

**NORME
INTERNATIONALE
INTERNATIONAL
STANDARD**

**CEI
IEC**

68-2-10

Cinquième édition
Fifth edition
1988

**Essais fondamentaux climatiques
et de robustesse mécanique**

Partie 2:

Essais – Essai J et guide: Moisissures

Basic environmental testing procedures

Part 2:

Tests – Test J and guidance: mould growth



Numéro de référence
Reference number
CEI/IEC 68-2-10: 1988

Validité de la présente publication

Le contenu technique des publications de la CEI est constamment revu par la CEI afin qu'il reflète l'état actuel de la technique.

Des renseignements relatifs à la date de reconfirmation de la publication sont disponibles auprès du Bureau Central de la CEI.

Les renseignements relatifs à ces révisions, à l'établissement des éditions révisées et aux amendements peuvent être obtenus auprès des Comités nationaux de la CEI et dans les documents ci-dessous:

- **Bulletin de la CEI**
- **Annuaire de la CEI**
Publié annuellement
- **Catalogue des publications de la CEI**
Publié annuellement et mis à jour régulièrement

Terminologie

En ce qui concerne la terminologie générale, le lecteur se reportera à la CEI 50: *Vocabulaire Electrotechnique International* (VEI), qui se présente sous forme de chapitres séparés traitant chacun d'un sujet défini. Des détails complets sur le VEI peuvent être obtenus sur demande. Voir également le dictionnaire multilingue de la CEI.

Les termes et définitions figurant dans la présente publication ont été soit tirés du VEI, soit spécifiquement approuvés aux fins de cette publication.

Symboles graphiques et littéraux

Pour les symboles graphiques, les symboles littéraux et les signes d'usage général approuvés par la CEI, le lecteur consultera:

- la CEI 27: *Symboles littéraux à utiliser en électro-technique;*
- la CEI 417: *Symboles graphiques utilisables sur le matériel. Index, relevé et compilation des feuilles individuelles;*
- la CEI 617: *Symboles graphiques pour schémas;*

et pour les appareils électromédicaux,

- la CEI 878: *Symboles graphiques pour équipements électriques en pratique médicale.*

Les symboles et signes contenus dans la présente publication ont été soit tirés de la CEI 27, de la CEI 417, de la CEI 617 et/ou de la CEI 878, soit spécifiquement approuvés aux fins de cette publication.

Publications de la CEI établies par le même comité d'études

L'attention du lecteur est attirée sur les listes figurant à la fin de cette publication, qui énumèrent les publications de la CEI préparées par le comité d'études qui a établi la présente publication.

Validity of this publication

The technical content of IEC publications is kept under constant review by the IEC, thus ensuring that the content reflects current technology.

Information relating to the date of the reconfirmation of the publication is available from the IEC Central Office.

Information on the revision work, the issue of revised editions and amendments may be obtained from IEC National Committees and from the following IEC sources:

- **IEC Bulletin**
- **IEC Yearbook**
Published yearly
- **Catalogue of IEC publications**
Published yearly with regular updates

Terminology

For general terminology, readers are referred to IEC 50: *International Electrotechnical Vocabulary* (IEV), which is issued in the form of separate chapters each dealing with a specific field. Full details of the IEV will be supplied on request. See also the IEC Multilingual Dictionary.

The terms and definitions contained in the present publication have either been taken from the IEV or have been specifically approved for the purpose of this publication.

Graphical and letter symbols

For graphical symbols, and letter symbols and signs approved by the IEC for general use, readers are referred to publications:

- IEC 27: *Letter symbols to be used in electrical technology;*
- IEC 417: *Graphical symbols for use on equipment. Index, survey and compilation of the single sheets;*
- IEC 617: *Graphical symbols for diagrams;*

and for medical electrical equipment,

- IEC 878: *Graphical symbols for electromedical equipment in medical practice.*

The symbols and signs contained in the present publication have either been taken from IEC 27, IEC 417, IEC 617 and/or IEC 878, or have been specifically approved for the purpose of this publication.

IEC publications prepared by the same technical committee

The attention of readers is drawn to the end pages of this publication which list the IEC publications issued by the technical committee which has prepared the present publication.

**NORME
INTERNATIONALE**

**CEI
IEC**

**INTERNATIONAL
STANDARD**

68-2-10

Cinquième édition
Fifth edition
1988

**Essais fondamentaux climatiques
et de robustesse mécanique**

Partie 2:

Essais – Essai J et guide: Moisissures

Basic environmental testing procedures

Part 2:

Tests – Test J and guidance: mould growth

© CEI 1988 Droits de reproduction réservés — Copyright - all rights reserved

Aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'éditeur.

No part of this publication may be reproduced or utilized in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying and microfilm, without permission in writing from the publisher

Bureau central de la Commission Electrotechnique Internationale 3, rue de Varembe Genève Suisse



Commission Electrotechnique Internationale
International Electrotechnical Commission
Международная Электротехническая Комиссия

CODE PRIX
PRICE CODE

T

● Pour prix, voir catalogue en vigueur
For price, see current catalogue

SOMMAIRE

	Pages
PRÉAMBULE	4
PRÉFACE	4
Articles	
1. Généralités	6
2. Risques auxquels est exposée la santé des investigateurs	8
3. Domaine d'application	8
4. Réactifs et matériaux	8
5. Description de l'appareillage d'essai	12
6. Sévérités	14
7. Examen initial	14
8. Préconditionnement	14
9. Epreuve	16
10. Examen final	18
11. Renseignements à fournir dans la spécification particulière	20
ANNEXE A — Dangers encourus par le personnel	22
ANNEXE B — Méthodes d'inoculation	26
ANNEXE C — Mesures de sécurité recommandées	28
ANNEXE D — Procédures de décontamination	32
ANNEXE E — Diagramme du déroulement	34
ANNEXE F — Guide	36

CONTENTS

	Page
FOREWORD	5
PREFACE	5
Clause	
1. General	7
2. Health hazards to operators	9
3. Scope	9
4. Reagents and materials	9
5. Description of test apparatus	13
6. Severities	15
7. Initial examination	15
8. Pre-conditioning	15
9. Conditioning	17
10. Final examination	19
11. Information to be given in the relevant specification	21
APPENDIX A — Danger to personnel	23
APPENDIX B — Inoculation methods	27
APPENDIX C — Recommended safety precautions	29
APPENDIX D — Decontamination procedures	33
APPENDIX E — Flow-chart	35
APPENDIX F — Guidance	37

COMMISSION ÉLECTROTECHNIQUE INTERNATIONALE

**ESSAIS FONDAMENTAUX CLIMATIQUES
ET DE ROBUSTESSE MÉCANIQUE**

Deuxième partie: Essais — Essai J et guide: Moisissures

PRÉAMBULE

- 1) Les décisions ou accords officiels de la C E I en ce qui concerne les questions techniques, préparés par des Comités d'Etudes où sont représentés tous les Comités nationaux s'intéressant à ces questions, expriment dans la plus grande mesure possible un accord international sur les sujets examinés.
- 2) Ces décisions constituent des recommandations internationales et sont agréées comme telles par les Comités nationaux.
- 3) Dans le but d'encourager l'unification internationale, la C E I exprime le vœu que tous les Comités nationaux adoptent dans leurs règles nationales le texte de la recommandation de la C E I, dans la mesure où les conditions nationales le permettent. Toute divergence entre la recommandation de la C E I et la règle nationale correspondante doit, dans la mesure du possible, être indiquée en termes clairs dans cette dernière.

PRÉFACE

La présente norme a été établie par le Sous-Comité 50B: Essais climatiques, du Comité d'Etudes n° 50 de la C E I: Essais climatiques et mécaniques.

Cette cinquième édition annule et remplace la quatrième édition (1984) de l'essai J: Moisissures.

Le texte de cette norme est issu des documents suivants:

Règle des Six Mois	Rapports de vote
50B(BC)251 50B(BC)263	50B(BC)257 50B(BC)265

Les rapports de vote indiqués dans le tableau ci-dessus donnent toute information sur le vote ayant abouti à l'approbation de cette norme.

INTERNATIONAL ELECTROTECHNICAL COMMISSION

BASIC ENVIRONMENTAL TESTING PROCEDURES

Part 2: Tests — Test J and guidance: Mould growth

FOREWORD

- 1) The formal decisions or agreements of the I E C on technical matters, prepared by Technical Committees on which all the National Committees having a special interest therein are represented, express, as nearly as possible, an international consensus of opinion on the subjects dealt with.
- 2) They have the form of recommendations for international use and they are accepted by the National Committees in that sense.
- 3) In order to promote international unification, the I E C expresses the wish that all National Committees should adopt the text of the I E C recommendation for their national rules in so far as national conditions will permit. Any divergence between the I E C recommendation and the corresponding national rules should, as far as possible, be clearly indicated in the latter.

PREFACE

This standard has been prepared by Sub-Committee 50B: Climatic tests, of I E C Technical Committee No. 50: Environmental testing.

This fifth edition supersedes the fourth edition (1984) of Test J: Mould growth.

The text of this standard is based upon the following documents:

Six Months' Rule	Reports on Voting
50B(CO)251 50B(CO)263	50B(CO)257 50B(CO)265

Full information on the voting for the approval of this standard can be found in the Voting Reports indicated in the above table.

ESSAIS FONDAMENTAUX CLIMATIQUES ET DE ROBUSTESSE MÉCANIQUE

Deuxième partie : Essais — Essai J et guide : Moisissures

1. Généralités

- 1.1 Cet essai a pour but d'inoculer des spécimens assemblés, avec une sélection de spores de moisissures. Cette inoculation sera suivie d'une période d'incubation dans des conditions favorables à la germination de spores et à la croissance de moisissures.

Deux variantes d'essai sont proposées. La variante 1 préconise une inoculation directe du spécimen avec des spores de moisissures, tandis que la variante 2 prescrit le préconditionnement des spécimens d'essai dans une solution nutritive qui entretient la croissance de moisissures.

- 1.2 Cet essai peut être effectué en vue d'évaluer l'importance de la croissance de spores de champignons et/ou de mettre en évidence une altération possible du fonctionnement des spécimens assemblés, quand ces derniers sont appelés à être utilisés dans des régions où le vent transporte des spores de moisissures, et dans un climat qui favorise la croissance de ces moisissures.
- 1.3 De façon à évaluer la vulnérabilité des matériaux de construction à une attaque par les moisissures, il est conseillé d'entreprendre des essais mycologiques à procédures bien définies, et de n'utiliser que des matériaux peu ou pas attaqués.
- 1.4 Les spécimens assemblés qui ne sont pas appelés à fonctionner dans des conditions propices à la croissance de moisissures peuvent avoir à être stockés ou transportés dans un endroit où un risque de contamination peut se produire. Dans ces cas aussi, cet essai sera utile.
- 1.5 Les spécimens assemblés peuvent se couvrir d'une contamination de surface sous forme de poussières, d'éclaboussures, de dépôts nutritifs ou de graisses volatiles condensées. Cela peut être causé par l'exposition à l'air des matériels lors de leur stockage, de leur utilisation ou de leur transport, ainsi que par leur manipulation sans couverture protectrice. Cette contamination de surface peut être responsable de la formation d'importantes colonies fongueuses qui risquent de continuer à croître et de provoquer des dégâts considérables. Une évaluation des effets d'une telle contamination peut être obtenue par l'application de la variante d'essai 2.
- 1.6 Si des spécimens assemblés sont protégés d'une telle contamination, il n'est pas nécessaire qu'ils aient l'aptitude à résister aux procédures contraignantes de cet essai, même s'ils fonctionnent dans une région où les spores sont abondantes.
- 1.7 En raison des difficultés inhérentes au maintien des conditions requises dans une très grande étuve, un matériel composite de taille importante sera généralement essayé élément par élément. Le prix de l'essai s'en trouvera ainsi diminué, car plusieurs éléments peuvent avoir une construction tellement similaire qu'il ne sera nécessaire d'en essayer qu'un seul.

BASIC ENVIRONMENTAL TESTING PROCEDURES

Part 2 : Tests — Test J and guidance : Mould growth

1. General

- 1.1 This test covers the inoculation of assembled specimens with a selection of mould spores followed by a period of incubation under conditions which promote spore germination and the growth of mould.

Two variations of the test are given. Variant 1 specifies direct inoculation of the specimen with the mould spores whereas variant 2 specifies the pre-conditioning of the test specimen with nutrients which support mould growth.

- 1.2 When assembled, specimens must operate where they will be exposed to airborne mould spores, and where climatic conditions will be conducive to the growth of moulds; this test procedure may be used to assess the extent to which mould will grow and/or the operational deterioration which may be expected from this source.
- 1.3 It is advisable to use established mycological testing procedures to assess the vulnerability to damage by mould contamination of the constructional materials used, and to use only materials which are immune from serious attack.
- 1.4 Assembled specimens which do not have to operate under conditions of exposure to mould spores may have to be stored or transported where a temporary exposure is experienced, and in these cases also the test procedure will be found useful.
- 1.5 Surface contamination in the form of dusts, splashes, condensed volatile nutrients or grease may be deposited upon assembled specimens. This can be brought about by storage and use or transport with the assembled specimens exposed to the atmosphere or handled without protective covering. This surface contamination can cause an increased colonization by fungi and may lead to greater growth and damage. An assessment of the effect of such contamination can be given by the application of test variant 2.
- 1.6 Where assembled specimens will be protected from such exposure, even though operating in a region where mould spores are abundant, ability to withstand the severe procedure of this test is not necessary.
- 1.7 Due to the difficulty of maintaining the necessary conditions in a very large chamber, a large composite equipment will normally be tested as a number of sub-units. This will in any case minimize the cost of the test since several sub-units may be so similar in construction that only one of them need be tested.

2. Risques auxquels est exposée la santé des investigateurs

- 2.1 Des spores de moisissures viables sont requises pour cette procédure d'essai, et les conditions ambiantes doivent favoriser la croissance de moisissures.
- 2.2 En conséquence, il est essentiel d'étudier les annexes contenues dans la présente norme avant de manipuler les cultures de moisissures ou d'entreprendre les phases de l'essai décrites ultérieurement.

Référence : Annexe A — Dangers encourus par le personnel.
Annexe B — Méthodes d'inoculation.
Annexe C — Mesures de sécurité recommandées.
Annexe D — Procédures de décontamination.

3. Domaine d'application

Cet essai a pour but d'évaluer les causes imprévues de détérioration des spécimens assemblés, qu'ils soient ou non construits avec des matériaux résistant aux moisissures, par l'application de la variante d'essai 1 et/ou de la variante d'essai 2 et de la sévérité requise, prescrites par la spécification particulière.

- a) Variante d'essai 1 : consiste à évaluer l'importance de la croissance des moisissures après 28 jours d'incubation ainsi que toute détérioration physique causée par ces moisissures, et, si prescrit par la spécification particulière, l'effet de détérioration sur le fonctionnement du spécimen sera également déterminé après une incubation portée à un maximum de 84 jours.
- b) Variante d'essai 2 : consiste à évaluer l'importance de la croissance des moisissures après 28 jours d'incubation faisant suite à une contamination simulée dans une solution nutritive. Toute détérioration physique causée par ces moisissures sera également déterminée, ainsi que l'effet de détérioration sur le fonctionnement du spécimen.

La spécification particulière doit mentionner la variante d'essai et l'épreuve requises.

4. Réactifs et matériaux

4.1 Fourniture et état des cultures ou spores

- 4.1.1 Les cultures suivantes doivent être utilisées pour réaliser l'essai. La nature de l'attaque que l'on peut attribuer à chaque culture est indiquée à titre indicatif, mais toutes les souches sont utilisées ensemble, quelle que soit la nature du spécimen.

Le centre de recherches qui fournit ces cultures ou spores en vue de l'essai doit certifier qu'elles répondent à la spécification.

- 4.1.2 Les cultures fournies par un organisme officiel de recherche mycologique, doivent être livrées dans des boîtes adéquates. La date de l'ensemencement doit être indiquée sur les boîtes.

- 4.1.3 Les cultures et les spores lyophilisées doivent être manipulées et stockées conformément aux recommandations de l'organisme fournisseur. Ces recommandations doivent spécifier que la date de l'ensemencement est à indiquer sur les boîtes de cultures préparées par l'utilisateur à partir des spores lyophilisées.

2. Health hazards to operators

- 2.1 This test procedure requires the use of viable mould spores and the provision of ambient conditions which promote mould growth.
- 2.2 Therefore before any attempt is made to handle mould cultures, or to carry out steps of the test subsequently described, it is important that the appendices of this standard be studied.

Reference : Appendix A — Danger to personnel.
Appendix B — Inoculation methods.
Appendix C — Recommended safety precautions.
Appendix D — Decontamination procedures.

3. Scope

To investigate unforeseen causes of deterioration in assembled specimens, whether or not constructed from mould-resistant materials by the application of test variant 1 and/or test variant 2 using the required severity given in the relevant specification.

- a) Test variant 1 : by assessing the extent of mould growth after 28 days' incubation and any physical damage caused thereby, and if required by the relevant specification, by checking the effect on functioning of the specimen after incubation extended to a total of 84 days.
- b) Test variant 2 : by assessing the extent of mould growth after 28 days' incubation following quasi-contamination with nutrients and any physical damage caused thereby, and by checking the effect on the functioning of the specimen.

The relevant specification shall state the required test variant and severity.

4. Reagents and materials

4.1 *Cultures or spores — Supply and condition*

- 4.1.1 The following cultures shall be used for performing the test. The nature of the attack to be expected from each culture is indicated for guidance, but all spores are used together, whatever the nature of the specimen.

The research centre supplying these cultures or spores for test purposes shall certify that they are as specified.

- 4.1.2 Cultures from a recognized mycological research centre shall be supplied in suitable containers with the date of seeding thereon.
- 4.1.3 Cultures and freeze-dried spores shall be handled and stored in accordance with the recommendations of the supplier. These recommendations shall require the date of seeding to be marked on the containers of cultures prepared by the user from freeze-dried spores.

N°	Souche	Origine	Culture typique (à titre indicatif seulement)	Caractéristiques
1	<i>Aspergillus niger</i>	V. Tieghem	ATCC, 6275	Se développe abondamment sur beaucoup de matériaux et résiste aux sels de cuivre
2	<i>Aspergillus terreus</i>	Thom.	PQMD, 82j	Attaque les matières plastiques
3	<i>Aureobasidium pullulans</i>	(De Barry) Arnaud	ATCC, 9348	Attaque les peintures et les vernis
4	<i>Pœcilomyces variotii</i>	Bainier	IAM, 5001	Attaque les plastiques et les cuirs
5	<i>Penicillium funiculosum</i>	Thom.	IAM, 7013	Attaque de nombreux matériaux, en particulier les textiles
6	<i>Penicillium ochrochloron</i>	Biourge	ATCC, 9112	Résiste aux sels de cuivre et attaque les plastiques et les textiles
7	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	(Sacc.) Bain Var. Glabra Thom.	IAM, 5146	Attaque le caoutchouc
8	<i>Trichoderma viride</i>	Pers. Ex. Fr.	IAM, 5061	Attaque les textiles à base de cellulose et les plastiques

4.1.4 Les cultures doivent être utilisées pour la préparation de la suspension d'essai après avoir été exposées à la température ambiante pendant une durée qui ne sera pas inférieure à 14 jours ni supérieure à 28 jours, à partir de la date de l'ensemencement indiquée sur la boîte.

4.1.5 Si les cultures ne sont pas appelées à être utilisées immédiatement, elles doivent être stockées dans un réfrigérateur à une température comprise entre 5 °C et 10 °C pendant une période ininterrompue ne dépassant pas six semaines. Les cultures utilisées pour préparer la suspension doivent avoir au moins 14 jours et pas plus de 28 jours à partir de la date de l'ensemencement indiquée sur la boîte.

4.1.6 Les bouchons ne doivent être retirés qu'au moment de la préparation de la suspension, et une seule suspension doit être effectuée à partir d'une boîte ouverte. Une boîte différente non ouverte doit être utilisée pour chacune des dilutions de suspensions exécutées postérieurement.

Note. — Les mesures de sécurité à prendre pour la réalisation des procédures d'essai suivantes sont indiquées dans l'annexe C.

4.2 Préparation des suspensions de moisissures

4.2.1 La suspension est d'abord préparée dans de l'eau distillée à laquelle on aura ajouté 0,05% d'un agent mouillant. On pourra utiliser un agent à base de N-méthyl-taurine ou de dioctyl-sodium-sulfosuccinate. L'agent mouillant ne doit pas contenir de substances susceptibles de stimuler ou d'inhiber la croissance des moisissures.

4.2.2 Dix millilitres du mélange eau/agent mouillant sont versés doucement dans chaque culture. Un fil de platine ou de nichrome est stérilisé par chauffage au rouge dans une flamme, puis refroidi. Ce fil est alors utilisé pour gratter légèrement la surface de la culture de façon à libérer les spores. Le liquide est agité doucement pour disperser les spores sans détacher les fragments mycéliens. La suspension est ensuite transvasée lentement dans un flacon dans lequel sont réunies toutes les suspensions individuelles.

4.2.3 Le flacon est alors secoué vigoureusement pour mélanger les huit extraits de spores et disperser les groupes de spores. La suspension doit être laissée sur place pendant au moins 30 min puis filtrée de façon à retirer les fragments mycéliens, les morceaux d'agar et les groupes de spores : des papiers-filtres celluloseux de bonne qualité et à écoulement rapide se sont révélés appropriés.

No.	Name	Strain	Typical culture (for guidance only)	Nature
1	<i>Aspergillus niger</i>	V. Tieghem	ATCC, 6275	Grows profusely on many materials and is resistant to copper salts
2	<i>Aspergillus terreus</i>	Thom.	PQMD, 82j	Attacks plastic materials
3	<i>Aureobasidium pullulans</i>	(De Barry) Arnaud	ATCC, 9348	Attacks paints and lacquers
4	<i>Paecilomyces variotii</i>	Bainier	IAM, 5001	Attacks plastics and leather
5	<i>Penicillium funiculosum</i>	Thom.	IAM, 7013	Attacks many materials especially textiles
6	<i>Penicillium ochrochloron</i>	Biourge	ATCC, 9112	Resistant to copper salts and attacks plastics and textiles
7	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	(Sacc.) Bain Var. Glabra Thom.	IAM, 5146	Attacks rubber
8	<i>Trichoderma viride</i>	Pers. Ex. Fr.	IAM, 5061	Attacks cellulose textiles and plastics

4.1.4 The cultures shall be used for preparing the test suspension when they have been exposed to room temperature for a period of not less than 14 days and not more than 28 days from the date of seeding marked on the container.

4.1.5 If the cultures are not for immediate use, they shall be stored in a refrigerator at a temperature between 5 °C and 10 °C, for a continuous period of not more than six weeks commencing not earlier than 14 days and not later than 28 days from the date of seeding given on the container.

4.1.6 The closures shall not be removed until the mould suspension is about to be made, and only one suspension shall be made from the opened container. A fresh container shall be used for each batch of suspensions made.

Note. — See Appendix C for recommended safe method of carrying out the subsequent test procedures.

4.2 *Preparation of mould suspensions*

4.2.1 The suspension shall first be prepared in distilled water, to which has been added 0.05% of a wetting agent. An agent based on N-methyl taurine or on dioctyl sodium sulphosuccinate has been found to be suitable. The wetting agent shall not contain substances which support or inhibit mould growth.

4.2.2 Ten millilitres of the water containing the wetting agent is added gently to each culture. A platinum or nichrome wire is sterilized by heating to red heat in a flame and allowed to cool. This wire is then used to scrape gently the surface of the culture to liberate spores. The liquid is slightly agitated to disperse the spores without detaching mycelial fragments, and the suspension is then gently decanted into a flask in which all separate suspensions are collected.

4.2.3 The flask is then shaken vigorously to mix the eight spore extracts thoroughly and break up any clumps of spores. The suspension shall be left to stand for at least 30 min and then filtered to remove mycelial fragments, lumps of agar and clumps of spores : good quality, fast flow, cellulose filter papers have been found suitable.

4.2.4 La suspension de spores filtrée est ensuite centrifugée, et le liquide surnageant est rejeté. Le résidu est remis en suspension dans 50 ml d'eau distillée et est centrifugé à nouveau. Les spores sont lavées de cette manière trois fois de suite. Le résidu lavé final est dilué selon les spécifications qui suivent.

4.2.4.1 Variante d'essai 1 : Diluer le résidu final dans 100 ml d'eau distillée.

4.2.4.2 Variante d'essai 2 : Au cas où les spécimens doivent être préconditionnés avant l'inoculation par pulvérisation, comme indiqué à l'article 8, le résidu final doit être dilué dans 100 ml d'eau distillée.

Si les spécimens sont appelés à être inoculés par badigeonnage ou par immersion, la suspension peut être préparée à partir de la solution nutritive indiquée au paragraphe 4.3.2 au lieu de l'eau distillée.

Si une suspension de spores diluée dans une solution nutritive est utilisée pour l'inoculation, la procédure de préconditionnement indiquée à l'article 8 est omise.

4.2.5 La suspension peut être diluée dans de l'eau distillée ou dans une solution nutritive, suivant indication, jusqu'à un volume maximal de 500 ml. Elle doit être utilisée le jour même de sa préparation.

4.3 Bandes de contrôle

4.3.1 Les bandes de contrôle nécessaires à cet essai consisteront en des bandes de papier-filtre blanc stérilisé ou en tissu de coton non traité.

4.3.2 La solution nutritive nécessaire à la préparation des bandes de contrôle consistera en une solution des réactifs suivants dans de l'eau distillée. Elle sera utilisée le jour même de sa préparation. Les quantités indiquées sont données pour 1 litre d'eau.

— Orthophosphate dihydrogéné de potassium (KH_2PO_4)	0,7 g
— Orthophosphate monohydrogéné de potassium (K_2HPO_4)	0,3 g
— Sulfate de magnésium ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,5 g
— Nitrate de sodium (NaNO_3)	2,0 g
— Chlorure de potassium (KCl)	0,5 g
— Sulfate ferreux ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,01 g
— Sucrose (saccharose)	30,00 g

4.3.3 Les bandes seront placées dans des coupelles et couvertes de la solution nutritive. Elles seront retirées de cette solution et égouttées immédiatement avant l'utilisation.

4.3.4 Les bandes de contrôle doivent être préparées le jour même de leur utilisation pour l'essai.

5. Description de l'appareillage d'essai

5.1 Spécimens de petites dimensions

5.1.1 On utilisera des récipients de verre ou de plastique munis de couvercles à fermeture hermétique. Ces récipients doivent être pourvus des moyens nécessaires pour le montage des spécimens.

4.2.4 Centrifuge the filtered spore suspension and discard the supernatant liquid. Resuspend the residue in 50 ml of distilled water and centrifuge again. Wash the spores in this manner three times. Dilute the final washed residue in accordance with the following requirements.

4.2.4.1 Test variant 1 : Dilute the final residue in 100 ml of distilled water.

4.2.4.2 Test variant 2 : When the specimens are to be pre-conditioned as in Clause 8 prior to inoculation by spraying, the final residue shall be diluted in 100 ml of distilled water.

When specimens are to be inoculated by painting or dipping, the suspension may be prepared by using the nutritive solution given in Sub-clause 4.3.2 in place of distilled water.

If a nutritive solution spore suspension is used for inoculation, the pre-conditioning procedure given in Clause 8 is omitted.

4.2.5 The suspension may be diluted with distilled water or nutritive solution, as relevant, to a maximum volume of 500 ml. It shall be used on the day of preparation.

4.3 Control strips

4.3.1 The control strips called for in the test shall consist of strips of pure white filter paper or unproofed cotton textile.

4.3.2 The nutritive solution called for in preparing the control strips shall consist of a solution of the following reagents in distilled water and shall be used on the day of preparation. The quantities are amounts per litre of water.

— Potassium dihydrogen orthophosphate (KH_2PO_4)	0.7 g
— Potassium monohydrogen orthophosphate (K_2HPO_4)	0.3 g
— Magnesium sulphate ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.5 g
— Sodium nitrate (NaNO_3)	2.0 g
— Potassium chloride (KCl)	0.5 g
— Ferrous sulphate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.01 g
— Sucrose (saccharose)	30.00 g

4.3.3 The strips shall be placed in a small dish and covered with the nutritive solution. The strips shall be removed from this solution and allowed to drain free of drips immediately before use.

4.3.4 The strips shall be freshly prepared on the day on which they will be used for the test.

5. Description of test apparatus

5.1 For small specimens

5.1.1 Containers of glass or plastics, with close-fitting lids, provided with means for mounting specimens, shall be used.

Le récipient doit avoir une taille et une forme telles qu'il puisse contenir en permanence un volume d'eau suffisant pour maintenir à l'intérieur une humidité relative supérieure à 90%.

Les moyens nécessaires au montage des spécimens doivent être tels que ces derniers ne soient à aucun moment immergés dans l'eau ni aspergés.

- 5.1.2 La chambre utilisée pour l'incubation des petits spécimens dans leur récipient doit maintenir une température uniforme dans l'espace de travail, comprise entre 28 °C et 30 °C.

Les variations périodiques de la température dues à l'action du régulateur ne doivent pas dépasser 1 °C/h.

5.2 *Spécimens de grandes dimensions*

- 5.2.1 Une chambre de chaleur humide de taille appropriée doit être utilisée pour l'incubation des spécimens trop grands pour les récipients prévus au paragraphe 5.1.1.

La chambre doit avoir une porte à fermeture hermétique pour éviter qu'un échange d'air se produise avec le laboratoire où elle se trouve.

- 5.2.2 Dans la chambre, l'humidité relative doit être maintenue à une valeur supérieure à 90%. L'eau de condensation provenant des parois latérales ou supérieure de la chambre ne doit pouvoir en aucun cas entrer en contact avec le spécimen.

La température dans l'espace de travail doit être uniforme et comprise entre 28 °C et 30 °C. Les variations périodiques de la température dues à l'action du régulateur ne doivent pas dépasser 1 °C/h.

Pour obtenir l'humidité requise et maintenir une température uniforme à l'intérieur de la chambre, une circulation forcée d'air peut être nécessaire. La vitesse du déplacement d'air ne doit pas dépasser 1 m/s à la surface du ou des spécimen(s).

6. Sévérités

Les conditions d'essai pour chaque variante d'essai sont déterminées par la durée de l'essai.

Variante 1 : Deux conditions sont prescrites : 28 jours et 84 jours.

Variante 2 : Une condition est prescrite : 28 jours.

La spécification particulière doit indiquer les conditions d'essai requises pour la variante choisie.

7. Examen initial

Les spécimens doivent être examinés visuellement et soumis aux vérifications électriques et mécaniques prescrites par la spécification particulière.

8. Préconditionnement

8.1 *Pour les variantes d'essai 1 et 2*

Les spécimens d'essai doivent être dans le même état qu'à la livraison du fabricant au client pour l'utilisation. Ils ne doivent pas en principe subir de lavage spécial mais, si la spécification particulière le prescrit, il est permis, avant l'essai, de laver la moitié des spécimens dans de l'éthanol ou

The container shall be of such size and shape as to expose a sufficient surface area of free water in the base at all times, in order to maintain a value of relative humidity within it greater than 90%.

The means of mounting shall be such as to ensure that specimens are not allowed to touch or be splashed by the water.

- 5.1.2 The chamber used for incubating the small specimens in their containers shall maintain a uniform temperature throughout the working space within the range 28 °C to 30 °C.

Any periodic cycling of temperature due to action of the thermostat shall not exceed 1 °C/h.

5.2 For large specimens

- 5.2.1 A suitable humidity chamber shall be used for incubating specimens too large for the containers specified in Sub-clause 5.1.1.

The humidity chamber shall have a well-sealed door to prevent exchange of atmosphere between its interior and the laboratory in which it stands.

- 5.2.2 The relative humidity within the chamber shall be maintained at a value greater than 90%. No condensed water from the walls or roof of the chamber shall be allowed to fall on the specimen.

The temperature inside the chamber shall be maintained uniformly throughout the working space within the range 28 °C to 30 °C. Any periodic cycling of the temperature due to action of the thermostat shall not exceed 1 °C/h.

In order to achieve the specified humidity and temperature uniformly throughout the chamber, it may be necessary to use forced circulation of the air within it. The flow rate shall not exceed 1 m/s over the surface of the specimen(s).

6. Severities

The test severity for each test variant is determined by the duration of the test.

Variant 1: Two severities are specified: 28 days and 84 days.

Variant 2: One severity is specified: 28 days.

The relevant specification shall state the required severity for the chosen variant.

7. Initial examination

The specimens shall be visually inspected and shall be electrically and mechanically checked as required by the relevant specification.

8. Pre-conditioning

8.1 For test variants 1 and 2

The specimens for test shall be in the condition as received from the manufacturer by the customer for his use. They shall not, normally, receive any special cleaning but, if prescribed by the relevant specification, it is permissible to clean half of the specimens before testing by washing in

de l'eau contenant un détergent ; cette procédure sera suivie d'un rinçage. De cette façon, toute croissance de moisissures due à l'utilisation de matériaux impropres dans la construction du spécimen pourra être distinguée de celle résultant d'une contamination de surface.

Note. — *Echelle 0* (voir paragraphe 10.3)

Si l'échelle 0 est requise par la spécification particulière, il peut s'avérer nécessaire de nettoyer les spécimens avant l'essai en raison de la présence possible d'une contamination qui pourrait favoriser la croissance de moisissures dans la variante d'essai 1.

8.2 Pour la variante d'essai 2

Les spécimens qui seront inoculés avec une suspension de spores doivent être préconditionnés après application de la solution nutritive, dont la composition est donnée au paragraphe 4.3.2, et à laquelle un agent mouillant non fongicide a été ajouté à la proportion de 0,05%. La solution nutritive peut être appliquée par pulvérisation, badigeonnage, immersion ou par toute autre méthode, selon la prescription de la spécification particulière (voir paragraphe 4.2.4.2). Avant l'inoculation, la solution nutritive doit normalement avoir séché.

9. Epreuve

9.1 Application

9.1.1 La méthode d'application dépend de la variante d'essai prescrite par la spécification particulière ; elle sera effectuée selon la méthode correspondante décrite ci-dessous.

9.1.2 Variante 1

Si la spécification particulière exige que des vérifications soient effectuées après une exposition de 84 jours, deux groupes de spécimens seront nécessaires : l'un pour être inoculé par des spores de moisissures et ensuite incubé (spécimens d'essai), et l'autre pour être soumis à une épreuve d'humidité, sans inoculation, puis incubé (voir paragraphe 9.2). Ce dernier groupe constitue les « spécimens de contrôle négatif » auxquels il est fait référence ci-après.

Variante 2

Deux groupes de spécimens sont nécessaires. Le premier groupe comprend les spécimens d'essai qui, après avoir été préconditionnés dans la solution nutritive, sont inoculés avec des spores de moisissures, et ensuite incubés pendant 28 jours. L'autre groupe de spécimens, qui n'a pas été préconditionné dans une solution nutritive, est soumis à une épreuve d'humidité sans inoculation ; il doit ensuite être incubé pendant 28 jours. Ce dernier groupe constitue les « spécimens de contrôle négatif » auxquels il est fait référence ci-après.

Note. — *Spécimens de contrôle négatif*

Les spécimens de contrôle négatif devront être placés, dans les conditions prescrites, dans une chambre autre que celle qui contient les spécimens inoculés. Pour s'assurer qu'aucune moisissure ne puisse croître sur les spécimens de contrôle négatif, la chambre devra être stérilisée selon l'une des méthodes indiquées dans l'article D2 de l'annexe D. L'essai est valable, excepté si une croissance de moisissures se manifeste sur le spécimen d'essai et le spécimen de contrôle négatif.

9.2 Inoculation

L'inoculation des spécimens d'essai et des bandes de contrôle avec la suspension de spores (paragraphe 4.2) doit être effectuée par pulvérisation, badigeonnage ou immersion, selon la taille et la nature des spécimens (voir annexes B et C).

Les spécimens de contrôle négatif doivent être pulvérisés, badigeonnés ou immergés dans de l'eau distillée et protégés de toute contamination.

either ethanol or water containing a detergent, followed by rinsing. By this means, any mould growth caused by the use of unsuitable materials in construction of the specimen can be distinguished from that due to surface contamination.

Note. — *Scale 0* (see Sub-clause 10.3)

When scale 0 is required in the relevant specification, consideration should be given to the need to clean specimens before the test because of the probability of contamination being present which may promote mould growth in test variant 1.

8.2 For test variant 2

The test specimen(s) to be inoculated with the spore suspension shall be pre-conditioned with an application of nutritive solution whose composition is given in Sub-clause 4.3.2 and to which has been added 0.05% of a non-fungicidal wetting agent. The nutritive solution may be applied by spraying, painting or dipping, or as prescribed in the relevant specification (see Sub-clause 4.2.4.2). Before inoculation, the nutritive solution should be dried.

9. Conditioning

9.1 Application

9.1.1 For the test variant stated in the relevant specification the application shall be carried out according to the method described below.

9.1.2 Variant 1

If the relevant specification requires checks to be made after the 84 days' exposure, two groups of specimens shall be involved; one group shall be inoculated by mould spores and then incubated (test specimens); the other group shall be exposed to humidity, without inoculation, and then incubated (see Sub-clause 9.2). The latter specimens are hereinafter referred to as "negative control specimens".

Variant 2

Two groups of specimens shall be involved. One group, the test specimens, having been pre-conditioned with the nutritive solution shall be inoculated with mould spores and then incubated for 28 days. The other group, not pre-conditioned with nutritive solution, shall be exposed to humidity without inoculation and then incubated for 28 days. The latter specimens are hereinafter referred to as "negative control specimens".

Note. — *Negative control specimens*

Negative control specimens should be exposed to the specified conditions in a separate chamber to that in which the inoculated specimens are held. To ensure that no mould grows on the negative control specimens, the chamber should be sterilized by one of the methods given in Clause D2 of Appendix D. The test is valid unless the test specimen and the negative control supports growth.

9.2 Inoculation

Inoculation of the test specimens and control strips with the spore suspension (Sub-clause 4.2) shall be carried out by spraying, painting or dipping, as appropriate to the size and nature of the specimens (see Appendices B and C).

Negative control specimens shall be sprayed or painted with, or dipped in, distilled water and protected from contamination.

9.3 *Incubation*

- 9.3.1 Dans les 15 min suivant l'inoculation décrite au paragraphe 9.2, les petits spécimens d'essai doivent être divisés en groupes comprenant trois bandes de contrôle chacun et placés dans les récipients (paragraphe 5.1.1). Les spécimens et les bandes doivent être suffisamment espacés ; les récipients sont ensuite placés dans la chambre d'incubation (paragraphe 5.1.2).
- 9.3.2 Lorsque cela est applicable, les spécimens de contrôle négatif doivent être placés, comme les spécimens d'essai, dans des récipients similaires mais individuels (sans les bandes de contrôle inoculées). Les récipients sont ensuite transférés dans la chambre d'incubation (paragraphe 5.1.2).
- 9.3.3 Dans le cas de spécimens de grandes dimensions, les trois bandes de contrôle doivent être placées dans la chambre avec les spécimens. Tous les spécimens de contrôle négatif doivent être exposés, de préférence dans une chambre séparée ou dans la même chambre en fin d'essai, immédiatement après la décontamination (voir annexe D).
- 9.3.4 Les couvercles des récipients ne doivent être ni enlevés ni déplacés, sauf pendant quelques minutes après les sept premiers jours pour inspecter les bandes de contrôle, afin de vérifier la viabilité de l'inoculum et renouveler l'alimentation en oxygène. Cette procédure doit être répétée, par la suite, une fois tous les sept jours, jusqu'à ce que la période d'exposition prescrite soit écoulée.
- 9.3.5 Si aucune croissance de moisissures n'est visible à l'œil nu sur l'une quelconque des bandes de contrôle lors de la première ouverture, sept jours après l'inoculation, l'essai est considéré comme nul et doit être recommencé.

10. **Examen final**

10.1 *Examen visuel*

- 10.1.1 Les spécimens doivent être examinés (paragraphe 10.3), vérifiés et/ou photographiés (selon les prescriptions de la spécification particulière) immédiatement après leur retrait, car toute moisissure change rapidement d'aspect une fois qu'elle est exposée à l'atmosphère sèche du laboratoire. Des méthodes de manipulation sans danger sont recommandées dans l'annexe C.
- 10.1.2 Après l'examen visuel et l'évaluation de la croissance, le mycélium est soigneusement lavé et la surface est examinée au microscope de façon à déterminer la nature et l'importance de l'attaque physique (la corrosion par exemple) du spécimen. Des méthodes de lavage sans danger sont recommandées dans l'annexe C.

10.2 *Effet de la croissance*

- 10.2.1 Quand la spécification particulière indique des vérifications électriques et/ou mécaniques à effectuer dans des conditions d'humidité (après l'incubation), il est indispensable que l'humidité relative entourant les spécimens ne diminue pas avant que ces vérifications soient faites. Ces vérifications doivent donc être effectuées sur les petits spécimens tandis qu'ils se trouvent encore dans le récipient, couvercle fermé, avec présence d'eau. Pour les gros spécimens, les vérifications sont effectuées tandis qu'ils sont encore dans la chambre de chaleur humide.

Note. — Si des connexions électriques doivent être faites ou si un travail est appelé à être entrepris sur des spécimens se trouvant dans les récipients/chambres de chaleur humide avec les couvercles/portes nécessairement ouverts(es), cette opération devra être effectuée en veillant à la sécurité des opérateurs. Voir l'annexe C où sont recommandées des méthodes de manipulation sans danger.

9.3 Incubation

- 9.3.1 Within 15 min of inoculation in accordance with Sub-clause 9.2, small test specimens shall be divided into groups, each including three control strips, which can be accommodated in the containers (Sub-clause 5.1.1). The specimens and strips shall be arranged in a well-spaced layout and the containers placed in the incubation chamber (Sub-clause 5.1.2).
- 9.3.2 Where applicable, negative control specimens shall be arranged in similar but separate containers as for the test specimens (without inoculated control strips). The containers shall then be placed in the incubation chamber (Sub-clause 5.1.2).
- 9.3.3 In the case of large test specimens, three control strips shall be placed in the chamber with the specimens. Any negative control specimens shall be exposed, preferably in a separate chamber or, if in the same chamber on completion of the mould growth test, immediately after decontamination (see Appendix D).
- 9.3.4 The container lids shall not be opened or otherwise disturbed except for a few minutes after the first seven days to inspect the control strips to ascertain the viability of the inoculum, and to replenish the oxygen supply. This operation shall be repeated thereafter, once every seven days, until the completion of the prescribed exposure period.
- 9.3.5 If no mould growth is visible to the naked eye on any one of the control strips when first opened seven days after inoculation, the test shall be considered void and shall be recommenced.

10. Final examination

10.1 Visual examination

- 10.1.1 The specimens shall be examined (Sub-clause 10.3), checked and/or photographed (as required by the relevant specification) immediately after they are removed, because all growth rapidly changes in appearance once it is exposed to the dry atmosphere of the laboratory. See Appendix C for recommended safe methods of handling.
- 10.1.2 Following a visual examination and assessment of the actual growth, the mycelium shall be carefully washed from the surface which shall then be examined through a microscope to assess the nature and extent of any physical attack (e.g. etching) on the specimen. See Appendix C for recommended safe methods of washing.

10.2 Effect of growth

- 10.2.1 When the relevant specification calls for electrical and/or mechanical checks while damp (following incubation), it is essential that the relative humidity of the surroundings of the specimens shall not be allowed to fall unduly until after such checks have been made. The checks shall, therefore, be carried out on small specimens while still in the container with the lid fitted, and free water exposed. For large specimens checks shall be made while they are still in the humidity chamber.

Note. — When electrical connections have to be made, or work has to be done on specimens in containers/humidity chambers with the lids/doors necessarily open, this operation should be carried out with due regard to the safety of operators. See Appendix C for recommended safe methods of handling.

10.2.2 Lorsque la spécification indique des vérifications à effectuer après reprise, les spécimens doivent être retirés du récipient ou de la chambre, puis examinés conformément au paragraphe 10.1.1 et ensuite placés dans les conditions spécifiées de reprise pendant 24 h, après quoi ils seront soumis aux vérifications.

10.2.3 Des vérifications similaires doivent être effectuées sur des spécimens inoculés avec des suspensions de spores et sur d'autres inoculés avec une solution aqueuse seulement. Toute différence significative entre les résultats des mesures des deux groupes est considérée comme résultant de la croissance des moisissures en milieu humide.

10.2.4 Après les vérifications, les spécimens sont retirés et examinés visuellement selon le paragraphe 10.1.1 et, pour finir, l'attaque du spécimen est déterminée selon le paragraphe 10.1.2.

10.3 Importance de la croissance

Les spécimens d'essai exposés sont d'abord examinés à l'œil nu et ensuite, si c'est nécessaire, au microscope stéréoscopique (avec un grossissement nominal d'environ 50 ×).

L'importance de la croissance des moisissures doit être évaluée et exprimée selon l'échelle suivante :

- 0 = aucune croissance apparente avec un grossissement nominal d'environ 50 × ;
- 1 = croissance non visible ou à peine visible à l'œil nu, mais clairement apparente au microscope ;
- 2 = croissance bien visible à l'œil nu, mais couvrant moins de 25% de la surface d'essai ;
- 3 = croissance bien visible à l'œil nu et couvrant plus de 25% de la surface d'essai.

Note. — Lorsque les spécimens comportent un assemblage et présentent de ce fait différents degrés de croissance, il est préférable d'évaluer les différentes parties séparément. Pour la variante d'essai 2, l'échelle 0 n'est prescrite que si l'on souhaite observer l'effet fongistatique.

11. Renseignements à fournir dans la spécification particulière

Lorsque cet essai est inclus dans la spécification particulière, les détails suivants doivent être fournis :

	<i>Articles ou paragraphes</i>
a) Variante d'essai 1 ou 2	3
b) Sévérité : durée de l'essai	6
c) Mesures électriques et mécaniques avant l'épreuve (seulement si l'altération du fonctionnement est à déterminer)	7
d) Préconditionnement	8
e) Epreuve	9
f) Mesures électriques et mécaniques après l'exposition (seulement si l'altération du fonctionnement est à déterminer)	10.1, 10.2, 10.3
g) Les spécimens doivent être examinés, vérifiés et/ou photographiés	10.1.1
h) Mesures électriques et mécaniques à effectuer après l'exposition, lorsqu'elles sont prescrites, soit en atmosphère humide, soit après la reprise, ou dans les deux conditions réunies	10.2.1
j) Vérifications à effectuer après reprise	10.2.2

- 10.2.2 When the specification prescribes checks after recovery, the specimens shall be removed from the container or chamber, then visually examined as specified in Sub-clause 10.1.1 and then exposed to the specified conditions for recovery for a period of 24 h, at the conclusion of which the checks shall be made.
- 10.2.3 Similar checks shall be made on the specimens inoculated with spore suspensions and those inoculated with water only. Any significant difference between the two groups is considered to be additional due to the presence of mould growth as well as the high humidity.
- 10.2.4 Following the checks, the specimens shall be removed and visually examined as in Sub-clause 10.1.1 and finally any attack on the specimen determined as in Sub-clause 10.1.2.

10.3 *Extent of growth*

The exposed test specimens shall first be inspected by the naked eye and then if necessary with a stereoscopic microscope (with a nominal magnification of approximately 50 ×).

The extent of growth shall be assessed and expressed according to the following scale :

- 0 = no growth apparent under a nominal magnification of approximately 50 × ;
- 1 = growth not, or hardly visible to the naked eye, but clearly visible under the microscope ;
- 2 = growth plainly visible to the naked eye, but covers less than 25% of the test surface ;
- 3 = growth plainly visible to the naked eye and covering more than 25% of the test surface.

Note. — Where specimens comprising an assembly show varying degrees of growth they should be assessed separately.

For test variant 2, scale 0 should only be specified when it is desired to examine for a fungistatic effect.

11. Information to be given in the relevant specification

When this test is included in the relevant specification the following details shall be given :

	<i>Clause or sub-clause</i>
a) Test variant 1 or 2	3
b) Severity : duration of test	6
c) Electrical and mechanical measurements prior to conditioning (only if performance deterioration is to be determined)	7
d) Pre-conditioning	8
e) Conditioning	9
f) Electrical and mechanical measurements after exposure (only if performance deterioration is to be determined)	10.1, 10.2, 10.3
g) Whether the specimens must be examined, checked and/or photographed	10.1.1
h) Whether electrical and mechanical measurements after exposure, where they are required, are to be made while damp, or after recovery, or in both conditions	10.2.1
j) Checks after recovery	10.2.2

ANNEXE A

DANGERS ENCOURUS PAR LE PERSONNEL

A1. Généralités

- A1.1 Les mycologues et les pathologistes sont d'avis que la mise en œuvre de l'essai de croissance des moisissures peut constituer un danger pour la santé, à moins que des précautions spéciales ne soient prises.
- A1.2 Les précautions qui sont décrites en détail dans ces annexes sont fondées sur des techniques microbiologiques bien établies et sur l'utilisation d'un équipement spécialisé. Il est recommandé que les personnes effectuant l'essai soient formées pour appliquer ces techniques et utiliser cet équipement.
- A1.3 Il est recommandé qu'une salle spéciale soit affectée exclusivement à l'essai sur les moisissures.
- A1.4 L'utilisation d'une armoire microbiologique de sécurité est recommandée pour l'exécution de certaines parties de la procédure, y compris l'examen des cultures reçues du fournisseur.
- A1.5 Les spores de moisissures transportées par l'air environnant pénètrent en permanence dans le corps humain par le nez et la bouche, mais ne présentent pas, en principe, de danger réel pour la santé. Certains individus particulièrement sensibles peuvent cependant être affectés par l'inhalation répétée de certaines spores, y compris celles des moisissures utilisées dans cet essai. Il convient donc d'attirer l'attention sur les précautions à prendre lors de la réalisation de l'essai. Elles sont exposées de manière succincte dans l'annexe C.
- Il est également possible que des moisissures étrangères, présentes par accident, croissent durant la période d'incubation dans la chambre. Certaines de ces moisissures que l'on rencontre sur les lieux d'essai peuvent être préjudiciables au corps humain.
- A1.6 Il est conseillé à toute personne susceptible de participer à cet essai d'en aviser le médecin du travail ou son médecin traitant et de se conformer à la décision du corps médical quant à cette participation.
- A1.7 Il convient que tout membre du personnel participant à cet essai soit informé des risques auxquels il (ou elle) s'expose, compte tenu de son état de santé. Des règles nationales de sécurité peuvent être prescrites, le cas échéant.

A2. Renseignements destinés au corps médical

- A2.1 L'essai J comporte un risque dû à l'inhalation, l'ingestion ou l'implantation traumatique des spores de moisissures transportées par l'air.
- A2.2 Les mesures de sécurité à prendre sont indiquées dans l'annexe C et sont destinées à réduire ce risque.

APPENDIX A

DANGER TO PERSONNEL

A1. General

- A1.1 It is the opinion of mycologists and pathologists that conducting the mould growth test can constitute a health hazard, unless special precautions are taken.
- A1.2 The precautions detailed in these appendices are based upon established microbiological techniques and specialized equipment and it is recommended that persons carrying out the test be trained in the use of such techniques and such equipment.
- A1.3 It is recommended that a separate room be provided exclusively for mould growth testing.
- A1.4 The use of a microbiological safety cabinet (MSC) is recommended for carrying out certain parts of the procedure, including examinations of cultures on receipt from the supplier.
- A1.5 Airborne mould spores continually enter the human body through the nose and mouth but they do not normally present a serious hazard to health. Certain susceptible individuals may, however, be affected by the repeated inhalation of some spores, including those of the moulds used in this test and attention is drawn to the precautions to be adopted when carrying out the test. These are outlined in Appendix C.

It is also possible, during the incubation period in the test chamber, for a foreign mould, present as an unintentional intruder, to develop; some of these moulds, thus present as native to some testing locations, may be injurious to the human system.

- A1.6 All persons intended to be involved in this test should be advised to notify the medical officer, or their own doctor, that they are required to undertake the work. The medical opinion for or against participation should be followed.
- A1.7 All personnel carrying out the test should be informed of the potential hazards to which they will be exposed, in relation to their current state of health. National safety regulations may be applicable.

A2. Notes for the guidance of medical officers

- A2.1 Test J involves a hazard from the inhalation, ingestion or traumatic implantation of airborne mould spores.
- A2.2 The safety precautions to be adopted are given in Appendix C and are designed to minimize this hazard.

A2.3 Il existe des risques particuliers pour les personnes sensibles, à savoir :

- a) les sujets atopiques habituellement allergiques au pollen, à la poussière de maison, aux petits fragments de poil ou de plumes d'animaux, etc., et qui souffrent de rhinite, d'asthme ou d'autres symptômes d'allergie : une allergie aux spores de moisissures de type I peut apparaître et, dans certaines circonstances, des allergies du type III (maladie professionnelle du poumon du fermier).
- b) les sujets atteints de maladies chroniques des poumons, par exemple les personnes souffrant de bronchiectasie, de bronchite chronique, de sarcoïdose ou d'emphysème, etc. : le dépôt et la germination de spores dans les alvéoles des poumons peuvent entraîner une croissance fongique sous forme d'agglomérat de fungus ou d'aspergilloma en association avec *Aspergillus fumigatus*. Les lésions tuberculeuses guéries constituent un terrain favorable à la croissance fongique.
- c) les malades qui reçoivent un traitement de longue durée d'antibiotique à large spectre, ou ceux qui prennent des médicaments immunodépresseurs incluant les corticostéroïdes, ou encore ceux à qui on a prescrit des préparations chimiothérapeutiques : l'élimination de la flore bactérienne normale des voies respiratoires et digestives favorise quelquefois une croissance fongique considérable, et l'ingestion d'immunodépresseurs a tendance à prédisposer l'individu à une infection fongique.

Bien que les dangers liés à la réalisation de l'essai selon les procédures prescrites soient considérés comme étant assez limités, il est néanmoins recommandé que les personnes appartenant aux catégories mentionnées ci-dessus s'abstiennent de participer à l'essai.

A2.3 Specific hazards exist for susceptible persons, i.e. those who are :

- a) atopic subjects who are normally allergic to pollen, house dust, animal dander, etc., and suffer from rhinitis, asthma or other allergic symptoms : the hazard here is in the development of Type I allergy to mould spores, but in certain circumstances Type III reactions may develop (Farmer's Lung type);
- b) subjects who have chronic lung damage, e.g. bronchiectasis, chronic bronchitis, sarcoidosis, emphysema, etc. : the deposition and germination of spores in lung cavities may lead to the growth of the fungus as a fungus ball or aspergilloma, mainly associated with *Aspergillus fumigatus*. Healed tubercular lesions constitute a possible site for fungal growth;
- c) patients who are currently undergoing broad-spectrum antibiotic treatment, being given immuno-suppressive drugs including corticosteroids, or taking other prescribed chemotherapeutic preparations : elimination of the normal bacterial flora of the respiratory and alimentary tracts sometimes enables fungi to develop extensively, whilst immuno-suppression may render the individual more susceptible to fungal infection.

Although the hazards involved in carrying out the test in accordance with the specified procedures are regarded as low, it is recommended that persons in these categories should not be involved in the test.

ANNEXE B

MÉTHODES D'INOCULATION

(Voir aussi article 9)

- B1. Il y a lieu de consulter l'annexe C, « Mesures de sécurité recommandées », avant le commencement de l'inoculation.
- B1.1 La pulvérisation de la suspension de spores sur les spécimens et les bandes de contrôle est généralement une méthode appropriée. Il convient que le pulvérisateur utilisé ait un gicleur suffisamment grand pour éviter l'obturation par des fragments de mycélium. Le pulvérisateur connu sous le nom de « pulvérisateur de peintre » peut convenir. Il est recommandé de toujours stériliser le récipient du pulvérisateur et le gicleur avant l'utilisation.
- B1.2 Il arrive que les spores appliquées au pulvérisateur n'adhèrent pas à la surface des spécimens si cette dernière est dure et polie. Dans ce cas, un badigeonnage soigné de la suspension avec un pinceau stérilisé à poils doux peut être plus efficace.
- B1.3 Pour les spécimens de petites dimensions, l'immersion dans la suspension de spores constitue une méthode rapide et efficace.
- B2. Il est recommandé que toutes les méthodes d'inoculation soient utilisées dans une armoire microbiologique de sécurité en raison de la formation possible d'aérosol.
- B3. Il convient que les grands matériels soient, si possible, divisés en éléments selon le paragraphe 1.7. Toutefois, si les spécimens sont encore trop grands pour être inoculés à l'intérieur de l'armoire microbiologique de sécurité disponible, il y a lieu d'envisager l'installation d'une hotte d'échappement temporaire au-dessus du spécimen. Il convient que les mêmes conditions de ventilation soient maintenues, et que le même système d'échappement que celui qui est prescrit pour l'armoire microbiologique de sécurité soit installé.
Il est également possible de placer le grand spécimen dans la chambre de chaleur humide où doit avoir lieu l'incubation, et de le badigeonner avec l'inoculum. Il est ensuite recommandé d'enlever les gouttes superflues d'inoculum à l'éthanol, comme indiqué dans l'annexe D. Bien qu'il soit peu probable que cette méthode donne lieu à une formation d'aérosol, si le système d'échappement recommandé est installé sur la chambre de chaleur humide, il convient qu'il soit mis en fonctionnement durant l'inoculation.

APPENDIX B

INOCULATION METHODS

(see also Clause 9)

- B1. Appendix C, “Recommended Safety Precautions”, should be studied prior to commencing inoculation.
- B1.1 Spraying the mould suspension on to the specimens and control strips is a generally suitable method. The spray gun used should have a nozzle large enough not to be blocked by fragments of mycelium. The type known as the “artist’s spray gun” has been found suitable. The container and nozzle should always be sterilized just prior to use.
- B1.2 If specimens have a hard, polished surface, it may be found that spores applied by spraying do not adhere to them. In such cases, carefully painting on the suspension with a soft sterilized brush may be more effective.
- B1.3 For small specimens, dipping them into the mould suspension may be found to be a quick and effective method.
- B2. It is recommended that all methods of inoculation are carried out within an MSC, because of the possibility of aerosol formation.
- B3. Large specimens, where possible, should be broken down into sub-units in accordance with Sub-clause 1.7. However, if specimens are still too large to be inoculated inside the available MSC, consideration should be given to erecting a temporary exhaust hood over the specimen. This should approximate the same airflow conditions and be fitted with the same microbiological exhaust system as specified for an MSC.

Alternatively, it may be possible to place the large specimen in the humidity chamber in which incubation is to take place, and then paint on the inoculum. Any drips should be wiped up with ethanol as stated in Appendix D. Although this method may not produce an aerosol, if the recommended exhaust system is fitted to the humidity chamber it should be operating during the inoculation.

ANNEXE C

MESURES DE SÉCURITÉ RECOMMANDÉES

- C1. Il convient que les précautions utiles soient prises pour réduire l'inhalation de spores de moisissures et pour éviter qu'elles n'entrent en contact avec la peau, en particulier au niveau des ongles.
- C2. L'inhalation des spores de moisissures risque de se produire lors du transport ou de l'examen des spécimens incubés ou des bandes de contrôle, ou encore si l'air qui les entoure est déplacé — lors de l'ouverture ou de la fermeture des portes des chambres et des couvercles des récipients, par exemple. Ce risque est accru quand les spores de moisissures sont desséchées, car les petites particules de spores qui se détachent peuvent facilement se propager dans l'air. Le risque d'inhalation est également plus grand lors de l'inoculation des spécimens par la méthode de pulvérisation.
- C3. Une protection directe contre l'inhalation de spores de moisissures transportées par l'air (1 µm à 10 µm de diamètre) peut être réalisée grâce au port d'un respirateur homologué auquel a été adapté un filtre à poussière. *Une gaze ou un masque non hermétique ne représente pas une protection suffisante.* Cependant, la méthode préférentielle consiste à utiliser une armoire microbiologique de sécurité.
- C4. De façon à diminuer les risques de contact entre la peau et les spores, des gants de protection peuvent être portés lors de la manipulation des cultures, des inoculums et des spécimens d'essai après l'inoculation et l'incubation. On pourra utiliser des gants à jeter en matière plastique, ou des gants stérilisables en caoutchouc qu'il y a lieu de décontaminer à l'éthanol après leur utilisation, puis de laver.
- C5. Il est recommandé que toutes les opérations relatives à l'ouverture de récipients de cultures de spores, à la préparation de suspensions de spores, à l'inoculation de spécimens et de bandes de contrôle, ainsi qu'à l'examen et à la mesure de spécimens incubés, soient effectuées dans une armoire microbiologique de sécurité, les précautions suivantes étant prises pour diminuer les formations d'aérosols :
 - a) utiliser l'agent mouillant prescrit (voir paragraphe 4.2.1) pour la préparation d'une suspension de moisissures ;
 - b) nettoyer les parois externes du récipient d'incubation avec de l'éthanol à 70% avant de le retirer de l'armoire microbiologique de sécurité et de le transférer dans la chambre de chaleur sèche pour l'incubation ;
 - c) nettoyer ou laver les spécimens avec de l'éthanol à 70% à la fin de l'essai, pendant qu'ils sont encore dans l'armoire microbiologique de sécurité, afin de retirer les moisissures en surface avant la décontamination finale et la mise au rebut.
- C6. Dans le cas où le spécimen est trop grand pour être placé dans un récipient individuel et qu'il se révèle nécessaire de l'incuber dans une chambre de chaleur humide, les spores peuvent se déplacer en raison du mouvement de l'air lors de l'ouverture ou de la fermeture de la porte de la chambre. Un système d'échappement adapté à la chambre empêchera les particules de moisissures de s'échapper par la porte quand celle-ci sera ouverte pour les examens des spécimens ou d'autres raisons.

APPENDIX C

RECOMMENDED SAFETY PRECAUTIONS

- C1. Precautions should be observed to minimize inhalation of mould spores and their coming in contact with the skin, particularly around the finger nails.
- C2. Inhalation of mould spores may take place when transporting or examining incubated specimens, or controls, or when disturbing the air around them, for example when opening or shutting chamber doors and container lids. This risk is increased when the mould growth dries out and small detached particles can more easily become airborne. There is also a greater risk of inhalation when inoculating specimens by the spraying method.
- C3. Direct protection against the inhalation of airborne mould spores (1 μm to 10 μm diameter), may be achieved by wearing an approved respirator fitted with a dust filter. *A gauze or loose fitting mask is not adequate protection.* However, the preferred method is to make use of an MSC.
- C4. To minimize the risk of moulds coming in contact with the skin, protective gloves may be worn whilst handling all cultures, inocula and test specimens after inoculation and incubation. These may be of the disposable plastics variety or sterilizable rubber. Gloves should be decontaminated after use by wiping with ethanol and washing.
- C5. All operations involving the opening of mould culture containers, the preparation of the mould spore suspension, the inoculation of specimens and controls, and the examination and measurement of incubated specimens should be performed within an MSC, taking the following precautions to reduce aerosol formations :
- a) during the preparation of the mould suspension, by using the specified wetting agent (see Sub-clause 4.2.1) ;
 - b) by wiping the outside of the incubating container with 70% ethanol, before removing it from the MSC to the dry heat chamber for incubation ;
 - c) by wiping or washing the specimens with 70% ethanol, after completion of the test and whilst still within the MSC : this is to remove superficial mould growth prior to final decontamination and disposal.
- C6. When the specimen is too large for a separate container and therefore must be incubated in a humidity chamber, spores may become airborne due to air disturbance when the chamber door is opened and closed. An exhaust system fitted to the chamber will prevent mould particles from escaping when the door is opened, for examination of the specimen and for other purposes.

Il convient que le système d'échappement permette d'envoyer l'air à l'extérieur par l'intermédiaire de filtres microbiologiques qu'il y a lieu de contrôler avant le démarrage de l'essai pour s'assurer qu'ils sont propres et exempts de champignons.

- C7. S'il est nécessaire d'utiliser un grand incubateur, il est recommandé de porter des habits protecteurs ainsi qu'un casque muni d'un respirateur, comme indiqué ci-dessus à l'article C3, ou d'un tuyau permettant de l'approvisionner correctement en air. Il faut préciser que les filtres pour particules ne protègent pas contre les gaz utilisés pour la fumigation, ni contre les fumées et gaz exhalés.
- C8. S'il est nécessaire de transférer un spécimen d'une armoire microbiologique de sécurité à une autre, des précautions appropriées seront prises en vue de protéger le personnel.
- C9. Il convient que toutes les chambres et tout l'appareillage utilisé pour les essais de croissance de moisissures soient décontaminés dès que possible après leur utilisation, selon l'annexe D.
- C10. En fin d'essai, il est possible que les spécimens et les bandes de contrôle soient couverts d'une épaisse couche de moisissures, et il y a lieu d'apporter un soin particulier à leur destruction. Une élimination par incinération n'est pas recommandée car, la plupart des incinérateurs n'assurant pas une combustion complète, les gaz dégagés risquent de répandre les spores sur de grandes surfaces. Il est recommandé que les bandes de contrôle soient immergées dans un récipient contenant une solution d'hypochlorure de sodium (voir annexe D) avant d'être mises au rebut. Les spécimens et les gants appelés à être jetés, gardés ou utilisés seront traités préalablement, comme indiqué ci-dessus au point c) de l'article C5, avant la décontamination finale, selon une méthode choisie parmi celles qui sont indiquées dans l'annexe D.
- C11. Il est recommandé de décontaminer les étuves et l'équipement avant le démarrage de l'essai, au cas où des doutes subsisteraient sur leur propreté. Si une décontamination n'a pas été effectuée dans les 28 jours précédant l'essai, elle sera entreprise quel que soit l'état de propreté.
- C12. Il est interdit de fumer ou de consommer des aliments dans la zone d'essai.

The exhaust system should be vented to the outside atmosphere through microbiological filters. These filters should be inspected prior to the start of a test, to ensure that they are clean and free from mould growth.

- C7. Should it be necessary to use large walk-in type incubators, protective clothing should be worn and a complete hood, with a respirator as specified in Clause C3 above, or a suitable piped air-supply to the hood. It must be emphasized that particulate filters do not protect against gases used for fumigation, or against fumes or smoke.
 - C8. Should it be necessary to transfer a specimen from one MSC to another, it will be necessary for appropriate precautions to be taken to protect personnel.
 - C9. All chambers and apparatus used for mould growth tests should be decontaminated as soon as possible after use, in accordance with Appendix D.
 - C10. Specimens and control strips may be covered with heavy mould growth by the end of the test and care should be taken in their disposal. Destruction by burning is not recommended as most incinerators do not achieve complete combustion and the resulting smoke can carry spores over a wide area. Control strips should be immersed in a vessel containing a solution of sodium hypochlorite (see Appendix D) before finally disposing of them. Specimens and gloves which may be discarded, stored or used, should be treated initially in accordance with Item c) of Clause C5 above, prior to final decontamination by a method selected from those given in Appendix D.
 - C11. Decontamination of chambers and equipment is recommended, prior to commencing the test, if there is any doubt regarding their cleanliness, and in any case if decontamination were done more than 28 days previously.
 - C12. There should be no smoking or consumption of food in the test area.
-

ANNEXE D

PROCÉDURES DE DÉCONTAMINATION

- D1. Il est probable que les chambres de chaleur humide et les récipients utilisés en tant qu'incubateurs pour faire croître les spores seront contaminés à la fois par les moisissures d'essai et par des moisissures contaminantes étrangères. Une procédure de décontamination est donc une nécessité. Il convient qu'elle soit efficace contre les germes d'essai et les contaminants étrangers, et ne laisse aucun résidu de décontamination susceptible de freiner la croissance des moisissures dans l'inoculum utilisé pour l'essai. De plus, cette décontamination doit présenter le moins de risque possible pour l'expérimentateur.
- D2. Les méthodes de décontamination recommandées sont les suivantes :
- a) Lavage avec une solution d'hypochlorure de sodium ou immersion dans celle-ci. Il y a lieu de préparer une solution d'hypochlorure de sodium (contenant 500 à 1 000 ppm de chlorure dilué dans de l'eau)
Il est recommandé de badigeonner ou d'immerger la chambre contaminée, le récipient ou l'équipement dans la solution, en prenant soin qu'elle pénètre dans toutes les fentes ; 30 min après, au minimum, il convient que l'appareil soit soigneusement rincé à l'eau fraîche. L'hypochlorure de sodium présente une forte action blanchissante ; par conséquent, l'utilisation de cette substance pour la décontamination risque de ne pas convenir pour certains matériaux.
 - b) Stérilisation à l'autoclave :
Cette méthode convient aux appareils plus petits qui peuvent supporter une température élevée. Il y a lieu de régler l'autoclave à une pression de 10 kPa (1 bar) de façon à obtenir une température de 121 °C pendant 20 min.
 - c) Lavage à l'éthanol :
Il convient que l'éthanol dilué dans l'eau à la proportion de 70% d'éthanol et 30% d'eau soit appliqué de façon abondante avec un chiffon propre, sur les surfaces susceptibles d'avoir reçu des gouttes, des éclaboussures ou des pulvérisations de spores.
- D3. Avant d'être jetés, il est recommandé que les matériaux contaminés, les surplus de cultures, les suspensions de spores, etc., soient décontaminés selon la méthode a) ou b) décrite ci-dessus.
- D4. Les vapeurs de formaldéhyde sont un décontaminant efficace, mais elles laissent des résidus dont l'élimination n'est presque jamais complète. En conséquence, elles peuvent réapparaître dans les espaces fermés et chauds, empêchant de ce fait la croissance des moisissures d'essai.
Il existe d'autres antiseptiques volatils, mais qui peuvent provoquer des explosions ou avoir des effets toxiques et, par conséquent, présenter un risque pour la sécurité, surtout dans le cas de chambres de grandes dimensions.

Il y a donc lieu d'éviter l'utilisation de formaldéhyde et autres antiseptiques volatils.

APPENDIX D

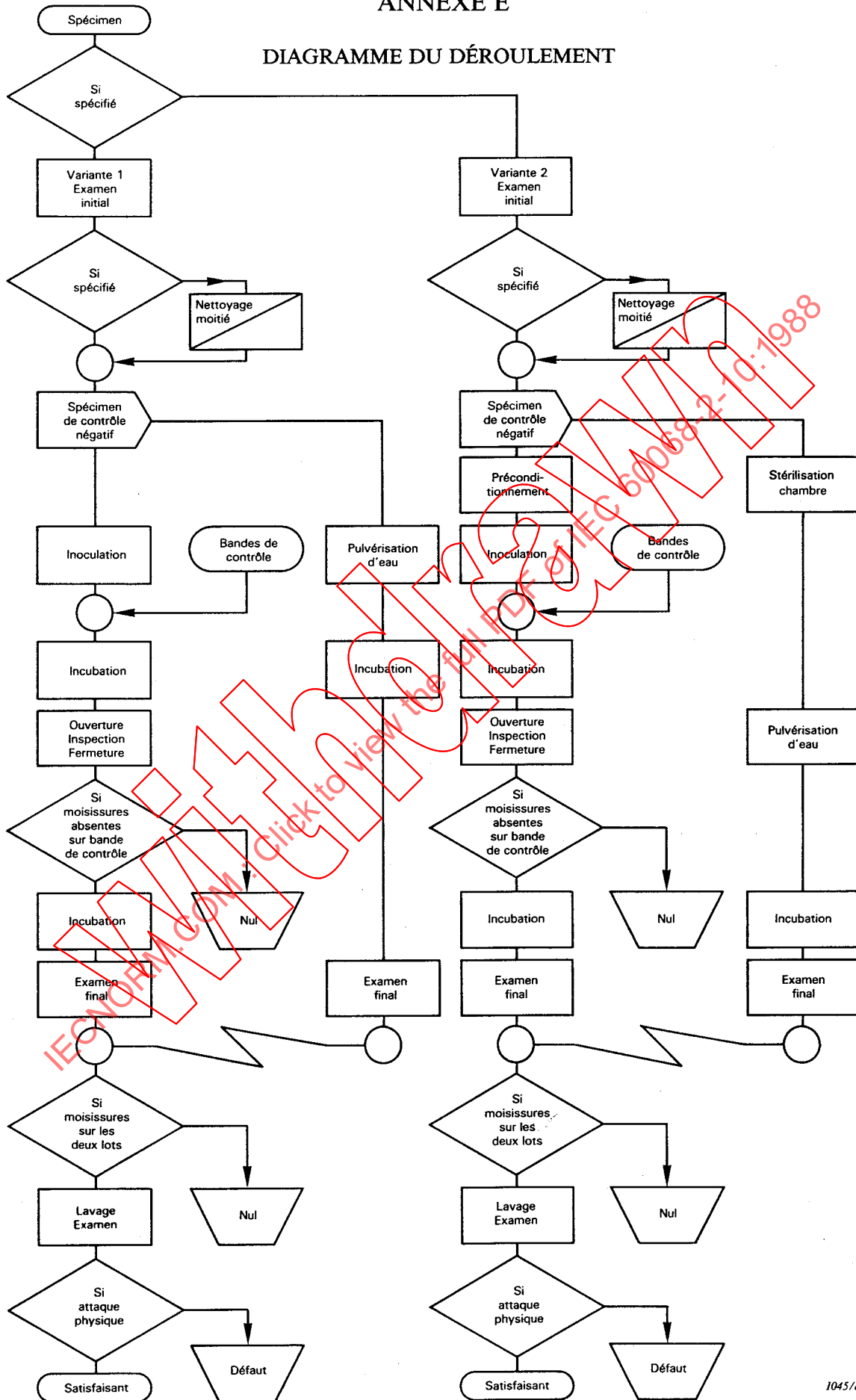
DECONTAMINATION PROCEDURES

- D1. It is probable that containers and humidity chambers used as incubators for mould growth will become contaminated with both test moulds and intruder contaminant moulds. A decontamination procedure is therefore necessary. This procedure should be effective against both test organisms and intruder contaminants ; it must not leave decontaminant residues likely to interfere with the growth of moulds in the inoculum used during the test, also it must present the minimum risk to the user.
- D2. The following methods of decontamination are recommended:
- a) Washing with, or immersion in, a solution of sodium hypochlorite. A solution should be prepared of sodium hypochlorite (containing 500 to 1 000 ppm available chlorine) in water.
The contaminated chamber, container or equipment should then be swabbed with, or immersed in, the solution, ensuring that it penetrates into all the crevices. Not less than 30 min later the item should be thoroughly rinsed in fresh water.
Sodium hypochlorite has a strong bleaching action and therefore the use of this substance for decontamination may not be suitable for some materials.
 - b) Autoclaving:
This method is suitable for smaller items which will withstand the high temperature. The autoclave should be set to a pressure of 10 kPa (1 bar) giving 121 °C, for a period of 20 min.
 - c) Wiping with ethanol:
Ethanol diluted with water, in the proportions 70% ethanol, 30% water, should be liberally applied with a clean cloth, to surfaces where drips, splashes or spray of the mould spore suspension may have fallen.
- D3. Prior to the disposal of contaminated materials, surplus cultures, spore suspensions, etc., they should be decontaminated by method a) or b) above.
- D4. Formaldehyde vapour is an effective decontaminant, but the removal of its residue is rarely if ever complete, and gives rise to further formaldehyde vapour in warm enclosed spaces, thus possibly inhibiting the growth of test moulds.
Other volatile germicides are available, but may present explosive and/or toxic problems affecting safety, especially where large chambers are involved.

The use of formaldehyde and other volatile germicides should therefore be avoided.

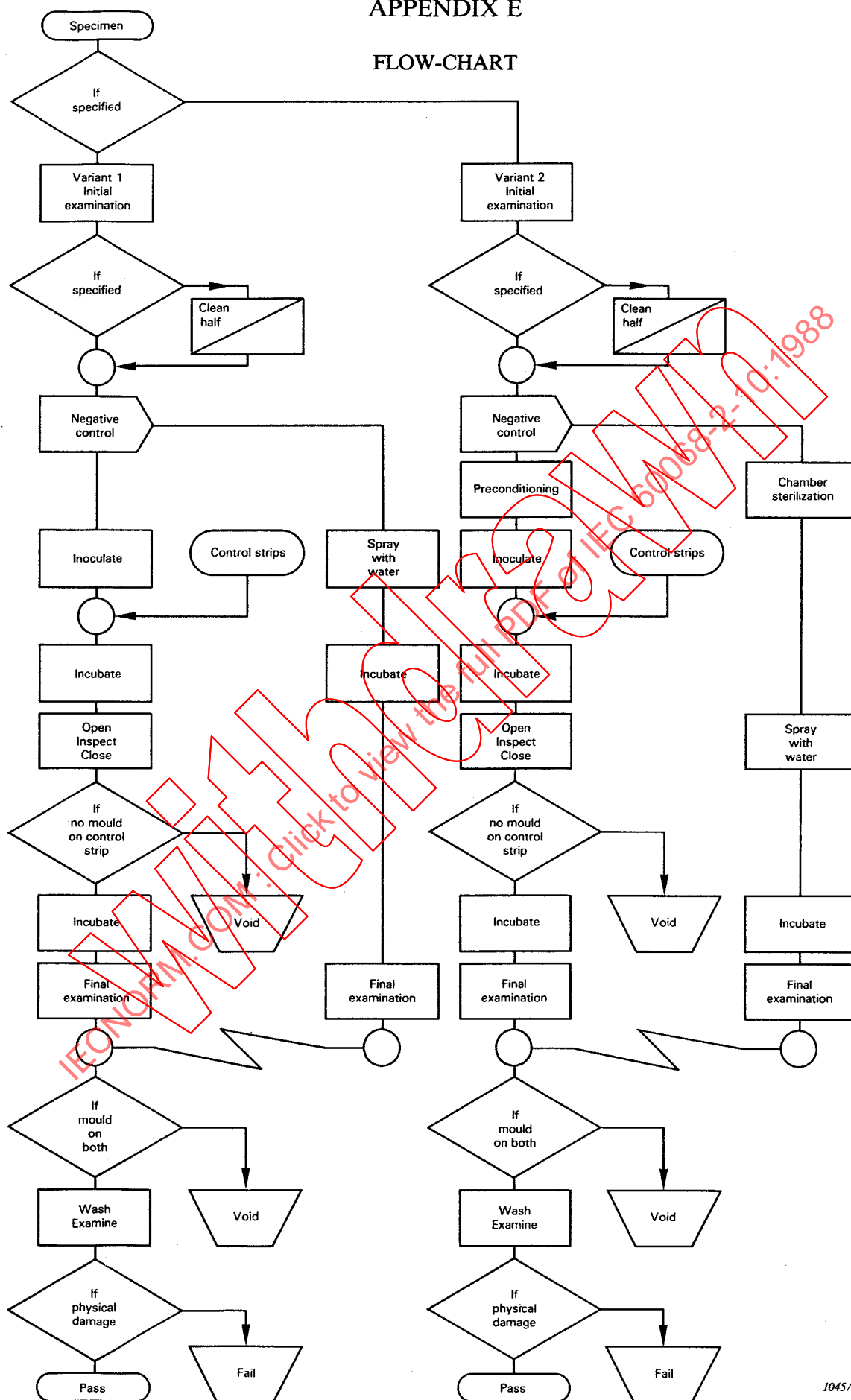
ANNEXE E

DIAGRAMME DU DÉROULEMENT



APPENDIX E

FLOW-CHART



ANNEXE F

GUIDE

F1. Mécanismes de contamination

Les champignons se développent dans le sol et dans ou sur la plupart des matériaux usuels. Ils se propagent par des spores qui se détachent du mycélium d'origine et, plus tard, germent pour donner un nouveau mycélium.

Ces spores sont très petites et sont facilement transportées par l'air en mouvement. Elles peuvent aussi se coller sur des particules de poussière et s'introduire dans les appareils.

Ainsi, toutes les parties d'un appareil dans lesquelles l'air peut pénétrer peuvent être contaminées par les spores de champignons transportées par cet air.

La contamination peut aussi être provoquée par les manipulations. Les spores peuvent être déposées par les mains ou dans les traces humides laissées par les mains.

La contamination peut aussi être produite par des acariens, capables de pénétrer dans de très petites fentes (jusqu'à 25 µm) et portant des spores sur leur corps. Les corps et les excréments des acariens, en s'agglutinant, peuvent produire un film d'agents nutritifs et d'humidité qui peut favoriser la propagation des moisissures à partir des spores.

F2. Germination et développement

L'humidité est indispensable à la germination des spores et, lorsqu'un film de poussière ou d'autre matériau hydrophile est présent à la surface, il peut extraire de l'atmosphère une humidité suffisante.

Lorsque l'humidité relative est inférieure à 65%, il ne peut y avoir ni germination ni croissance du mycélium. La croissance du mycélium sera d'autant plus rapide que l'humidité sera plus élevée au-dessus de cette valeur. Les spores peuvent néanmoins survivre pendant longtemps avec une humidité relative très faible; même lorsque le mycélium est mort, elles peuvent germer et redonner un nouveau mycélium dès que l'humidité est redevenue favorable.

En plus d'une humidité élevée de l'atmosphère, il est nécessaire, pour les spores, qu'il existe à la surface du spécimen une couche de matériau absorbant l'humidité. En supposant cela réalisé, la plupart des matériaux organiques apportent une nourriture suffisante pour un léger développement de mycélium. S'il y a de la poussière, celle-ci contient une source de nourriture largement suffisante. La croissance de moisissures est favorisée par de l'air stagnant et une absence de ventilation.

La température optimale pour la germination de la majorité des moisissures susceptibles de perturber le matériel est située entre 20 °C et 30 °C. Rares sont celles qui peuvent germer au-dessous de 0 °C, quelques-unes le peuvent jusqu'à 40 °C.

De nombreuses spores ne sont nullement altérées par une exposition prolongée au-dessous de 0 °C ou à des températures élevées, allant jusqu'à 80 °C.

Pour détruire les spores, il est recommandé d'utiliser les procédures indiquées dans l'annexe D.

APPENDIX F

GUIDANCE

F1. Mechanisms of contamination

Fungi grow in soil and in, or on, many types of common material. They propagate by producing spores which become detached from the main growth and later germinate to produce further growth.

These spores are very small and readily carried in moving air. They also adhere to dust particles and enter with them into equipment.

Thus, all parts of equipment into which air penetrates may be contaminated with mould spores carried in that air.

Contamination may also occur due to handling. Spores may be deposited by the hands or in the film of moisture left by the hands.

Contamination can in addition be caused by mites capable of penetrating into very small gaps (down to 25 µm) and carrying mould spores on their bodies. The dead bodies and excreta of the mites collect and may provide a film of nutrient and moisture which may favour the propagation of mould from the spores.

F2. Germination and growth

Moisture is essential to allow the spores to germinate, and where a layer of dust or other hydrophilic material is present on the surface, sufficient moisture may be abstracted by it from the atmosphere.

When the relative humidity is below 65%, no germination or growth will occur. The higher the relative humidity above this value, the more rapid the growth will be. Spores can, however, survive prolonged periods of very low humidity and even though the main growth has died, they will germinate and start a new growth as soon as the relative humidity becomes favourable again.

In addition to high humidity in the atmosphere, the spores require that there shall be on the surface of the specimen a layer of material which absorbs moisture. Providing this damp layer is present, most organic materials will supply sufficient nutrient to support at least a little growth. When dust is present, this contains ample nutrient for the purpose. Mould growth is encouraged by stagnant air spaces and lack of ventilation.

The optimum temperature of germination for the majority of moulds likely to give trouble in equipment lies between 20 °C and 30 °C. Rare types can, however, germinate below 0 °C and some as high as 40 °C.

Many spores are not damaged by prolonged exposure to subzero temperatures, nor by exposure to high temperatures up to 80 °C.

To kill spores it is recommended that the procedures given in Appendix D should be employed.

F3. Effets du mycélium

F3.1 Effets primaires

Les moisissures peuvent vivre sur la plupart des matériaux organiques, mais certains de ces matériaux peuvent être plus facilement attaqués que d'autres. La croissance des moisissures ne se produit normalement que sur des surfaces exposées à l'air et celles qui absorbent ou adsorbent l'humidité sont généralement plus susceptibles d'être attaquées.

Même s'il ne se produit qu'une légère attaque dangereuse sur un matériau, la formation d'un cheminement conducteur le long de la surface, due à une couche humide de mycélium, peut abaisser fortement la résistance d'isolement entre des conducteurs protégés par un matériau isolant.

Lorsque le mycélium humide se développe en un endroit situé dans le champ électromagnétique d'un circuit électronique à réglage critique, il peut provoquer une importante variation dans les caractéristiques fréquence/impédance du circuit.

Les matériaux les plus sensibles à l'attaque des moisissures sont les matériaux naturels tels que cuir, bois, textiles, cellulose et soie. La plupart des matériaux plastiques sont moins sensibles mais néanmoins exposés.

Les matériaux plastiques contiennent parfois des monomères, des oligomères non polymérisés et/ou additifs qui peuvent resurgir à la surface et constituer une nourriture pour les moisissures ; ainsi, une croissance importante peut se produire en surface lorsque ce matériau secondaire est exposé.

L'attaque des matériaux par les moisissures provoque en général une dégradation des caractéristiques mécaniques et/ou des modifications d'autres propriétés physiques.

Certains matériaux plastiques exigent, pour avoir une durée de vie satisfaisante, la présence d'un plastifiant; son absorption immédiate par des champignons peut conduire à une détérioration du matériau de base.

F3.2 Effets secondaires

Les moisissures qui se développent à la surface d'un matériau peuvent dégager des produits acides et d'autres électrolytes qui entraîneront une attaque de type secondaire du matériau.

Cette attaque peut conduire à des effets d'électrolyse ou de vieillissement, et le verre même peut perdre sa transparence dans ce processus. L'oxydation ou la décomposition peut être facilitée par la présence de catalyseurs sécrétés par les moisissures.

La présence d'une masse de mycélium peut former une éponge saturée qui maintient un degré hygrométrique élevé à l'intérieur du spécimen, même si l'hygrométrie extérieure est retombée. Cela peut conduire à une défaillance des composants produite par l'humidité seule.

La présence des champignons affecte l'esthétique de l'appareil par une apparence désagréable et aussi par l'odeur qui accompagne fréquemment les moisissures.

F3.3 Effets associés aux matériels

En raison de la conception modulaire et de l'interconnexion de la plupart des matériels modernes, le développement des moisissures dans une partie d'un matériel peut avoir des effets sévères sur un autre sous-ensemble ou module qui, en lui-même, ne permettrait pas le développement de moisissures.

F3. Effects of growth

F3.1 *Primary effects*

Moulds can live on most organic materials, but some of these materials are much more susceptible to attack than others. Growth normally occurs only on surfaces exposed to the air, and those which absorb or adsorb moisture will generally be more susceptible to attack.

Even where only a slightly harmful attack on a material occurs, the formation of an electrically conducting path across the surface due to a layer of wet mycelium can drastically lower the insulation resistance between electrical conductors supported by an insulating material.

When the wet mycelium grows in a position where it is within the electromagnetic field of a critically adjusted electronic circuit, it can cause a serious variation in the frequency-impedance characteristics of the circuit.

Among the materials very susceptible to attack are leather, wood, textiles, cellulose, silk and other natural materials. Most plastics materials are less susceptible, but are also attacked.

Plastics materials may contain non-polymerized monomers, oligomers and/or additives which may exude to the surface and be a nutrient for fungi and a copious growth may occur on the surface where this secondary material is exposed.

Mould attack on materials usually results in a decrease of mechanical strength and/or changes in other physical properties.

Some plastics materials depend, for a satisfactory life-span, on the presence of a plasticiser. This plasticiser, if it is readily digested by fungi, will eventually give rise to failure of the main material.

F3.2 *Secondary effects*

The growing mould on the surface of a material can yield acid products and other electrolytes which will cause a secondary attack on the material.

This attack can lead to electrolytic or ageing effects, and even glass can lose its transparency due to this process. Oxidation or decomposition may be facilitated by the presence of catalysts secreted by the mould.

The presence of a mass of mycelium can provide a moisture reservoir which will maintain a high humidity within a specimen even when the humidity has fallen to a low level outside it. This can lead to failure of components due to humidity alone.

The presence of mould growth can be aesthetically disagreeable due both to poor appearance and to the aroma which frequently accompanies the mould.

F3.3 *Effects associated with equipment*

Due to the modular design and inter-connection of much modern equipment, mould growth in one area of equipment may have quite severe effects in another sub-unit or module which in itself may not permit the growth of mould.

Les effets possibles sur les performances globales du matériel doivent donc être prévus lorsque l'on considère les effets primaires et secondaires obtenus sur les sous-ensembles ou les composants individuels.

Il y a lieu de noter que tout ce qui concerne l'identification du matériel et de l'équipement, par exemple : étiquettes, marquage, etc. devrait avoir le même niveau de protection que l'équipement lui-même.

Note. — Il convient également de se rappeler que certains matériels peuvent contenir des composants et/ou des sous-ensembles qui, pour diverses raisons, n'ont pas été conçus pour résister aux moisissures et que les performances globales des matériels peuvent être affectées par la tenue limitée de telles pièces.

F4. Prévention contre le développement des moisissures

Les procédés suivants ont tous été utilisés avec des degrés de réussite différents pour combattre les effets nuisibles du développement des moisissures :

- F4.1 Il est recommandé que tous les matériaux isolants soient choisis de façon à présenter le plus de résistance possible aux moisissures, pour rendre maximal le temps pris par le mycélium pour se développer, et minimiser tout dommage causé aux matériaux par un tel développement de moisissures.
- F4.2 L'utilisation de lubrifiants dans l'assemblage, de vernis et de produits de finition, etc. est souvent nécessaire pour obtenir le fonctionnement désiré ou une certaine durabilité du produit. Il convient que ces matériaux soient choisis en fonction de leur aptitude à résister au développement des moisissures. Même s'il apparaît que les lubrifiants, etc., ne peuvent porter des moisissures, ils peuvent attirer de la poussière qui, à son tour, portera des moisissures.
- Cependant, il faut noter que l'emploi de produits contenant des fongicides est souvent recommandé pour la protection de certains matériaux.
- F4.3 Des pièges à humidité, qui peuvent se former lors de l'assemblage du matériel et dans lesquels les moisissures peuvent se développer, doivent être évités. Exemples de ces pièges accidentels : les espaces compris entre des prises non étanches et leurs supports ou les espaces compris entre des cartes de circuits imprimés et leurs connecteurs latéraux dans certaines positions particulières.
- F4.4 L'étanchéité absolue du matériel avec une atmosphère interne sèche et propre est la technique la plus efficace pour empêcher le développement des moisissures.
- F4.5 Un chauffage permanent dans une enceinte fermée peut maintenir un degré hygrométrique suffisamment bas pour éviter le développement des moisissures.
- F4.6 Le fonctionnement d'un matériel dans un environnement convenablement contrôlé peut empêcher le développement nuisible des champignons.
- F4.7 Un dessiccateur régulièrement renouvelé, placé dans une enceinte partiellement étanche, peut y maintenir un degré hygrométrique suffisamment bas pour empêcher le développement nuisible des champignons.
- F4.8 Le nettoyage soigneux et périodique d'un matériel sous coffret, éliminant la majeure partie de la poussière et des moisissures accumulées (film nutritif), peut empêcher temporairement la détérioration.
- F4.9 Les fongicides incorporés dans des vernis, en tablettes, ou pulvérisés directement peuvent empêcher le développement des moisissures pendant un certain temps. Voir plus loin les recommandations sur les fongicides (article F7).

The possible effects on the performance as a whole shall therefore be assessed when considering primary or secondary effects on individual sub-units or components.

Attention is drawn to the fact that everything contributing to the identification of the material and equipment, e.g. labels, markings, etc., should be given the same level of protection as the equipment itself.

Note. — It should also be remembered that some equipment may contain components and/or sub-assemblies which for various reasons may not have been designed to be resistant to mould growth, and the overall performance of the equipment may be affected by the limited resistance of these items.

F4. Prevention of mould growth

The following procedures have all been used with varying degrees of success in combating the harmful effects of mould growth :

- F4.1 All insulating materials used should be chosen to have as great a resistance to mould growth as possible, thus maximizing the time taken for mycelium to grow, and minimizing any damage to the material consequent upon such growth.
- F4.2 The use of lubricants during assembly, varnishes, finishes, etc., is frequently necessary in order to obtain the required performance or durability of a product. Such materials should be chosen with regard to their ability to resist mould growth. Even though it can be shown that the lubricants, etc., do not support mould growth, they may collect dust which in turn will support mould growth.

However, it should be noted that the use of products containing fungicides is often recommended for the protection of some materials.
- F4.3 Moisture traps which may be formed during the assembly of equipment and in which mould can grow should be avoided. Examples of such less-obvious traps are : between unsealed mating plugs and sockets or between printed circuit cards and edge connectors in particular attitudes.
- F4.4 Complete sealing of the equipment with a dry, clean atmosphere within is the most effective technique for preventing mould growth.
- F4.5 Continuous heating within an enclosure can ensure a sufficiently low humidity to avoid mould growth.
- F4.6 Operation of equipment within a suitable controlled environment can prevent harmful growth of fungi.
- F4.7 Regularly replaced desiccants within a partially sealed enclosure can maintain a humidity sufficiently low to prevent harmful growth of fungi.
- F4.8 Periodic and careful cleaning of enclosed equipment, to remove any accumulated growth and dust (nutritive layer), can hold deterioration in check.
- F4.9 Fungicides, carried for example in varnishes, included in tablets, or sprayed directly, can prevent mould growth for a time. See Clause F7 for guidance on fungicides.