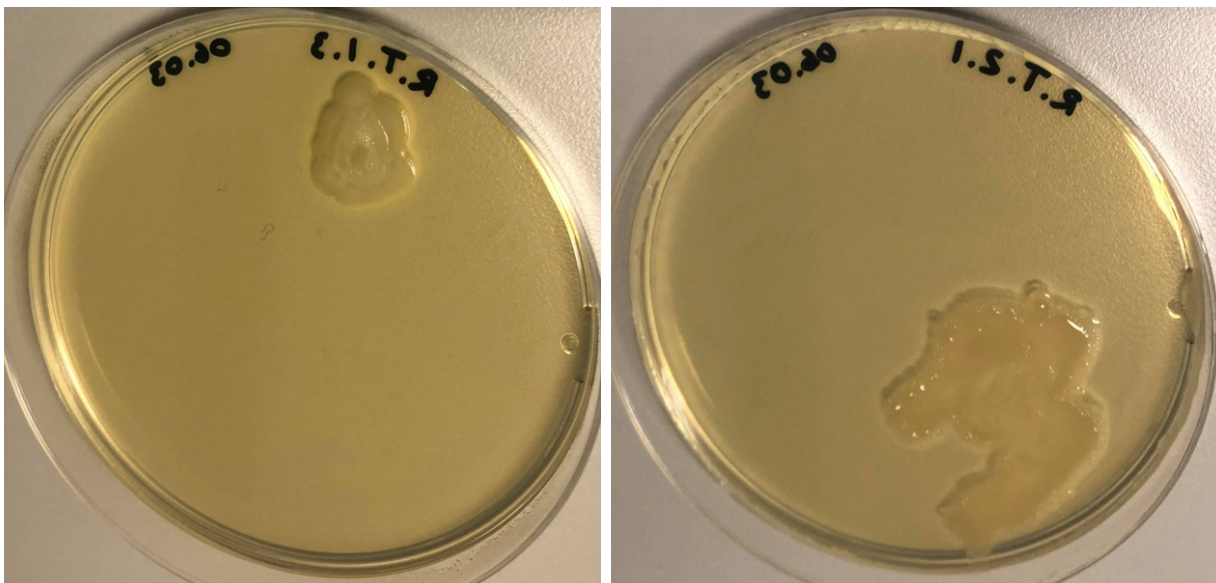
Figur 13: Oppvekst av bakterier på TSA, inokulert med prøver fra områdene A og B. A.1.1 til venstre, og B.1.1 til høyre.





Figur 14: Oppvekst av bakterier på TSA, inokulert med prøver fra områdene C og R. C.2.3 til venstre, og R.2.3 til høyre.

Figur 15 viser to TSA-plater inokulert med prøver fra område R. Platene har bakterieoppvekst som skiller seg fra annen oppvekst, både fra plater fra samme område (R) og andre områder (A, B og C).



Figur 15: Oppvekst av bakterier på TSA, inokulert med prøver fra område R. R.1.3 til venstre, og R.2.1 til høyre.

## 5 Diskusjon

I kunstgress finnes det ikke et naturlig samfunn av mikroorganismer, slik som i naturgress hvor totalt antall mikroorganismer trolig er høyere. Mikroorganismer på kunstgress stammer fra eksterne kilder som mennesker, dyr og omkringliggende miljøer som løv og barnåler [9]. Forekomst av hudlesjoner forårsaket av kunstgress er større, sammenlignet med naturgress [23]. Kunstgressfibre som blir benyttet i 3G og 4G kunstgress er av polyetylen, et materiale som er skarpere enn naturlige gressfibre og dermed kan skrape opp huden [3, 15]. Det er usikkert om fyllmaterialet er avgjørende ved dannelse av hudlesjoner, men trolig er hardhet og utforming av betydning. Harde, skarpe fyllmaterialer vil antakelig lettere skrape opp huden sammenlignet med myke, glatte materialer. Tilstedeværelse av patogene mikroorganismer som *Staphylococcus aureus* på kunstgressfibrene eller fyllmaterialet, kan resultere i hudinfeksjoner [27, 29, 38]. Litteratur som omhandler *Staphylococcus aureus* på kunstgress benytter hovedsakelig SBR-granulat som fyllmateriale, et produkt som inhiberer mikrobiell vekst [8]. Mikrobiell vekst på kunstgress med organiske fyllmaterialer bør derfor studeres nærmere.

### 5.1 Kimtall av prøver fra innendørs kunstgressbane og referansekunstgress

På TSA-plater inokulert med prøver fra en innendørs kunstgressbane og et referansekunstgress, ble det i denne undersøkelsen observert oppvekst av ulike bakteriekolonier med varierende farge, form, størrelse og overflate. Innendørsbanen hadde fyllmateriale av knuste olivenkjerner og sand, mens referansekunstgresset ikke hadde fyllmateriale. Et representativt utvalg av enkelte TSA-plater med bakterieoppvekst er vist i figur 13, 14 og 15. Som presentert i kapittel 4.1, ble det observert bakterieoppvekst på 23 av 24 prøver etter inkubering i 43 timer ved 37 °C. Kimtall av prøver fra områdene A, B, C og R varierte mellom 0,3 ( $\pm 0,5$ ) og 21,7 ( $\pm 17,8$ ). Prøvene fra område B, mellom 16-meteren og midtsirkelen, hadde høyest gjennomsnittlig verdi lik 21,7 ( $\pm 17,8$ ), se tabell 8. Resultatet indikerer at område B har hatt størst tilførsel av mikroorganismer og organisk materiale som spytt og svette, i tidsrommet før prøvehevingen. Område B har derfor trolig hatt et høyere aktivitetsnivå sammenlignet med områdene A og C, lokalisert ved målområdet og ved sidelinjen, hvor gjennomsnittlig kimtall var lavere. Et høyt aktivitetsnivå kan trolig resultere i stor tilførsel av mikroorganismer og organisk materiale som spytt og svette [7, 12]. Varierende verdier for blant annet temperatur og luftfuktighet i hallen, kan også ha påvirket den mikrobielle veksten [9]. Til tross for høyt gjennomsnittlig kimtall av prøver fra område B, var tilhørende standardavvik høyt. Dette indikerte store forskjeller i antall kolonier på agarplatene, og som presentert i tabell 5 varierte kimtallene mellom 5 og 43. En stor andel av koloniene fra område B ble betegnet som «svært liten» med diameter

lik 0-0,1mm i henhold til tabell 3. Flertallet av koloniene fra område A og C ble betegnet som «mellomstore» med diameter lik 2-4mm. Fra områdene A, B, og C ble det observert hvite og gule kolonier med varierende størrelse, noe som indikerer at kunstgresset gir grobunn for et mangfold av mikroorganismer. Det er utfordrende å diskutere resultatet i større grad da det burde vært gjennomført flere prøvetakninger.

Sammenlignet med prøvene fra referansekunstgresset, R, var kimtallet av prøver fra områdene A, B og C betydelig høyere, noe som indikerer at næringsstoffer og mikroorganismer tilføres kunstgresshallen fra eksterne kilder. Kimtallet av prøver fra område R var 0,3 ( $\pm 0,5$ ), mens kimtallet av prøver fra områdene A, B og C var 3,5 ( $\pm 1,9$ ), 21,7 ( $\pm 17,8$ ) og 6,7 ( $\pm 1,6$ ). Det ble observert karakteristisk oppvekst på tre av seks referanseprøver, hvor to skilte seg særlig ut da koloniene var store og hadde et annerledes utseende, se figur 15. Bakteriekolonien på prøve R.1.3 hadde kraterlignende form og matt overflate, og prøve R.2.1 hadde slimete konsistens og karakteristisk lukt. Mikroorganismene på nevnte prøver eksisterer trolig ikke på kunstgressbaner da det ikke ble observert lignende oppvekst på prøvene fra område A, B eller C. Ettersom referansekunstgresset ble oppbevart i en plastpose som ikke var forseglet over lengre tid, kan kunstgresset ha blitt kontaminert av posen eller omgivelsene. Kontaminering under prøvetakning og utstrykning av prøvene, fra områdene A, B, C og R, er også feilkilder som kan ha påvirket resultatene og bidratt til høyere kimtall.

## 5.2 Faktorer som påvirker vekst av mikroorganismer på kunstgress

Mikrobiell vekst på kunstgressbaner påvirkes blant annet av abiotiske faktorer som type fyllmateriale, temperatur, luftfuktighet, CO<sub>2</sub>-konsentrasjon, UV-stråling, og biotiske faktorer som tilgjengelighet for dyr og mennesker, og dyprens av banen. Om banen er lokalisert innen- eller utendørs er også av betydning.

### 5.2.1 Fyllmaterialer

Det finnes flere typer fyllmaterialer, derav SBR-granulat som inneholder kjemiske forbindelser som sink og svovel [5, 17]. Slike metaller betegnes som inhiberende for mikrobiell vekst, og i kontakt med vann avgir SBR-granulatet større mengder sink og andre metaller [17]. Trolig vil SBR-granulat også avgir metaller i kontakt med fuktighet fra biologisk materiale som svette, snørr, spytt, tårer og blod, men dette bør undersøkes nærmere. Ved vanning av kunstgressbaner kommer SBR-granulatet i direkte kontakt med vann, som sannsynligvis fører til at fyllmaterialet avgir større mengder metaller.

SBR-granulat inneholder også forbindelser som polysykliske aromatiske hydrokarboner (PAH) og flyktige organiske forbindelser (VOC) som har negativ innvirkning på innendørs luftkvalitet, og inhiberer mikrobiell vekst [8, 19]. Nevnte faktorer gir en indikasjon på at SBR-granulat inhiberer mikrobiell vekst, men grad av inhibering er usikkert. Trolig er sannsynligheten større for mikrobiell vekst på kunstgressfibrene sammenlignet med gummigranulatet. Resultater fra en studie tilsier også at det finnes 50 000 ganger flere bakterier i et fyllmateriale av sand og SBR-granulat, sammenlignet med et fyllmateriale av kun SBR-granulat [13]. Dette tyder på at sand ikke har den samme inhiberende effekten på mikrobiell vekst sammenlignet med SBR-granulat.

Organiske fyllmaterialer i kunstgress, derav kork, koksfiber, sand, nøtteskall og knuste olivenkjerner, inneholder ikke giftige kjemiske forbindelser [5]. Noen organiske fyllmaterialer er hydrofile og har evne til å trekke til seg fuktighet, mikroorganismer og sekreter [11]. Vanning av kunstgressbaner kan tilføre fuktighet som trekker inn i hydrofile og porøse strukturer og danner grunnlag for mikrobiell vekst. Det er dokumentert at antall levende mikroorganismer reduseres raskere på glatte overflater i forhold til grovere overflater [11]. Porøse strukturer kan derfor være en bedre grobunn for mikroorganismer, sammenlignet med glattere materialer. På en annen side bidrar enkelte organiske fyllmaterialer med svevestøv, særlig kork og kokosfiber [21]. Trolig kan svevestøv virke uttørkende på biofilm og redusere veksten av mikroorganismer, men dette bør undersøkes nærmere.

### 5.2.2 Temperatur, luftfuktighet og CO<sub>2</sub>-konsentrasjon

Til tross for varierende utetemperaturer har det blitt dokumentert stabile temperaturer på innendørsbaner [32]. Utendørs kunstgressbaner kan oppnå høye temperaturer i solsteiken på sommerhalvåret, mens på vinterhalvåret kan de utsettes for minusgrader [22]. I tillegg til store temperatursvingninger innenfor et år, varierer temperaturene i løpet av et døgn. Om natten er temperaturen som regel lavere enn på dagen, noe som påvirker utendørsbaner i større grad enn innendørsbaner. Store temperatursvingninger er et argument for at utendørs kunstgressbaner er et dårlig underlag for mikrobiell vekst [8]. Sett bort fra ekstreme temperaturer og temperatursvingninger, er det varmere i luften på sommerhalvåret sammenlignet med vinterhalvåret, noe som trolig påvirker mikrobiell vekst.

Luftfuktigheten er mer stabil innendørs sammenlignet med utendørs [32], trolig grunnet skiftende værforhold som innendørsbaner er skjermet for. Resultater fra en studie tilsier høyere luftfuktighet på en innendørsbane sammenlignet med luftfuktighet utendørs, men dette kan skyldes feilkilder som vanning av kunstgressbanen, lavt luftskifte eller lekkasjer [32]. Bruksfrekvens påvirker luftkvaliteten innendørs i større grad sammenlignet med utendørs, da en studie viser at CO<sub>2</sub>-konsentrasjonen øker

når hallen er i bruk [32]. Utendørs vil trolig ikke økt CO<sub>2</sub>-konsentrasjon være merkbart ettersom det foreligger naturlig sirkulasjon av luft. Dårlig luftskifting i kunstgresshaller med høy bruksfrekvens, kan resultere i høye verdier for luftfuktighet og CO<sub>2</sub>-konsentrasjon. På en innendørs kunstgressbane ble den gjennomsnittlige CO<sub>2</sub>-konsentrasjonen målt til 1066 ppm over et døgn, mens utendørs ble det målt verdier mellom 400-450 ppm [32]. Trolig vil treninger med høy intensitet også føre til høyere luftfuktighet, ettersom svetteproduksjonen øker. Dersom kunstgresshaller vannes, vil fuktigheten forbli i hallen og reguleres av ventilasjon, mens ved vanning av utendørsbaner vil fuktigheten blande seg med luften og ta del i den naturlige sirkulasjonen. Vannet kan også trekke inn i hydrofile fyllmaterialer og bidra til økt luftfuktighet [21], særlig på innendørsbaner med lavt luftskifte. Fuktige organiske fyllmaterialer kan gi grunnlag for mikrobiell vekst, hovedsakelig sopp [5]. Værforhold og klima kan bidra til økt fuktighet på utendørsbaner, mens innendørsbaner er trolig tørrere da de i stor grad er skjermet. Geografisk plassering av kunstgressbaner er avgjørende da klima varierer i Norge [34].

### 5.2.3 UV-stråling

UV-stråling fra solen virker desinfiserende på utendørsbaner [10], og det eksisterer derfor trolig flere mikroorganismer på innendørsbaner. Grad av UV-stråling varierer fra dag til dag, samt ut fra geografisk plassering [34], og grad av desinfisering er derfor ikke lik for alle kunstgressbaner. Hydrofile og porøse fyllmaterialer kan verne mikroorganismer i porøse strukturer mot UV-stråling [11], mens ikke-porøse strukturer, derav SBR-granulat, ikke gir den samme beskyttelsen. Den desinfiserende effekten UV-stråling utgjør på kunstgress er derfor trolig størst på porøse, organiske fyllmaterialer. Slike materialer innehar trolig en høyere konsentrasjon av mikroorganismer sammenlignet med SBR-granulat, som inhiberer mikrobiell vekst [8].

### 5.2.4 Tilgjengelighet

Utendørsbaner er tilgjengelig hele døgnet for mennesker og dyr, mens en innendørsbane har begrenset tilgang. Dyr kan overføre sekreter og mikroorganismer til kunstgresset. Slike mikroorganismer kan utgjøre en helserisiko for mennesker, og kan sammen med biologisk materiale gi grobunn for biofilm [7].

Sammenlignes antall brukere og brukstid er trolig ikke forskjellen mellom innen- og utendørsbaner stor. Kunstgresshaller står ofte ubrukt i sommerferien, men har større pågang i vinterhalvåret. Utendørs forekommer lek og annen aktivitet i tillegg til organiserte treninger. På sommerhalvåret er

temperaturene høyere sammenlignet med vinterstid, og det benyttes klesplagg som shorts og t-skjorte. Større områder med åpen hud øker risikoen for dannelse av hudlesjoner som kan infiseres av mikroorganismer. Lettere klesplagg og høy temperatur, fører trolig til økt overføring av svette fra brukerne til kunstgressflaten. Organisk materiale fra omkringliggende miljøer, som løv, barnåler og mose, kan også legge seg på kunstgressdekket. For å opprettholde kunstgressets spilleegenskaper og fjerne en potensiell grobunn for mikroorganismer, er det viktig at banen renses.

#### 5.2.5 Rensing av kunstgress

Dyprens av kunstgressbaner fjerner fremmedlegemer og biologisk materiale [6]. Større elementer som snus og tyggegummi blir trolig fjernet i større grad sammenlignet med rester av biologisk materiale som sannsynligvis enda eksisterer på kunstgressflaten etter dyprens. Resterende biologisk materiale kan gi grunnlag for biofilmdannelse, likevel reduseres trolig grunnlaget for mikrobiell vekst. På innendørsbaner forbedres luftkvaliteten ved dyprens av kunstgresset, som indikerer at mikropartikler som bidrar til svevestøv fjernes. Svevestøv kan trolig virke uttørkende på biofilm, og fjerning av svevestøv kan antakelig fremme mikrobiell vekst.

### 5.3 Faktorer som påvirker forekomsten av *Staphylococcus aureus* på kunstgress

*Staphylococcus aureus* har blitt relatert til hudinfeksjoner blant fotballspillere [12], og det er derfor aktuelt å undersøke hvordan abiotiske og biotiske faktorer nevnt i kapittel 5.2, påvirker forekomsten av bakterien på kunstgress.

#### 5.3.1 Abiotiske faktorer

*Staphylococcus aureus* sin evne til tilpasning er trolig en av grunnene til at den eksisterer i flere miljøer, blant annet på kunstgressbaner. Bakterien kan overleve ved temperaturer mellom 10°C og 46°C, men tåler opp til 60°C i 60 minutter [38]. Dette er en viktig egenskap for *Staphylococcus aureus* på kunstgressbaner, ettersom banene kan oppnå høye temperaturer på sommerhalvåret. Det har blitt målt temperaturer opp mot 93°C på utendørsbaner [22], og slike temperaturer inhiberer vekst av *Staphylococcus aureus*. Derimot er sannsynligheten liten for at baner benyttes ved slike temperaturer, ettersom brukerne kan påføres alvorlige brannskader. I de varmere månedene kan forekomsten av *Staphylococcus aureus* øke i luft [31], og trolig kan slike forhold også fremme vekst av bakterien på

kunstgressbaner. Sannsynligvis har *Staphylococcus aureus* større evne til å overleve på innendørsbaner sammenlignet med utendørsbaner, ettersom temperaturen er mer stabil og UV-stråling ikke inhiberer vekst [32]. Biofilmdannelse kan beskytte bakterien mot UV-stråling og uttørking [26, 33]. *Staphylococcus aureus* kan overleve i tørt miljø over lengre tid [38], men høy luftfuktighet øker overlevelsen [11]. Luftfuktigheten på kunstgressbaner avhenger av nedbør, vanning, samt lekkasjer og luftskifting innendørs [32]. Trolig kan nedbør «vaske bort» biofilm på utendørs kunstgressflater, men det kan sannsynligvis også overføres *Staphylococcus aureus* fra luften til kunstgresset. Ettersom målinger viser lav konsentrasjon av *Staphylococcus aureus* i luft, er bidraget trolig minimalt [31]. Sur nedbør kan tilføre kunstgresset kjemiske komponenter som svovel og nitrogen som forsure vann og jordsmonn [35]. *Staphylococcus aureus* vokser ved pH mellom 4,0-10,0 [40], og ettersom bakterien tolererer et svakt surt miljø er det usikkert om sur nedbør utgjør en inhiberende faktor.

*Staphylococcus aureus* kan overleve i miljø uten tilgang på oksygen, men tilstedeværelsen av O<sub>2</sub> og CO<sub>2</sub> øker veksthastigheten [38]. Økt CO<sub>2</sub>-konsentrasjon ved aktivitet på innendørsbaner med dårlig luftskifting kan trolig fremme vekst av *Staphylococcus aureus* på kunstgress. Det bør likevel undersøkes nærmere hvordan ulike verdier for O<sub>2</sub> og CO<sub>2</sub> påvirker bakterien, ettersom konsentrasjonen varierer innen- og utendørs.

Fyllmateriale kan fremme og inhibere vekst av *Staphylococcus aureus*. En studie tilsier at *Staphylococcus aureus* har høyere overlevelse på kunstgressfibrene, sammenlignet med gummigranulatet [10]. En årsak kan være at gummigranulat som SBR-granulat inneholder flere giftige kjemiske forbindelser som sink og svovel [8]. Kunstgressbaner med organisk fyllmateriale har trolig en høyere konsentrasjon av *Staphylococcus aureus* sammenlignet med SBR-granulat, ettersom organiske fyllmaterialer ikke inneholder giftige forbindelser [5]. En studie konkluderte med at overflaten *Staphylococcus aureus* vokste på var en viktig faktor i forbindelse med overlevelsen til bakterien ved ulike verdier for luftfuktighet [11]. Ettersom hydrofile fyllmaterialer kan holde på fuktighet og biofilm [11, 21], fremmer trolig et slikt underlag vekst av *Staphylococcus aureus*.

### 5.3.2 Biotiske faktorer

*Staphylococcus aureus* finnes på hud og i slimhinner hos mennesker [7], og 20-40 % er langvarige bærere [43]. Derfor er det rimelig å tro at bakterien kan overføres fra mennesker til kunstgresset blant annet via hudkontakt og spytt. I en studie ble mucin, hovedbestanddelen i spytt og slim, relatert til økt overlevelse av *Staphylococcus aureus*, ettersom mucin fungerte som en næringskilde [27]. Trolig kan spytt bidra til høyere forekomst av bakterien på kunstgressbaner, men dette bør undersøkes nærmere. I tillegg til mennesket har *Staphylococcus aureus* blitt isolert fra dyr som hund, katt og fjærkre [37].

Dersom slike dyr er i kontakt med kunstgressbaner øker trolig sannsynligheten for tilstedeværelsen av bakterien. Dyprens av kunstgressflaten vil trolig påvirke forekomsten av *Staphylococcus aureus*, ettersom en dyprens fjerner biologisk materiale og derfor reduserer grunnlaget for biofilm [6]. Dermed kan det antas at konsentrasjonen av bakterien synker, men hvorvidt *Staphylococcus aureus* elimineres fra underlaget er usikkert og burde undersøkes nærmere. Høyere temperaturer fører antagelig til bruk av lettere klesplagg, som gir større kontaktflate mellom huden til brukerne og kunstgresset, og øker sannsynligheten for overføring av *Staphylococcus aureus*. Trolig vil et større område med åpen hud også øke sannsynligheten for dannelse av hudlesjoner, i kontakt med kunstgress.

#### 5.4 Potensiell effekt av *Staphylococcus aureus* på norske kunstgressbaner?

*Staphylococcus aureus* kan infisere hudlesjoner som brannsåar forårsaket av spill på kunstgress eller mikrosår etter barbering [12]. Bakterien kan overføres ved hudkontakt mellom brukerne under spill og sårstell, fra kunstgressflaten, og fra utstyr eller fasiliteter på kunstgressanlegget. Etter et MRSA-utbrudd blant fotballspillere i Connecticut ble boblebadet betegnet som en mulig smittekilde [12]. Mennesker med en infeksjon, eller som er bærere av *Staphylococcus aureus*, kan også smitte utsatte grupper i samfunnet, derav personer med pågående infeksjoner eller nedsatt immunforsvar [38].

Tilstedeværelsen av meticillin-sensitiv *Staphylococcus aureus* (MSSA) utgjør sannsynligvis en lav helserisiko for brukerne av kunstgressbaner i Norge ettersom bakterien i de fleste tilfeller ikke resulterer i sykdom [42], og oppstår det en infeksjon vil kroppen normalt bekjempe den. Dersom kroppen ikke klarer å bekjempe infeksjonen benyttes en antibiotikabehandling [38], men bruk av antibiotika kan føre til utviklingen av nye stammer av MRSA [45]. Dermed kan det diskuteres om økt forekomst av MSSA kan øke forekomsten av MRSA. Tidligere har MRSA blitt forbundet med helseinstitusjoner, men siden 1990-årene har bakterien blitt lokalisert i andre miljøer, da kalt CA-MRSA [45]. CA-MRSA kan forårsake alvorlige og dødelige infeksjoner [45], og ved funn av bakterien på kunstgressbaner bør det iverksettes tiltak for å hindre spredning. Det har blitt dokumentert større utbrudd av MRSA utenfor Norge blant friske mennesker med mye fysisk kontakt, som i idrettsmiljøer [44]. Blant land som overvåker MRSA har Norge en lav forekomst, og helserisikoen bakterien utgjør for brukerne av norske kunstgressbaner er derfor trolig lav. Det har blitt registrert mindre utbrudd uten videre spredning, blant annet i norske idrettsmiljøer [44]. Antall tilfeller av MRSA har holdt en stabil verdi i Norge siden 2016 [28], men trolig kan antall tilfeller øke i fremtiden slik tendensen har vært tidligere år [48]. Høyere forekomst av MRSA i Norge er et resultat av blant annet økt reisevirksomhet



[44], og det bør derfor undersøkes hvordan internasjonale arrangementer som Norway Cup utgjør en risiko for overføring av MRSA til norske kunstgressbaner.

## 5.5 Forebyggende tiltak mot smitte av *Staphylococcus aureus* på kunstgress

For å forebygge utbrudd av *Staphylococcus aureus* er det viktig med smittetiltak og rutiner for renhold av kunstgress. Et godt samarbeid mellom brukerne og eier av kunstgressanlegget er vesentlig, og hvordan de kan forebygge smitte diskuteres i kapittel 5.5.1 og 5.5.2.

### 5.5.1 Hvordan kan brukerne av kunstgressbaner forebygge smitte?

God håndhygiene er et viktig forebyggende tiltaket mot smitte [44]. Brukerne av kunstgressbaner kan også bidra ved å vaske klær og utstyr ved høye temperaturer. *Staphylococcus aureus* kan overleve ved 60°C i opptil 60 minutter [38], og under utbruddet i MRSA-Connecticut [12] var et av hygienetiltakene å vaske håndklær ved 71°C eller høyere. Deling av utstyr som barberhøvler og håndklær bør unngås, ettersom det øker sannsynligheten for bakterieoverføring mellom brukerne. For å unngå hudinfeksjoner forårsaket av *Staphylococcus aureus* er det viktig med sårstell, og for å hindre spredning av bakterien er det viktig å dekke til infiserte hudlesjoner ved spill på kunstgressbaner. Andre forebyggende tiltak er å unngå spyting på banen, samt forsøpling av elementer som snus og tyggegummi. For å redusere sannsynligheten for MRSA-utbrudd bør antibiotikabehandling fullføres etter legens anvisninger, og unødvendig bruk unngås. Brukere som har vært utenlands bør være observant dersom de utvikler en infeksjon kort tid etter reisen, ettersom antall MRSA-tilfeller er høyere i land utenfor Norge [44].

### 5.5.2 Hvordan kan eier av kunstgressanlegg forebygge smitte?

Eier av kunstgressanlegget bør ha gode hygienerutiner for å redusere biofilm på utstyr og fasiliteter, og dermed forebygge smitte av *Staphylococcus aureus*. Utstyr som vester, drakter, baller og kjepler, samt fellesareal som garderober og dusjanlegg, bør jevnlig vaskes og desinfiseres. Installasjon av såpedispensere i garderober og dusjanlegg er et annet viktig tiltak, da det ble betegnet som en viktig faktor i forbindelse med slutten på MRSA-utbruddet i Connecticut [12]. Avhengig av bruksfrekvens og omkringliggende miljøer, anbefales det å utføre dyprens av kunstgresset minst en gang i året [3]. Ellers

bør eier av kunstgressanlegget informere brukerne om potensiell smittefare ved bruk av kunstgress, og forebyggende tiltak som bør følges.

## 5.6 Videre arbeid for screening av *Staphylococcus aureus* på kunstgress

Som følge av COVID-19 – pandemien ble ikke den praktiske delen av oppgaven fullført. En metode for screening av *Staphylococcus aureus* er opparbeidet i kapittel 3, og ved videre arbeid er det interessant å ta utgangspunkt i denne metoden i kombinasjon med ulike problemstillinger.

Det vil være interessant å studere tilstedeværelsen av *Staphylococcus aureus* på kunstgress ved ulike årstider. Er konsentrasjonen av bakterien større på sommerhalvåret sammenlignet med vinterhalvåret, og er konsentrasjonen forskjellig på innen- og utendørs kunstgressbaner? Det vil også være interessant å utføre en screening av *Staphylococcus aureus* på kunstgress med ulike organiske fyllmaterialer, og kartlegge hvilke som gir best grobunn for bakterien. Samtidig vil det være interessant å sammenligne overlevelsen til *Staphylococcus aureus* på kunstgress og naturgress. En annen vinkling på oppgaven å undersøke forekomsten av bakterien på kunstgress med brukere fra ulike nasjonaliteter, som under Norway Cup. Vil forekomsten av *Staphylococcus aureus*, særlig MRSA, øke? Dersom prøver gir oppvekst av MRSA på kromogene medier vil det være interessant å utføre en spa-typing for å bekrefte funn av MRSA, samt kartlegge stammens opphav [28, 52].

## 6 Konklusjon

På bakgrunn av denne studien kan det ikke konkluderes med at *Staphylococcus aureus* finnes på norske kunstgressbaner. Kimtall av prøver hentet fra en innendørs kunstgressbane og et referansekunstgress, indikerer en ekstern overføring av mikroorganismer og organisk materiale som spytt og svette mellom brukere og en innendørs kunstgressflate. Resultatene viser også at det eksisterer et bredt spekter av bakterier på kunstgresset. For å identifisere *Staphylococcus aureus* er det nødvendig med videre arbeid. På en innendørs kunstgressbane påvirkes forekomsten av *Staphylococcus aureus* av faktorer som temperatur, luftfuktighet, CO<sub>2</sub>-konsentrasjon, fyllmaterialer og dyprens. I tillegg kan UV-stråling og kontaminering fra dyr og nedbør være av betydning på utendørs kunstgressbaner.

Det er sannsynlig at organiske fyllmaterialer gir bedre vekstforhold for *Staphylococcus aureus*, sammenlignet med SBR-granulat. SBR-granulat inneholder kjemiske forbindelser som kan inhibere mikrobiell vekst, i motsetning til organiske fyllmaterialer. Særlig organiske fyllmaterialer med en porøs og hydrofil struktur kan fremme vekst av bakterien. Organiske fyllmaterialer omhandler ulike materialer, og deres evne til mikrobiell vekst bør derfor undersøkes nærmere.

Tilstedeværelsen av *Staphylococcus aureus* på norske kunstgressbaner kan utgjøre en helserisiko for brukere. I de fleste tilfeller vil ikke tilstedeværelsen av *Staphylococcus aureus* gi alvorlige konsekvenser. Likevel kan MRSA, særlig CA-MRSA, være utfordrende å behandle ved utvikling av en infeksjon. Det er lav forekomst av MRSA i Norge sammenlignet med resten av verden. Sannsynligheten for at bakterien eksisterer på norske kunstgressbaner er derfor liten, men kan på sikt bli større som et resultat av økt utenlandsk reisevirksomhet.

## 7 Referanser

- [1] Norges Fotballforbund. "Oversikt anlegg i Norge." <https://www.fotball.no/klubb-og-leder/anleggsutvikling/oversikt-anlegg-i-norge/> (lastet ned 17.04.20).
- [2] Senter for Idrettsanlegg og Teknologi. "Kunstgressets historie." <https://www.godeidrettsanlegg.no/system/files/sites/default/files/Publikasjoner/Andre-rapporter/KG2021%20Kunstgresshistorien.pdf> (lastet ned 19.04.20).
- [3] Norges Fotballforbund og Kulturdepartementet, *Kunstgressboka*, 2. ed. Oslo: Kulturdepartementet, 2015. [Online]. Hentet fra: [https://www.regjeringen.no/contentassets/99ad796eef4a688d9fb93f2c22ed83/v-0975b-veileder\\_kunstgress\\_2015.pdf](https://www.regjeringen.no/contentassets/99ad796eef4a688d9fb93f2c22ed83/v-0975b-veileder_kunstgress_2015.pdf).
- [4] Miljødirektoratet. "Kunstgressbaner - forslag til skjerpet regelverk." <https://www.miljodirektoratet.no/aktuelt/nyheter/2019/juli-2019/kunstgressbaner---forslag-til-skjerpet-regelverk/> (lastet ned 20.02.20).
- [5] B. Bauer, K. Egebæk, og A. K. Aare, "Environmentally friendly substitute products for rubber granulates as infill for artificial turf fields," PlanMiljø ApS, Miljødirektoratet, Oppdragsrapport 2017. [Online]. Hentet fra: <https://www.miljodirektoratet.no/globalassets/publikasjoner/m955/m955.pdf>
- [6] TeBe Sport AS. "Dyprens av 9'er kunstgressbane." <https://www.tebe-sport.no/product/dyprens-av-9er-kunstgressbane/> (lastet ned 02.03.20).
- [7] K. P. Talaro og B. Chess, *Foundations in microbiology*, 9. ed. New York: McGraw-Hill, 2015.
- [8] E. Denly, K. Rutowski, og K. M. Vetrano, "A review of the potential health and safety risks from synthetic turf fields containing crumb rubber infill " New York City Department of Health and Mental Hygiene, Oppdragsrapport 2008. [Online]. Hentet fra: [https://www1.nyc.gov/assets/doh/downloads/pdf/eode/turf\\_report\\_05-08.pdf](https://www1.nyc.gov/assets/doh/downloads/pdf/eode/turf_report_05-08.pdf)
- [9] F. Valeriani, L. M. Margarucci, G. Gianfranceschi, A. Ciccarelli, F. Tajani, N. Mucci, M. Ripani, og V. R. Spica, "Artificial-turf surfaces for sport and recreational activities: microbiota analysis and 16S sequencing signature of synthetic vs natural soccer fields," *Heliyon*, vol. 5, no. 8, aug 2019, doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02334.
- [10] A. McNitt og D. M. Petrunak, "Survival of Staphylococcus aureus on Synthetic Turf," College of Agricultural Sciences, Rapport 2008. [Online]. Hentet fra: <https://plantscience.psu.edu/research/centers/ssrc/documents/staph-survival-on-synthetic-turf.pdf>

- [11] C. Makison og J. Swan, "The Effect of Humidity on the Survival of MRSA on Hard Surfaces," *Indoor and Built Environment*, vol. 15, no. 1, pp. 85-91, 2006, doi: 10.1177/1420326x06062582.
- [12] E. M. Begier, K. Frenette, N. L. Barrett, P. Mshar, S. Petit, D. J. Boxrud, K. Watkins-Colwell, S. Wheeler, E. A. Cebelinski, A. Glennen, D. Nguyen, og J. L. Hadler, "A high-morbidity outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among players on a college football team, facilitated by cosmetic body shaving and turf burns," *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, vol. 39, no. 10, pp. 1446-1453, 2004, doi: 10.1086/425313.
- [13] L. Claudio, "Synthetic Turf: Health Debate Takes Root," *Environmental Health Perspectives*, vol. 116, no. 3, pp. A116-A122, 2008, doi: doi:10.1289/ehp.116-a116.
- [14] A. Cox, "An investigation into whether shockpads & elastic layers and the longevity of football turf surfaces," Labosport International, Rapport LSUK.13-0534, des 2013. [Online]. Hentet fra: <https://www.ntnu.no/documents/11601816/1285177107/LSUK.13-0534+FIFA+Shockpad+Study+Report+01-04-14+%28002%29.pdf/86ebb9e2-daad-476a-baf8-48023ccd44a1>
- [15] SISitches. "The definitive guide to all types of astroturf pitches: 2G, 3G, 4G and beyond." <https://www.sispitches.com/the-definitive-guide-to-all-types-of-astroturf-pitches-2g-3g-4g-and-beyond/> (lastet ned 19.02.20).
- [16] Miljø- og fødevarerministeriet, *Veiledning om kunstgressbaner - Planlegging, drift og avfallshåndtering*, Danmark: Miljøstyrelsen, 2018. [Online]. Hentet fra: [https://www.godeidrettsanlegg.no/system/files/sites/default/files/Annleggstype/Fotballanlegg/Om\\_fotballanlegg/vejledning-om-kunstgraesbaner\\_2018.pdf](https://www.godeidrettsanlegg.no/system/files/sites/default/files/Annleggstype/Fotballanlegg/Om_fotballanlegg/vejledning-om-kunstgraesbaner_2018.pdf).
- [17] L. Gustavsen, "Kunstgressbaner i Vannområde Leira-Nitelva - En undersøkelse av gummigranulat på avveie," Vannområde Leira-Nitelva, Rapport jul 2019. [Online]. Hentet fra: [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)
- [18] W. Anderson og C. Falvey, "Crumb rubber turf wars: the synthetic turf fields investigation," *Defense Counsel Journal*, vol. 83, no. 3, p. 286, 2016. [Online]. Hentet.
- [19] C. Dye, A. Bjerke, N. Schmidbauer, og S. Manø, "Måling av luftforurensning i innendørs kunstgresshaller," Norsk institutt for luftforskning (NILU) Oppdragsrapport, NILU OR 03/2006, 2006. [Online]. Hentet fra: <https://www.nilu.no/wp-content/uploads/dnn/03-2006-cd.pdf>
- [20] S. B. Eriksen, "Kunstgressgummi er en miljøversting. I denne byen har de muligens funnet løsningen." [Online]. Hentet fra:

- <https://www.aftenposten.no/sport/fotball/i/50QEOE/kunstgressgummi-er-en-miljoeversting-i-denne-byen-har-de-muligens-funnet-loesningen>
- [21] Bjørn Aas, Overingeniør ved Senter for idrettsanlegg og teknologi, Personlig kommunikasjon, 07.02.2020.
- [22] A. McNitt, "Synthetic turf in the USA—Trends and issues," *International Turfgrass Society, Research Journal* vol. 10, pp. 27-33, 2005. [Online]. Hentet fra: <https://plantscience.psu.edu/research/centers/ssrc/documents/synthetic-turf-usa.pdf>.
- [23] P. Burillo, L. Gallardo, J. L. Felipe, og A. M. Gallardo, "Artificial turf surfaces: Perception of safety, sporting feature, satisfaction and preference of football users," *European Journal of Sport Science*, vol. 14, no. sup1, pp. S437-S447, 2014, doi: 10.1080/17461391.2012.713005.
- [24] S. P. Tay, P. Fleming, X. Hu, og S. Forrester, "Skin friction related behaviour of artificial turf systems," *Journal of Sports Sciences*, vol. 35, no. 15, pp. 1500-1507, 2017, doi: 10.1080/02640414.2016.1223330.
- [25] E. Heir og O. Habimana. "Farlige bakterier får hjelp til å overleve." Nofima. <https://nofima.no/nyhet/2009/11/farlige-bakterier-faar-hjelp-til-aa-overleve/> (lastet ned 18.02.20).
- [26] Veterinærinstituttet. "Biofilm." <https://www.vetinst.no/fagomrader/biofilm> (lastet ned 27.02.20).
- [27] N. K. Waninger, P. T. Rooney, E. J. Miller, A. J. Berberian, A. A. Fujimoto, og A. B. Buttaro, "Community-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Survival on Artificial Turf Substrates," *Medicine & Science in Sports & Exercise*, vol. 43, no. 5, pp. 779-784, 2011, doi: 10.1249/MSS.0b013e3182006819.
- [28] Christina Gabrielsen Ås, Forsker ved nasjonalt laboratorium for MRSA, St. Olav hospital, Personlig kommunikasjon, 2020.
- [29] T. J. Serensits, A. S. McNitt, og D. M. Petrunak, "Human health issues on synthetic turf in the USA," *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part P: Journal of Sports Engineering and Technology*, vol. 225, no. 3, pp. 139-146, 2011, doi: 10.1177/1754337111398407.
- [30] A. N. Neely og M. P. Maley, "Survival of Enterococci and Staphylococci on Hospital Fabrics and Plastic," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 38, no. 2, pp. 724-726, 2000. [Online]. Hentet fra: <https://jcm.asm.org/content/jcm/38/2/724.full.pdf>.
- [31] A. M. Madsen, S. Moslehi-Jenabian, M. Z. Islam, M. Frankel, M. Spilak, og M. W. Frederiksen, "Concentrations of Staphylococcus species in indoor air as associated with other bacteria, season, relative humidity, air change rate, and S. aureus-positive occupants," *Environmental Research*, vol. 160, pp. 282-291, 2018, doi: 10.1016/j.envres.2017.10.001.

- [32] A. O. A. Ressem, "Ventilasjon av fotballhaller," Master i energibruk og energiplanlegging, Institutt for energi- og prosesseteknikk, Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet, Trondheim, EPT-M-2018-70, 2018.
- [33] K. N. Waninger, T. P. Rooney, J. E. Miller, J. Berberian, A. Fujimoto, og B. A. Buttarò, "Community-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Survival on Artificial Turf Substrates," *Medicine & Science in Sports & Exercise*, vol. 43, no. 5, pp. 779-784, 2011, doi: 10.1249/MSS.0b013e3182006819.
- [34] I. Hanssen-Bauer, E. J. Førland, I. Haddeland, H. Hisdal, S. Mayer, A. Nesje, J. E. Ø. Nilsen, S. Sandven, A. B. Sandø, A. Sorteberg, og B. Ådlandsvik, "Klima i Norge 2100," Meteorologisk institutt, Oppdragsrapport 2016, vol. 2. [Online]. Hentet fra:  
[https://www.met.no/sokeresultat/\\_/attachment/inline/b4e4e9bc-2f08-4be4-ae9-0b06b8b6f908:1760c9f2c4acae80b91f61299dcf9e1187ce81cb/Klima%20i%20Norge%202100\\_opplag2.pdf](https://www.met.no/sokeresultat/_/attachment/inline/b4e4e9bc-2f08-4be4-ae9-0b06b8b6f908:1760c9f2c4acae80b91f61299dcf9e1187ce81cb/Klima%20i%20Norge%202100_opplag2.pdf)
- [35] Miljødirektoratet. "Sur nedbør."  
<https://miljostatus.miljodirektoratet.no/tema/forurensning/sur-nedbor/> (lastet ned 28.04.20).
- [36] C. R. Mahon, D. C. Lehman, og G. Manuselis, *Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6. ed. Elsevier Health Sciences, 2018.
- [37] P. J. Quinn, B. K. Markey, F. C. Leonard, P. Hartigan, S. Fanning, og E. S. Fitzpatrick, *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*, 2. ed. John Wiley & Sons, 2011.
- [38] K. P. Talaro og B. Chess, *Foundations in microbiology*, 8. ed. New York: McGraw-Hill, 2012.
- [39] H. W. Seeley, P. J. Vandemark, og J. J. Lee, *Microbes in action*, 4. ed. United States of America: W. H. Freeman and Company 1991.
- [40] A. Valero, F. Pérez-Rodríguez, E. Carrasco, J. M. Fuentes-Alventosa, R. M. García-Gimeno, og G. Zurera, "Modelling the growth boundaries of Staphylococcus aureus: Effect of temperature, pH and water activity," *International Journal of Food Microbiology*, vol. 133, no. 1, pp. 186-194, 2009, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.023.
- [41] Folkehelseinstituttet. "Generelt om MRSA."  
<https://www.fhi.no/sv/antibiotikaresistens/generelt-om-mrsa/> (lastet ned 10.03.20).
- [42] Oslo universitetssykehus. "MRSA (meticillin-resistente staphylococcus aureus) ved Rikshospitalet." <https://oslo-universitetssykehus.no/behandlinger/mrsa-meticillin-resistente-staphylococcus-aureus> (lastet ned 24.02.20).
- [43] Folkehelseinstituttet og Helsedirektoratet, *MRSA-veilederen*, 2. ed. Oslo: Nasjonalt folkehelseinstitutt, 2009, p. 82. [Online]. Hentet fra:

- <https://www.fhi.no/globalassets/dokumenterfiler/rapporter/2009-og-eldre/mrsa-veilederen.pdf>.
- [44] Folkehelseinstituttet. "Stafylokokkinfeksjoner (inkl. MRSA-infeksjoner) - veileder for helsepersonell." <https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/stafylokokkinfeksjoner-inkl.-mrsa-i/#smittemaate> (lastet ned 10.02.20).
- [45] F. C. Henry og R. D. Frank, "Waves of resistance: Staphylococcus aureus in the antibiotic era," *Nature Reviews Microbiology*, vol. 7, no. 9, p. 629, 2009, doi: 10.1038/nrmicro2200.
- [46] H. Fang og G. Hedin, "Rapid Screening and Identification of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus from Clinical Samples by Selective-Broth and Real-Time PCR Assay," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 41, no. 7, p. 2894, 2003, doi: 10.1128/JCM.41.7.2894-2899.2003.
- [47] H. C. Baggett, T. W. Hennessy, K. Rudolph, D. Bruden, A. Reasonover, A. Parkinson, R. Sparks, R. M. Donlan, P. Martinez, K. Mongkolrattanothai, og J. C. Butler, "Community-onset methicillin-resistant Staphylococcus aureus associated with antibiotic use and the cytotoxin Panton-Valentine leukocidin during a furunculosis outbreak in rural Alaska. (Major Article)(Cover Story)," *Journal of Infectious Diseases*, vol. 189, no. 9, p. 1565, 2004, doi: 10.1086/383247.
- [48] The national Staphylococcus Reference Laboratories in the Nordic countries. "Welcome to the Nordic MRSA website." <http://www.nordicmrsa.org/> (lastet ned 17.02.20).
- [49] A.-M. Rissanen, "Screening for Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA)," no. 1, 01.08.17. [Online]. Hentet fra: [http://www.nordicast.org/d/4545?store\\_referer=true](http://www.nordicast.org/d/4545?store_referer=true)
- [50] N. Abimanyu, A. Krishnan, S. Murugesan, K. Subramanian G, S. Gurumurthy, og P. Krishnan, "Use of Triplex PCR for Rapid Detection of PVL and Differentiation of MRSA from Methicillin Resistant Coagulase Negative Staphylococci," *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, vol. 7, no. 2, p. 215, 2013, doi: 10.7860/JCDR/2013/4523.2731.
- [51] P. Zanger, D. Nurjadi, R. Schleucher, H. Scherbaum, C. Wolz, P. G. Kremsner, og B. Schulte, "Import and Spread of Panton-Valentine Leukocidin-Positive Staphylococcus aureus Through Nasal Carriage and Skin Infections in Travelers Returning From the Tropics and Subtropics," *Clin. Infect. Dis.*, vol. 54, no. 4, pp. 483-492, 2012, doi: 10.1093/cid/cir822.
- [52] D. Harmsen, H. Claus, W. Witte, J. Rothganger, H. Claus, D. Turnwald, og U. Vogel, "Typing of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in a University Hospital Setting by Using Novel Software for spa Repeat Determination and Database Management," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 41, no. 12, p. 5442, 2003, doi: 10.1128/JCM.41.12.5442-5448.2003.



- [53] SigmaAldrich. "22091 Tryptic Soy Agar (Tryptone Soya Agar, TSA, CASO Agar, Soybean Casien digest agar)." <https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma-Aldrich/Datasheet/1/22091dat.pdf> (lastet ned 10.03.20).
- [54] D. P. Kateete, C. N. Kimani, F. A. Katabazi, A. Okeng, M. S. Okee, A. Nanteza, M. L. Joloba, og F. C. Najjuka, "Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test," *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, vol. 9, no. 23, 2010, doi: 10.1186/1476-0711-9-23.
- [55] M. Quiloan, J. Vu, og J. Carvalho, "Enterococcus faecalis can be distinguished from Enterococcus faecium via differential susceptibility to antibiotics and growth and fermentation characteristics on mannitol salt agar," *Selected Publications from Chinese Universities*, vol. 7, no. 2, pp. 167-177, 2012, doi: 10.1007/s11515-012-1183-5.
- [56] R. Buxton. American Society for Microbiology. <https://www.medical-labs.net/staphylococcus-hemolysis-1214/> (lastet ned 04.03.20).
- [57] CHROMagar. "CHROMagar™ MRSA." [http://www.chromagar.com/fichiers/1483454018LF\\_EXT\\_014\\_MR\\_V7.1\\_Siteweb.pdf?PHPSESSID=23bfbff4c8ebc9399848faef90d3d277](http://www.chromagar.com/fichiers/1483454018LF_EXT_014_MR_V7.1_Siteweb.pdf?PHPSESSID=23bfbff4c8ebc9399848faef90d3d277) (lastet ned 24.02.20).
- [58] H. Enger. "Methicillinresistens og glykopeptidresistens hos stafylokokker." St. Olavs hospital. [https://unn.no/Documents/Kompetansetjenester,%20-sentre%20og%20fagr%C3%A5d/K-res%20Nasjonal%20kompetansetjeneste%20for%20p%C3%A5visning%20av%20antibiotikare sistens/Kurs%20-%20Antibakterielle%20resistensmekanismer/2016/201016/20161020\\_KI\\_1235\\_HEnger%20Methicillinresistens%20.pdf](https://unn.no/Documents/Kompetansetjenester,%20-sentre%20og%20fagr%C3%A5d/K-res%20Nasjonal%20kompetansetjeneste%20for%20p%C3%A5visning%20av%20antibiotikare sistens/Kurs%20-%20Antibakterielle%20resistensmekanismer/2016/201016/20161020_KI_1235_HEnger%20Methicillinresistens%20.pdf) (lastet ned 23.02.20).
- [59] M. Ruiz. "Bacterial morphology diagram." [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/69/Bacterial\\_morphology\\_diagram.svg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/69/Bacterial_morphology_diagram.svg) (lastet ned 07.05.20).
- [60] NTNU, "Laboratorieoppgaver i mikrobiologi Våren 2019," Laboratoriehefte, 2019.
- [61] N. O. Bullock og J. Aslanzadeh, *Biochemical profile-based microbial identification systems*. 2013, pp. 87-121.
- [62] NTNU, "Screening-bioremediering," Laboratorieoppgave i Bioteknologi 2, 2019.
- [63] FIFA, *Handbook of Test Methods*, 3. ed.: FIFA Quality Programme for Football Turf, 2015. [Online]. Hentet fra: <https://football-technology.fifa.com/media/1238/fqp-handbook-of-test-methods-2015-v31-w-cover.pdf>.
- [64] "Mannitol salt agar," remel, USA, 2009.
- [65] Bio-Rad, *Pastorex Staph-plus*. Marnes-la-Coquette, Frankrike: Bio Rad, 2018.
- [66] Bio-Rad, *Rabbit plasma, for coagulase test*. Marnes-la-Coquette, Frankrike: Bio-Rad, 2003.

- [67] pro-lab diagnostics. "Rabbit coagulase plasma (for in vitro diagnostic use)." [https://www.pro-lab.com/wp-content/uploads/2017/01/PL850\\_Rabbit-Coagulase-Plasma\\_English.pdf](https://www.pro-lab.com/wp-content/uploads/2017/01/PL850_Rabbit-Coagulase-Plasma_English.pdf) (lastet ned 24.02.20).
- [68] J. E. Rubin, M. K. Bayly, og M. Chirino-Trejo, "Comparison of Dog and Rabbit Plasmas in the Tube Coagulase Test for Staphylococcus Aureus," *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, vol. 22, no. 5, pp. 770-771, 2010, doi: 10.1177/104063871002200521.
- [69] Remel Europe Ltd. "remel Microdase Disk." <https://www.thermofisher.com/document-connect/document-connect.html?url=https%3A%2F%2Fassets.thermofisher.com%2FTFS-Assets%2FLSG%2Fmanuals%2FIFU21132.pdf&title=TWljcm9kYXNIIERpc2s=> (lastet ned 24.02.20).

## Vedleggsliste

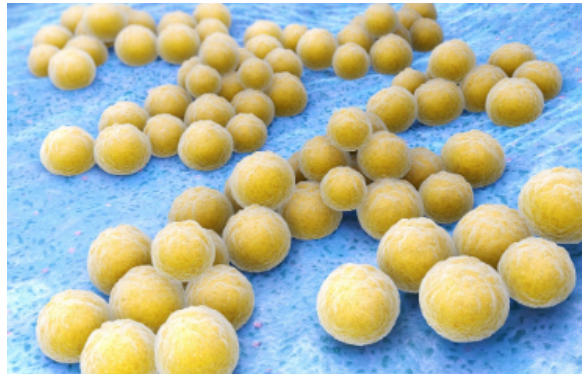
Vedlegg 1 – Populærvitenskapelig artikkel .....	I
-------------------------------------------------	---

## Farlige bakterier på norske kunstgressbaner?

Eline Eikeland og Maria Eikenes Skorpen

*Brannsåret fra fotballtreningen vil ikke gro. Det har blitt rødt og hovent, og banker voldsomt. Noen dager til, tenker du, så blir det bedre. Du har jo fått brannsåret fra trening mange ganger før, og da har det alltid grodd helt fint. Hvorfor skulle det være annerledes denne gangen?*

*Svaret kan være bakterien *Staphylococcus aureus*, illustrert i figur 1.*



Figur 1: *Staphylococcus aureus* kalles en kokk fordi den har en rund form. Bakterien vokser ofte i klaser [6].

### Kort om *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* er en bakterie som finnes på hud og i slimhinner hos mennesker [3]. Bakterien kan gi infeksjoner, for eksempel i et sår, og i sjeldne tilfeller kan bakterien spres til resten av kroppen. Spredning av bakterien kan gi svært alvorlige infeksjoner som betennelse i benvev og en

#### Hva betyr det at *Staphylococcus aureus* er antibiotikaresistent?

Antibiotikaresistens er et annet ord for motstandsdyktighet mot antibiotika. Når antibiotika som meticillin gjenkjenner *Staphylococcus aureus* vil antibiotikumet angripe og ødelegge bakteriecellen. Dersom bakterien er antibiotikaresistent vil antibiotikumet ødelegges av bakterien, eller bakterien vil være «usynlig» for antibiotikumet [4, 5].

lungebetennelse med dødelighet på 50%. Kroppen vil normalt bekjempe infeksjoner på egenhånd, men det kan være nødvendig med en antibiotikabehandling. Økt bruk av antibiotika har ført til at enkelte typer av *Staphylococcus aureus* har utviklet resistens mot antibiotika, kalt meticillin-resistent *Staphylococcus aureus* (MRSA) [9]. Norge har en av de laveste forekomstene av MRSA i verden, sammenlignet med andre land som overvåker bakterien. Likevel har det vært en økning av antall MRSA-tilfeller i Norge fra 1997 til 2016 [10], trolig som et resultat av økt reisevirksomhet [11]. I de senere årene har forekomsten derimot stabilisert seg [4].

## Hvorfor finnes det bakterier på kunstgress?

Ved aktivitet på en kunstgressbane kan organiske komponenter som svette, snørr, blod, hudceller og hår overføres fra brukerne til kunstgresset, og utgjøre en forurensende faktor [12]. De organiske komponentene inneholder bakterier og gir grunnlag for dannelse av biofilm [3]. I denne undersøkelsen ble antall bakterier målt i prøver hentet fra en innendørs kunstgressbane som jevnlig er i bruk, og en ubrukt kunstgressflate. Resultatet tyder på at det skjer en

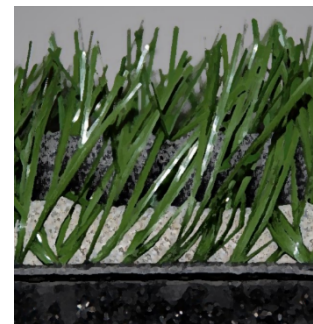
### Hva er biofilm?

Biofilm er bakterier festet til en overflate eller i hverandre, omgitt av et lag av slim kalt matriks. Strukturen beskytter bakteriene, blant annet mot uttørking og UV-stråling [1-3].

bakterieoverføring til kunstgressbanen som jevnlig er i bruk. Bakterier kan smitte til brukerne ved kontakt med kunstgresset, eller mellom brukerne ved nærkontakt, som fotballspillere i duell [13]. Spill på kunstgress forårsaker oftere sår på huden sammenlignet med naturgress, som følge av skarpe kunstgressfibre. Sykdomsfremkallende bakterier som *Staphylococcus aureus* på kunstgress kan infisere slike sår [14].

## Hva påvirker veksten av *Staphylococcus aureus* på kunstgress?

En faktor som påvirker veksten av *Staphylococcus aureus* er type fyllmateriale [15, 16]. Fyllmaterialet gir demping og grep, og er plassert mellom kunstgressfibre for å holde fibrene oppreist slik figur 2 illustrerer [17]. Styren-butadien gummigranulat (SBR-granulat) er laget av oppmalte bildekk, og er svarte gummiknotter som finnes på mange



Figur 2: Kunstgressfibre støttes opp av fyllmaterialet

### Miljøaspektet rundt SBR-granulat

SBR-granulat utgjør den nest største kilden til spredning av mikroplast i norsk natur, og mye tyder på at det hvert år forsvinner totalt over 1.5 tonn gummigranulat fra norske kunstgressbaner [7].

kunstgressbaner [17, 18]. De inneholder kjemiske forbindelser som sink og svovel, som er giftige for bakterier som *Staphylococcus aureus* [15, 19]. Organiske fyllmaterialer som kork, kokosfiber og knuste olivenkjerner inneholder ikke slike giftige forbindelser [17], og det kan derfor tenkes at organiske fyllmaterialer gir en bedre grobunn for bakterier sammenlignet med SBR-granulat.

Andre faktorer som påvirker veksten av *Staphylococcus aureus* på utendørs kunstgressbaner er høy temperatur og UV-stråling, som betegnes som svært desinfiserende [19]. Ulike verdier for luftfuktighet og CO<sub>2</sub>-konsentrasjon er også av betydning [9, 16]. Utendørsbaner utsettes for forurensinger som bakterier, sekreter og løv, fra dyr, nedbør og miljøet rundt [20]. For å fjerne forurensninger på kunstgressbaner innen- og utendørs utføres det regelmessig dyprens [18]. Dyprens fjerner sannsynligvis noen bakterier fra kunstgresset, men fjernes alle?

## Referanser

- [1] Veterinærinstituttet. "Biofilm." <https://www.vetinst.no/fagomrader/biofilm> (lastet ned 27.02.20).
- [2] K. N. Waninger, T. P. Rooney, J. E. Miller, J. Berberian, A. Fujimoto, og B. A. Buttaro, "Community-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Survival on Artificial Turf Substrates," *Medicine & Science in Sports & Exercise*, vol. 43, no. 5, pp. 779-784, 2011, doi: 10.1249/MSS.0b013e3182006819.
- [3] K. P. Talaro og B. Chess, *Foundations in microbiology*, 9. ed. New York: McGraw-Hill, 2015.
- [4] Christina Gabrielsen Ås, Forsker ved nasjonalt laboratorium for MRSA, St. Olav hospital, Personlig kommunikasjon, 2020.
- [5] F. C. Henry og R. D. Frank, "Waves of resistance: Staphylococcus aureus in the antibiotic era," *Nature Reviews Microbiology*, vol. 7, no. 9, p. 629, 2009, doi: 10.1038/nrmicro2200.
- [6] Folkehelseinstituttet. "Generelt om MRSA." <https://www.fhi.no/sv/antibiotikaresistens/generelt-om-mrsa/> (lastet ned 10.03.20).
- [7] Miljødirektoratet. "Kunstgressbaner - forslag til skjerpet regelverk." <https://www.miljodirektoratet.no/aktuelt/nyheter/2019/juli-2019/kunstgressbaner---forslag-til-skjerpet-regelverk/> (lastet ned 20.02.20).
- [8] A. Cox, "An investigation into whether shockpads & elastic layers and the longevity of football turf surfaces," Labosport International, Rapport LSUK.13-0534, des 2013. [Online]. Hentet fra: <https://www.ntnu.no/documents/11601816/1285177107/LSUK.13-0534+FIFA+Shockpad+Study+Report+01-04-14+%28002%29.pdf/86ebb9e2-daad-476a-baf8-48023ccd44a1>
- [9] K. P. Talaro og B. Chess, *Foundations in microbiology*, 8. ed. New York: McGraw-Hill, 2012.
- [10] The national Staphylococcus Reference Laboratories in the Nordic countries. "Welcome to the Nordic MRSA website." <http://www.nordicmrna.org/> (lastet ned 17.02.20).
- [11] Folkehelseinstituttet. "Stafylokokkinfeksjoner (inkl. MRSA-infeksjoner) - veileder for helsepersonell." <https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/stafylokokkinfeksjoner-inkl.-mrna-i/#smittemaate> (lastet ned 10.02.20).
- [12] TeBe Sport AS. "Dyprens av 9'er kunstgressbane." <https://www.tebe-sport.no/product/dyprens-av-9er-kunstgressbane/> (lastet ned 02.03.20).
- [13] T. J. Serensits, A. S. McNitt, og D. M. Petrunak, "Human health issues on synthetic turf in the USA," *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part P: Journal of Sports*

- Engineering and Technology*, vol. 225, no. 3, pp. 139-146, 2011, doi:  
10.1177/1754337111398407.
- [14] S. P. Tay, P. Fleming, X. Hu, og S. Forrester, "Skin friction related behaviour of artificial turf systems," *Journal of Sports Sciences*, vol. 35, no. 15, pp. 1500-1507, 2017, doi:  
10.1080/02640414.2016.1223330.
- [15] E. Denly, K. Rutowski, og K. M. Vetrano, "A review of the potential health and safety risks from synthetic turf fields containing crumb rubber infill " New York City Department of Health and Mental Hygiene, Oppdragsrapport 2008. [Online]. Hentet fra:  
[https://www1.nyc.gov/assets/doh/downloads/pdf/eode/turf\\_report\\_05-08.pdf](https://www1.nyc.gov/assets/doh/downloads/pdf/eode/turf_report_05-08.pdf)
- [16] C. Makison og J. Swan, "The Effect of Humidity on the Survival of MRSA on Hard Surfaces," *Indoor and Built Environment*, vol. 15, no. 1, pp. 85-91, 2006, doi:  
10.1177/1420326x06062582.
- [17] B. Bauer, K. Egebæk, og A. K. Aare, "Environmentally friendly substitute products for rubber granulates as infill for artificial turf fields," PlanMiljø ApS, Miljødirektoratet, Oppdragsrapport 2017. [Online]. Hentet fra:  
<https://www.miljodirektoratet.no/globalassets/publikasjoner/m955/m955.pdf>
- [18] Norges Fotballforbund og Kulturdepartementet, *Kunstgressboka*, 2. ed. Oslo: Kulturdepartementet, 2015. [Online]. Hentet fra:  
[https://www.regjeringen.no/contentassets/99ad796eef4a688d9fb93f2c22ed83/v-0975b-veileder\\_kunstgress\\_2015.pdf](https://www.regjeringen.no/contentassets/99ad796eef4a688d9fb93f2c22ed83/v-0975b-veileder_kunstgress_2015.pdf).
- [19] A. McNitt og D. M. Petrunak, "Survival of Staphylococcus aureus on Synthetic Turf," College of Agricultural Sciences, Rapport 2008. [Online]. Hentet fra:  
<https://plantscience.psu.edu/research/centers/ssrc/documents/staph-survival-on-synthetic-turf.pdf>
- [20] F. Valeriani, L. M. Margarucci, G. Gianfranceschi, A. Ciccarelli, F. Tajani, N. Mucci, M. Ripani, og V. R. Spica, "Artificial-turf surfaces for sport and recreational activities: microbiota analysis and 16S sequencing signature of synthetic vs natural soccer fields," *Heliyon*, vol. 5, no. 8, aug 2019, doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02334.