

Rapport de recherche fondamentale

Projet d'amélioration des
connaissances sur la mэрule pleureuse
(*Serpula lacrymans*) au Québec

Rapport de recherche fondamentale

Projet d'amélioration des connaissances sur la mэрule pleureuse (*Serpula lacrymans*) au Québec

Participantés et participants au projet

Caroline Duchaine, PhD, Professeure titulaire, Chaire de recherche du Canada sur les bioaэrosols, Centre de recherche de l'Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec (CRIUCPQ), Université Laval

Marc Veillette, MSc, CRIUCPQ, Université Laval

Jodelle Degois, PhD, CRIUCPQ, Université Laval

Daniel Verreault, PhD, Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ), ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques

Guillaume Bilodeau, PhD, Agence canadienne d'inspection des aliments

Emily Giroux, MSc, Agence canadienne d'inspection des aliments

Avec l'aide financière de la Société d'habitation du Québec.



Table des matières

Résumé.....	4
Mise en contexte	5
Déroulement de l'étude.....	6
Limites et portée de ce projet et changements par rapport aux activités prévues..	6
Objectifs du projet.....	7
État des travaux et description des activités réalisées.....	9
Résultats.....	10
Développement d'une méthode d'analyse de biologie moléculaire	10
Développement d'une approche bio-informatique pour déterminer la distribution	11
Évaluation de la biodiversité fongique dans les échantillons de matériaux	14
Étude de la dispersion aérienne de <i>Serpula lacrymans</i>	15
Conclusions et constats de l'étude	20
D'autres espèces du genre <i>Serpula</i> peuvent causer des dommages similaires à ceux engendrés par la mэрule pleureuse	20
La mэрule pleureuse un champignon à la présence sporadique à l'état naturel	20
La mэрule pleureuse est fréquemment accompagnée de moisissures présentant un risque pour la santé.....	20
Les spores de <i>Serpula lacrymans</i> peuvent être dispersées dans l'air intérieur et ambiant lors de travaux	21
Recommandations.....	23
Perspectives de recherche	23
Références.....	24
Annexes.....	25
Annexe 1 : Détails des méthodes développées aux laboratoires du CEAEQ :	25
Annexe 2 : Détails des échantillons retrouvés dans la banque de données SRA à l'aide du protocole bio-informatique	27
Annexe 3 : Amorces, sonde et thermo-protocole utilisés pour la quantification de <i>Serpula lacrymans</i> dans les échantillons d'air	29



Résumé

La mэрule pleureuse est un champignon qui se nourrit de matiэre ligneuse, ce qui inclut le bois d'œuvre utilisé dans la construction d'immeubles. Les dommages causés par ce champignon peuvent affecter les propriétés structurales des matériaux touchés et nécessiter des travaux de restauration complexes. Ce champignon est faiblement retrouvé dans l'environnement et son écologie est très peu décrite dans la littérature scientifique. Au Québec, peu de données sont disponibles quant à la prévalence de bâtiments atteints par ce champignon sur le territoire et l'écologie de ce champignon nuisible est mal connue en sol québécois.

Ce projet de recherche a été initié afin de collecter des données sur l'état, la détection et l'évolution de la mэрule pleureuse au Québec. Il vise à :

- Développer des méthodes d'analyses de laboratoire permettant l'étude et la détection du champignon *Serpula lacrymans* en sol québécois.
- Développer une méthode visant à la détermination de la distribution de *Serpula lacrymans* dans différentes banques de données de biodiversité.
- Réaliser l'étude de bâtiments activement contaminés par *Serpula lacrymans* pour évaluer la biodiversité fongique des matériaux contaminés ainsi que l'émission aérienne lors de travaux en cours (rénovation ou démolition).

Bien qu'il ne soit pas démontré que la transmission aérienne de ces spores peut mener à la contamination de bâtiments avoisinants, des techniques d'abattement sont à envisager par mesure de précautions afin de réduire la quantité de poussières et la dissémination possible des spores. Ces mesures permettent à la fois de réduire la propagation potentielle de la mэрule ainsi que l'exposition à des spores de moisissures présentes sur les matériaux contaminés (*Penicillium* et *Aspergillus*). Ces mesures permettent d'assurer une meilleure qualité de l'air et un environnement plus sécuritaire pour les ouvriers qui réalisent les travaux.



Mise en contexte

Serpula lacrymans, communément nommé mэрule pleureuse, est un champignon appartenant au phylum des basidiomycètes ou *Basidiomycota* [1, 2]. Cette espèce de champignon est lignivore, c'est-à-dire qu'elle se nourrit de matière ligneuse, ce qui inclut le bois d'œuvre utilisé dans la construction d'immeubles. On l'appelle *lacrymans* ou « pleureuse » du fait que son mycélium peut produire un exsudat coloré qui peut ressembler à des larmes. En Europe, ce champignon du bois est aussi appelé « mэрule des maisons » ou « cancer du bâtiment ». Les dommages causés par ce champignon, lorsqu'il s'attaque au bois d'œuvre présent dans les bâtiments et en affecte les propriétés structurelles, peuvent être considérables et vont nécessiter des travaux de restauration complexes ou même ultimement la destruction du bâtiment.

Cette espèce de champignon est faiblement retrouvée dans l'environnement et son écologie est très peu décrite dans la littérature scientifique. Elle est connue pour sa capacité à détruire les souches de feuillus et de conifères et pour sa capacité à croître sur des matériaux ayant un faible taux d'humidité [3-5].

Il n'existe qu'un très faible nombre de publications scientifiques traitant des effets de la mэрule pleureuse sur la santé humaine. Selon l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ)¹, la littérature scientifique et médicale disponible ne fournit aucune preuve que *S. lacrymans* est un champignon pathogène ou infectieux pour l'humain. Aussi, selon l'INSPQ, il n'y a pas d'indication que ce champignon produit des toxines et il n'existe actuellement pas de preuves claires concernant un potentiel pouvoir allergénique.

Au Québec, la présence de la mэрule pleureuse est de plus en plus médiatisée et quelques données sont disponibles quant à la prévalence de bâtiments atteints par ce champignon sur le territoire [6]. Dans son rapport rendu public au mois de février 2018², le comité interministériel sur la mэрule pleureuse a conclu que l'écologie de ce champignon nuisible est mal connue en sol québécois. En effet, il n'existe pas de donnée sur sa prévalence en milieu naturel et en milieu bâti ni sur sa résistance aux conditions environnementales propres au Québec. Ainsi, le comité a recommandé de suivre la situation sur la mэрule au Québec et de poursuivre l'acquisition de connaissances à cet égard. Le projet de recherche a été initié en collaboration avec le milieu universitaire afin de répondre à cette recommandation.

¹ INSTITUT NATIONAL DE SANTÉ PUBLIQUE. *Mэрule pleureuse*, [En ligne], <https://inspq.qc.ca/qualite-de-l-air/air-interieur/merule-pleureuse>, (octobre 2021)

² SOCIÉTÉ D'HABITATION DU QUÉBEC. État de la situation sur la mэрule pleureuse au Québec [En ligne], <http://www.habitation.gouv.qc.ca/fileadmin/internet/publications/Etat-situation-Merule-pleureuse.pdf>

Déroulement de l'étude

Quatre objectifs de recherche distincts ont été proposés afin de collecter des données sur l'état, la détection et l'évolution de la mэрule au Québec. Une proposition de recherche a été conjointement adoptée en 2018 par le Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ) et l'Université Laval. Les deux premiers objectifs consistaient à développer des méthodes d'analyses de laboratoire permettant l'étude et la détection du champignon *Serpula lacrymans* en sol québécois, alors que les deux autres objectifs visaient l'étude de bâtiments contaminés par *Serpula lacrymans* pour évaluer la biodiversité fongique des matériaux contaminés ainsi que l'émission aérienne lors de travaux en cours (rénovation ou démolition).

Limites et portée de ce projet et changements par rapport aux activités prévues

Le déroulement de l'étude a été perturbé par différents facteurs qui ont eu un impact sur la proposition de recherche. En effet, dans un premier temps, la stratégie de recrutement et la coordination des participants par les différents intervenants au projet de recherche, soit l'Université Laval, le CEAEQ et la société de l'habitation du Québec (SHQ), sont rapidement apparues comme un facteur limitant. Un nombre restreint de participants au Programme d'intervention résidentielle — mэрule ont accepté de collaborer à l'étude. Il fut également difficile d'obtenir, de la part des occupants ou des entrepreneurs, les informations nécessaires à la planification des échantillonnages de terrain. De plus, la pandémie de COVID-19 a durement affecté la capacité à recruter et à visiter des lieux contaminés par la mэрule afin de réaliser les échantillonnages, avec les diverses mesures sanitaires, la fermeture des laboratoires, l'impossibilité de déplacements interrégionaux et la limite des contacts interpersonnels.



Objectifs du projet

Objectif 1 : Développer une méthode d'analyse de biologie moléculaire pour la détection de *Serpula lacrymans* dans des échantillons de matériaux de construction.

Afin d'être en mesure de valider la présence de mэрule pleureuse dans les matériaux affectés par le champignon dans les bâtiments, une méthode basée sur l'amplification de l'acide désoxyribonucléique (ADN) par réaction en chaîne de la polymérase (PCR) a été développée par le CEAEQ (cette méthode est nommée méthode qPCR ITS2²). Initialement, la méthode qPCR ITS2 a été développée pour la détection spécifique des espèces *Serpula lacrymans* et *Serpula himantioides*. Une seconde méthode (méthode nommée méthode PCR SLH³), moins spécifique, mais plus inclusive, a été développée en parallèle pour permettre de détecter et d'identifier par séquençage d'ADN les espèces du genre *Serpula* présentes au Québec.

Objectif 2 : Développer une méthode visant à la détermination de la distribution de *Serpula lacrymans* dans différentes banques de données de biodiversité et valider cette méthode.

Dans la littérature scientifique, la distribution environnementale de la mэрule pleureuse est peu décrite. Étant donné l'impossibilité de déployer les ressources nécessaires requises afin de bien décrire sa présence sur le territoire, une méthode alternative basée sur une approche bio-informatique a été développée. Ainsi, l'objectif 2 vise à élaborer une méthode de traitement et de recherche d'information dans les banques de données issues de diverses recherches visant à décrire la biodiversité fongique dans différents environnements impliquant la dégradation du bois. Cette méthodologie, une fois déployée pour l'étude spécifique de *Serpula lacrymans*, pourrait être utilisée afin de rechercher d'autres champignons lignivores.

Objectif 3 : Décrire la flore fongique présente sur des échantillons de matériaux de construction dégradés par une croissance de champignons lignivores.

Les conditions précises menant à la colonisation et la dégradation des matériaux par la mэрule pleureuse ne sont pas décrites dans la littérature scientifique. Afin de documenter cet aspect l'ADN extrait par le CEAEQ dans le cadre de l'objectif 1 sera utilisé afin de réaliser le séquençage à haut débit et l'analyse bio-informatique de la diversité fongique. Ainsi il sera possible

² qPCR ITS2 : la lettre q (pour « quantitatif ») est ajouté devant l'acronyme PCR pour indiquer qu'il s'agit d'une amplification avec une quantification en temps réel. L'acronyme ITS2 indique la région d'ADN visée par la méthode, soit « Internal Transcribed Spacer 2 ».

³ PCR SLH : l'acronyme SLH fait référence à *Serpula lacrymans* et *Serpula himantioides*.



d'identifier les genres de moisissures présents dans les matériaux en présence de mэрule.

Objectif 4 : Vérifier l'émission aérienne de *Serpula lacrymans* à partir de bâtiments activement contaminés.

Il n'y a actuellement pas de données scientifiques qui permettent d'évaluer le risque de dissémination environnementale de la mэрule pleureuse par l'air. Un protocole scientifique contrôlé et exhaustif est nécessaire afin de déterminer si la présence de ce champignon dans un bâtiment activement contaminé et des travaux de réparation ou de démolition visant à retirer les matériaux contaminés peuvent avoir un impact sur la dispersion des spores par l'air dans les lieux avoisinants et ainsi contribuer à contaminer l'environnement. L'accès à des bâtiments contaminés représente une occasion pertinente d'accumuler des données observationnelles permettant de décrire la présence des spores de *Serpula lacrymans* dans l'air et d'évaluer l'efficacité de méthodes de contrôle des aérosols.



État des travaux et description des activités réalisées

La méthode qPCR ITS2, développée à l'objectif 1, a été utilisée pour déceler la présence de *Serpula lacrymans* dans des échantillons de matériaux reçus au Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec dans le cadre du Programme d'intervention résidentielle — mэрule de la SHQ. Cette méthode est utilisée de manière routinière pour détecter rapidement les espèces les plus souvent retrouvées dans les matériaux contaminés.

La méthode PCR SHL, qui permet l'amplification d'un éventail plus large du genre *Serpula*, ainsi que la méthode de séquençage, qui avait initialement été développé pour la validation de la méthode qPCR ITS2, sont utilisées de manière routinière. En effet, puisque la demande analytique du Programme d'intervention résidentielle — mэрule de la SHQ a évolué pour inclure toutes les espèces du genre *Serpula*, toutes les méthodes développées à l'objectif 1 continuent à être utilisées dans les laboratoires du CEAEQ. Cette stratégie permet de détecter un plus large éventail d'espèces qu'avec la méthode qPCR ITS2.

Une collaboration avec l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) a mené à l'élaboration d'une approche bio-informatique novatrice permettant d'effectuer la recherche de séquences d'ADN cibles dans de gigantesques bases de données publiques. Cette approche, appliquée pour questionner les bases de données provenant des protocoles de recherche effectués au Québec, mais aussi à l'international, a permis de constater la présence de *Serpula lacrymans* dans l'environnement.

Afin d'identifier les champignons cohabitant avec *S. lacrymans* présents dans les matériaux, un total de 60 échantillons, provenant de 21 bâtiments échantillonnés dans la province de Québec, ont été analysés en séquençage d'ADN à haut débit. Ces analyses, effectuées afin de répondre à l'objectif 3, ont permis de démontrer que lorsque *Serpula lacrymans* est présente, elle est généralement l'espèce la plus abondante et la seule étant lignivore.

Finalement, plus d'une vingtaine d'échantillons d'air ont été prélevés afin d'évaluer la dissémination de *Serpula lacrymans* par voie aérienne. Ces prélèvements ont été réalisés en marge de travaux de rénovation ou de démolition de bâtiments activement contaminés par la mэрule pleureuse. Pour les besoins de la recherche académique, une modification du protocole qPCR ITS2 a été effectuée afin de mesurer la charge fongique de manière spécifique à l'espèce *S. lacrymans* et ainsi quantifier seulement cette espèce. La modification de la méthode qPCR ITS2 consiste à utiliser une sonde fluorescente pour apporter plus de spécificité, de sensibilité et de reproductibilité à la méthode [7, 8], les détails sont présentés à l'annexe 3.

Résultats

Développement d'une méthode d'analyse de biologie moléculaire

Le premier objectif consistait à développer une méthode d'analyse de biologie moléculaire pour la détection de *Serpula lacrymans* dans des échantillons de matériaux de construction.

Pour ce faire, une méthode qPCR ITS2 a été développée pour la détection de *Serpula lacrymans* par qPCR. Elle permet aussi de détecter *Serpula himantioides*, mais pas de détecter les autres espèces du même genre. Une seconde méthode de détection, PCR SLH, basée sur une amplification PCR suivie d'une migration sur gel, a été développée en parallèle et permet la détection du genre *Serpula*, incluant *S. lacrymans*, *S. himantioides*, *S. pulverulenta*, *S. tignicola* et *S. incrassata*.

Les séquences de *S. lacrymans* et de plusieurs autres espèces de *Serpula* retrouvées dans la littérature scientifique ont été utilisées pour concevoir les amorces des deux méthodes d'amplification de l'ADN développées au CEAEQ.

Des spécimens de plusieurs organismes d'intérêt ont été acquis par le CEAEQ à partir de collections reconnues pour mettre à l'épreuve les méthodes développées. Les résultats de la validation en laboratoires sont résumés dans le tableau I.

Tableau I : Résultats de validation des méthodes d'amplification

Souche	qPCR ITS2	PCR SLH (bande à environ 1 000 pb)
<i>Serpula lacrymans</i> MYA-656	+	+
<i>Serpula himantioides</i> ATCC 32555	+	+
<i>Pseudomerulius aureus</i> ATCC 64499	-	-
<i>Antrodia vaillantii</i> ATCC MYA-653	-	-
<i>Leucogyrophana pinastri</i> ATCC 34490	-	-
<i>Meruliporia incrassata</i> ATCC 11236 (<i>Serpula incrassata</i>)	-	+

L'analyse des échantillons de terrain a permis d'identifier, par séquençage d'ADN, deux espèces qui n'avaient pas été incluses lors de la validation initiale, soit *S. pulverulenta* et *S. tignicola*. La SHQ a intégré ces espèces à son Programme d'intervention résidentielle.

Développement d'une approche bio-informatique pour déterminer la distribution

Le second objectif vise à déterminer la distribution de *Serpula lacrymans* dans différentes banques de données de biodiversité.

La collaboration avec l'équipe de recherche de l'ACIA a permis de développer une approche bio-informatique permettant d'effectuer la recherche de séquences spécifiques. Des séquences signatures spécifiques à *Serpula lacrymans* furent utilisées afin d'interroger la *Sequence Read Archive* (SRA), de l'organisme *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), qui est la plus grande base de données publique mondiale. Cette base de données contient toutes les séquences d'ADN qui sont déposées lors de la publication de travaux scientifiques. Ainsi, la publication de travaux de recherche qui ont utilisé des approches de séquençage d'ADN fongique mène au dépôt des séquences générées par l'analyse des échantillons de ces études. Lors du dépôt des séquences, plusieurs informations permettent d'identifier certaines variables en lien avec les échantillons. Les paramètres de sélection qui ont été utilisés pour la recherche sont les suivants :

Type d'organismes cibles : Mycètes

Région de l'ADN séquencé : ITS (région spécifique à *Serpula lacrymans* dans laquelle la méthode qPCR ITS2 a été développée)

Mots clés sur le type d'échantillons : Forest Decay, Quebec, Ontario, Forest, Soil, Indoor, Wood decay, Fungal Decay

Cet algorithme de recherche a permis d'identifier différents échantillons contenant des séquences fongiques dans la banque de données SRA. Par la suite, un protocole bio-informatique a été utilisé sur ces échantillons dans le but de vérifier la présence des séquences signature propres à *Serpula lacrymans*. Les détails de la procédure bio-informatique sont disponibles publiquement sur la plateforme Github ⁴[9].

Au total, en combinant les échantillons provenant de séquençage de génomes entiers (métagénomes) d'environnements intérieurs, de dégradation du bois et de sol, c'est 2 565 échantillons qui ont été analysés afin d'y détecter la présence de *Serpula lacrymans*. La présence des séquences cibles de *Serpula lacrymans* a été détectée dans 51 échantillons provenant de 6 études différentes. Il faut toutefois noter qu'aucune de ces études n'a été réalisée au Québec. Cette approche expérimentale a permis de détecter la présence de ce champignon à l'état naturel hors de la contamination de bâtiments. La liste des échantillons positifs est représentée dans le tableau 2. Le détail complet de ces échantillons est à l'annexe 2.

⁴ https://github.com/girouxem/Serpula_lacrymans

**Tableau 2 : Échantillons contenant des séquences signatures de *Serpula lacrymans* présentes dans la banque de données SRA
 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>)**

# SRA	Soumission	# Accession	Date de publication	de	Qté	Sources des échantillons
ERA828797		SAMEA3920656	2016-12-30		20	Phyllosphere
ERA977723		SAMEA104164874	2018-05-14		2	Épinette de Norvège
ERA404282		SAMEA3215244	2015-09-01		8	Décomposition du bois
ERA427691		SAMEA3322363	2016-05-31		13	Décomposition du bois
SRA589119		SAMN07370557	2017-07-19		1	Sol
SRA603290		SAMN07568095	2017-08-28		7	Sol

Étude 1 (ERA828797) :

Cette étude menée en Autriche a étudié la diversité fongique présente à la surface des feuilles de plantes ornementales dans une serre. Des séquences signatures propres à *Serpula lacrymans* ont été détectées dans 20 échantillons sur les 56 que les auteurs ont soumis à la base de données.

Étude 2 (ERA977723) :

Cette publication finlandaise avait pour objectif de mieux connaître la diversité fongique présente sur les épinettes de Norvège, en forêt, afin d'identifier une possible relation avec les infections causées par la moisissure *Heterobasidion*. Sur un total de 96 échantillons soumis à la base de données, deux comportaient des séquences signatures de *Serpula lacrymans*.

Étude 3 (ERA404282) :

Afin d'étudier la dynamique de la décomposition des souches d'épinettes de Norvège, 107 échantillons de bois en décomposition au sol ont été prélevés dans cinq forêts sauvages finlandaises différentes. De ce lot d'échantillons, des séquences signatures de *Serpula lacrymans* ont été retrouvées dans un total de 8 échantillons.

Étude 4 (ERA427691) :

Cette étude, menée aux Pays-Bas, s'intéressait à la dynamique de décomposition du bois (feuillus et résineux) en forêt. Un total de 211 échantillons de bois en décomposition et de sol adjacent ont été déposés dans la banque de données. Treize échantillons contenant des séquences signatures de *Serpula lacrymans* ont été identifiés.

Étude 5 (SRA589119) :

Cette étude américaine visait à comprendre la dynamique de décomposition du bois. Dans ce cas précis, les auteurs ont stérilisé des buches de résineux et les ont volontairement déposées au sol dans une forêt du Minnesota. Ils ont ainsi suivi



l'évolution pendant une période de 4 ans. Des échantillons de bois en décomposition et du sol sous les buches ont été analysés. Sur un total de 60 échantillons de bois et de sol qui ont été soumis à la base de données, un seul comportait des séquences de *Serpula lacrymans*.

Étude 6 (SRA603290) :

Étude américaine ayant porté sur la caractérisation de la flore fongique de sols traités avec des composés chimiques comme agents préservatifs visant à contrer la dégradation du bois. Sur un total de 24 échantillons soumis à la base de données, 7 comportaient des séquences signatures propres à *Serpula lacrymans*.

Évaluation de la biodiversité fongique dans les échantillons de matériaux

Le troisième objectif visait à décrire la flore fongique présente sur des échantillons de matériaux de construction dégradés par une croissance de champignons lignivores.

Pour la mise au point des méthodes de l'objectif I, 60 échantillons de matériaux provenant de 21 bâtiments différents ont été collectés soit par des entrepreneurs privés, des particuliers ou par l'équipe de recherche au début du projet. L'ADN total a été extrait et séquencé par séquençage à haut débit via la plateforme de l'Institut de biologie intégrative et des systèmes (IBIS) de l'Université Laval. Des séquences appartenant au genre *Serpula* ont été détectées dans 43 des échantillons. Les résultats ont montré une très faible diversité fongique dans les échantillons de matériaux contaminés par *Serpula lacrymans*. Plus précisément, *Serpula* représentait entre 0,04 % et 98,85 % des séquences fongiques, avec une médiane de 48,84 %. Ce qui démontre une variabilité importante dans la place qu'occupe ce champignon dans l'écologie des matériaux. Toutefois, la stratégie d'échantillonnage pour la détection de *Serpula lacrymans* dans des échantillons de matériaux étant sélective aux structures typiques du champignon, une partie de la flore fongique présente pourrait ne pas avoir été prélevée lors de la prise d'échantillons. Cette étape apparaît comme un facteur de biais dans le traitement des données relatives à cet objectif.

La biodiversité fongique est faible dans les échantillons de matériaux contaminés. Entre 1 et 15 genres fongiques ont été détectés en coprésence avec *Serpula* (médiane de 3). Les premiers résultats suggèrent que la biodiversité fongique est plus importante dans les échantillons où l'abondance relative de *Serpula* est moindre. Les genres fongiques *Aspergillus*, *Penicillium* et *Wallemia* ont été retrouvés en coprésence avec *Serpula lacrymans* dans 59 %, 51 % et 30 % des échantillons respectivement. À ce jour, aucun autre champignon lignivore n'a été détecté en coprésence avec *Serpula lacrymans*. Ceci peut s'expliquer par la nature invasive de *Serpula* qui ne permet pas à une autre espèce d'utiliser le même substrat pour se développer.

Étude de la dispersion aérienne de *Serpula lacrymans*

Cet objectif du projet visait à étudier l'émission aérienne de *Serpula lacrymans* à partir des bâtiments contaminés, notamment lors d'activités de rénovation ou de démolition. En fonction du type d'activités, différentes stratégies d'échantillonnage ont été adoptées. Elles sont récapitulées dans le tableau 4.

Des prélèvements intérieurs ont été réalisés avant ou après des activités de rénovation. En parallèle, un échantillonnage d'air était effectué à l'extérieur du bâtiment, en aval du vent dominant ou à la sortie des ventilateurs des systèmes de traitement de l'air utilisés dans le confinement des chantiers. Un échantillon contrôle, en amont des vents, a aussi été prélevé.

Pour les prélèvements intérieurs, l'échantillonneur utilisé était le SASS® 3100 Dry air sampler (Research International, USA) avec un volume prélevé de 10 m³ d'air. Pour les prélèvements extérieurs, deux échantillonneurs ont été déployés : un échantillonneur à très haut débit (4 000 L/min, SASS®4000 aerosol concentrator, Research International, USA) et un échantillonneur à haut débit (300 L/min, SASS® 3100, Research International, USA).

L'ADN des bioaérosols présent sur les filtres fut extrait et utilisé pour mesurer les concentrations de *Serpula lacrymans* par qPCR. Le détail des séquences des amorces et de la sonde utilisées, le thermo-protocole et la composition des réactions qPCR sont disponibles à l'annexe 3.

Prélèvements intérieurs : rénovation, pré- ou post-rénovation

Les résultats sont présentés selon l'état des travaux au moment des prélèvements d'air. Les différents cas rencontrés sont détaillés dans le tableau 3.

Prélèvements d'air intérieurs avant travaux :

Trois bâtiments ont été visités avant le début des travaux (A, B et C). Parmi les trois bâtiments investigués avant les travaux, deux d'entre eux contenaient une concentration aérienne élevée de *Serpula lacrymans* (**bâtiment A** : 30 000 copies/m³ et **bâtiment B** : 117 000 copies/m³). Ces deux bâtiments ont été détruits par la suite.

Pour le **bâtiment C**, une concentration faible de 14 copies/m³ a été mesurée. Ce bâtiment fut l'objet de rénovations.

Prélèvements d'air intérieur post-travaux :

Un seul bâtiment fut visité afin d'y prélever des échantillons post-rénovation soit le **bâtiment D**. Des 4 échantillons qui y furent collectés, 1 seul était au-dessus de la limite de détection de la méthode qPCR avec une concentration de 2 copies/m³.

Prélèvements d'air intérieurs lors de travaux de rénovation :

Des échantillonnages terrain furent réalisés lors de travaux de rénovation dans les **bâtiments C** et **E**. Le même prestataire était responsable des deux rénovations. Le

même protocole de confinement y a été employé avec traitement de l'air par filtre HEPA avant son rejet à l'extérieur. D'après les premières observations, cette mesure est efficace pour limiter la dispersion de *Serpula lacrymans* dans l'environnement extérieur.

Lors des activités de rénovation effectuées au **bâtiment C**, les concentrations ambiantes mesurées étaient entre 200 et 600 copies/m³ et le contrôle extérieur y était négatif. Le cas du bâtiment C constitue un cas particulier démontrant la complexité de la détection de *Serpula lacrymans* dans un bâtiment potentiellement contaminé. La présence probable du champignon avait été détectée visuellement lors de travaux par l'observation d'une masse blanche gélatineuse sans présence visuelle de spores pouvant s'apparenter, quoique non spécifique, à *S. lacrymans*. Toutefois, quatre échantillons de matériaux ont été prélevés et ils se sont révélés négatifs par qPCR et un seul a montré une faible abondance relative en *Serpula* par séquençage à haut débit. Lors des travaux de rénovation, les observations visuelles ont pu mettre en évidence la présence d'une contamination probablement ancienne en raison de la sécheresse du champignon et les dégradations importantes qu'il avait provoquées. Ceci montre l'importance de la stratégie d'investigation du champignon qui repose non seulement sur des observations visuelles, mais aussi sur une méthode d'identification moléculaire précise.

Les rénovations dans le **bâtiment E** étaient limitées à une seule pièce (cuisine) qui était alors isolée du reste de l'habitation, sous pression négative et filtration HEPA. Une croissance active de mэрule y était encore évidente lors de la visite. Les concentrations mesurées dans cet environnement oscillaient entre 760 et 2 600 copies/m³. À noter que malgré la filtration HEPA, le contrôle extérieur était positif avec une concentration représentant entre 0,8 % et 2 % des concentrations intérieures.

Tableau 3 : Description des prélèvements intérieurs

Activités	Nombre de bâtiments	Nombre d'échantillons
Travaux en cours	2	6
Avant travaux	3	5
Post-travaux	1	4
Contrôle extérieur	6	6

Prélèvements extérieurs : démolition

Au total, deux cas de démolition ont été étudiés soit les bâtiments A et F. Les conditions environnementales lors des démolitions étant différentes, les deux cas seront décrits séparément.



La démolition du **bâtiment A** a eu lieu au printemps par un temps ensoleillé. Le mode de démolition consistait en une séparation grossière des matériaux effectuée par une pelle mécanique avant l'abattage des murs extérieurs. Un produit antifongique de composition inconnue a été aspergé sur les matériaux contaminés avant leur chargement dans une benne. Bien qu'un ouvrier ait été présent avec un boyau d'arrosage raccordé à une borne-fontaine afin de limiter les poussières de béton et de gypse émises en abondance, aucun système efficace d'abattage d'aérosols n'a été utilisé. *Serpula lacrymans* n'a pas été détecté en amont des vents. Des échantillons furent prélevés pendant la démolition et lors du chargement des matériaux dans les bennes. Pendant la démolition, un seul des échantillons situés en aval des vents a permis de détecter *Serpula lacrymans* dans l'air, mais n'a pas été quantifié (concentration < 1 copie/m³ d'air). Pendant le chargement des matériaux contaminés dans les bennes, des concentrations plus élevées ont été mesurées dans l'air (16-70 copies/m³ d'air).

La démolition du bâtiment F a eu lieu pendant l'automne par temps très pluvieux. La démolition consistait à mettre au sol la structure complète du bâtiment et à charger les matériaux contaminés dans des bennes sans égard au type de matériaux. Deux échantillons furent prélevés avant que les travaux de démolition ne débutent et huit autres pendant qu'elle avait lieu (voir tableau 4). Un échantillon fut aussi prélevé une semaine après la démolition.

Dans les deux échantillons prélevés avant le début des travaux de démolition, *Serpula lacrymans* n'a pu être détecté. Pendant les travaux de démolition/chargement, *Serpula lacrymans* a pu être détecté dans 6 des 8 échantillons sans toutefois pouvoir être quantifié (< 1 copie/m³ d'air). Les conditions climatiques incluant une pluie abondante ont probablement contribué à un abattement naturel des aérosols lors de la démolition.

L'échantillon prélevé une semaine après les travaux s'est avéré négatif.

Cas non investigués

Plusieurs cas admis au programme n'ont pu être étudiés. Les détails de ces cas sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 4 : Descriptif des sorties d'échantillonnages d'air réalisés pour l'étude de la dispersion aérienne de *Serpula lacrymans* à partir de bâtiments contaminés

Localisation	Type de travaux	Type d'échantillonnage	Volume d'air prélevé (m ³)	Nombre d'échantillons
Bâtiment D	Après travaux	SASS 3100	10	4 à l'intérieur 1 à l'extérieur
Bâtiment C	Avant travaux	SASS 3100	10	2 à l'intérieur 1 à l'extérieur
Bâtiment C	Rénovation	SASS 3100	10	3 à l'intérieur 1 à l'extérieur
Bâtiment B	Avant travaux	SASS 3100	10	1 à l'intérieur 1 à l'extérieur
Bâtiment F	Démolition	SASS 3100	20	2 avant démolition
			80	2 pendant tout le processus
		SASS 4000	40	3 pendant démolition 3 pendant chargement
	Après démolition	SASS 3100	20	1
Bâtiment E	Rénovation	SASS 3100	10	3 à l'intérieur 1 à l'extérieur
Bâtiment A	Avant travaux	SASS 3100	10	1 à l'intérieur 1 à l'extérieur
Bâtiment A	Démolition	SASS3100	20	1 en amont des vents pendant la démolition 1 en aval des vents pendant la démolition 2 en aval des vents pendant le chargement
		SASS 4000	40	1 en aval des vents pendant la démolition 3 en aval des vents pendant le chargement

Tableau 5 : Descriptif des cas inscrits au programme n'ayant pu être étudiés dans le cadre de l'étude

ID bâtiment	Type de travaux	Commentaire
G	Rénovation	Pas de réponse du propriétaire
H	Rénovation	Pas de réponse du propriétaire
I	Démolition	Pas d'échantillonnage, date de démolition non renseignée
J	Rénovation	Travaux terminés, les propriétaires ne souhaitent pas participer au projet
K	Démolition	Pas d'échantillonnage, démolition annoncée trop tardivement
L	Rénovation	Travaux menés pendant la fermeture du laboratoire (COVID)
M	Démolition	Pas d'échantillonnage en raison des conditions climatiques
N	Rénovation	Pas de réponse du propriétaire

Conclusions et constats de l'étude

D'autres espèces du genre *Serpula* peuvent causer des dommages similaires à ceux engendrés par la mэрule pleureuse

Le développement des deux méthodes d'identification de *Serpula* par le CEAEQ a permis de constater que, bien que *Serpula lacrymans* est l'espèce la plus souvent retrouvée dans les bâtiments contaminés, la présence de plusieurs autres espèces du même genre peut aussi causer des dégâts semblables aux structures de bois. La méthode de détection par qPCR est appelée à évoluer en fonction des nouvelles espèces identifiées sur le territoire.

La mэрule pleureuse, un champignon à la présence sporadique à l'état naturel

La présence de *Serpula lacrymans* dans l'environnement est encore très mal établie. La littérature en dehors de celle relative à la dégradation des matériaux de construction par ce champignon est en effet peu abondante et la distribution environnementale et les conditions menant à sa croissance sont pratiquement inconnues.

Le développement du séquençage d'ADN à haut débit des dernières années a permis à plusieurs équipes de recherche de décrire l'écologie d'une multitude d'environnements microbiens et les études sur la diversité fongique des sols, forêts, environnement intérieur et de la matière en décomposition n'y fait pas exception.

L'élaboration d'un protocole bio-informatique permettant de cribler la banque de données *Sequence Read Archive* (SRA) sur la base de mots clés afin d'identifier les jeux de données pertinentes pour par la suite y rechercher la présence de séquence signature appartenant à *Serpula lacrymans* est une première. Le protocole développé demeure un outil spécialisé réservé aux spécialistes en bio-informatique. Il est présentement disponible publiquement et peut être utilisé afin de rechercher d'autres séquences signatures. Cette approche a permis de confirmer que la présence de cette espèce de champignon est rare dans l'environnement, mais elle a pu être retrouvée dans la nature soit sur des végétaux (feuilles de plantes, écorce d'épinette), dans du bois en décomposition en forêt, mais aussi dans le sol. Aucune trace de mэрule n'a été trouvée dans des échantillons prélevés au Québec. Toutefois, cela ne signifie pas qu'elle est absente à l'état naturel dans notre territoire. Le champignon a été retrouvé dans des échantillons provenant de l'Amérique du Nord et d'ailleurs dans le monde.

La mэрule pleureuse est fréquemment accompagnée de moisissures présentant un risque pour la santé

La biodiversité fongique est relativement faible dans les matériaux contaminés par *Serpula lacrymans* étant donné l'abondance relative importante des séquences d'ADN appartenant au genre *Serpula* dans les échantillons de matériaux.

L'analyse des 60 échantillons prélevés dans les chantiers de bâtiments contaminés a permis de mettre en évidence une coprésence récurrente de moisissures de genres *Penicillium* et *Aspergillus* dans les matériaux. Ces résultats sont conséquents avec ce qui est retrouvé dans la littérature [5]. Ceci peut s'expliquer par l'humidité importante qu'il y a à la fois dans l'air et dans les matériaux contaminés, favorisant le développement de ces moisissures. Aucun échantillonnage d'air n'a été réalisé afin de quantifier la charge de ces genres fongiques dans l'air, à l'intérieur des bâtiments. Toutefois, la présence récurrente de ces genres de moisissures dans les matériaux permet de croire qu'elles pourraient se retrouver dans l'air et causer d'éventuels problèmes de santé chez les occupants des bâtiments [10, 11]. Il est aussi à noter que la manipulation de matériaux dégradés par les moisissures des genres *Penicillium* et *Aspergillus* peut mener à une importante présence dans l'air et représenter un risque pour la santé des travailleurs réalisant les travaux.

Ainsi, la manipulation de ces matériaux devrait se faire en appliquant des mesures de protection individuelles appropriées de même qu'une ventilation avec un apport adéquat d'air extérieur.

Les spores de *Serpula lacrymans* peuvent être dispersées dans l'air intérieur et ambiant lors de travaux

Il a été possible de mesurer des quantités relativement abondantes de *Serpula lacrymans* dans l'air de bâtiments activement contaminés (A et B), et ce en amont de travaux de démolition ou de rénovation. Ainsi, il est possible de croire que la circulation d'air à l'intérieur et à l'extérieur de ces bâtiments a possiblement mené au transport aérien de spores de *Serpula*, et ce, sur une période qui pourrait être prolongée. Dans le bâtiment C, lors d'activités de rénovations, les concentrations étaient mesurables, montrant ainsi que la manipulation des matériaux peut générer des aérosols contenant *Serpula lacrymans*, mais possiblement aussi d'autres espèces de moisissures présentes dans les matériaux.

Il a aussi été possible d'observer qu'en l'absence d'activités relatives aux travaux dans des bâtiments en rénovation, il ne semblait pas y avoir d'émission aérienne de *Serpula lacrymans* suffisamment élevée pour être détectée.

Lors des rénovations, il fut possible d'observer que la présence d'un système de filtre HEPA avant le rejet de l'air intérieur vers l'environnement était efficace pour limiter la dispersion de *Serpula lacrymans* vers l'extérieur, mais aussi possiblement pour d'autres espèces de moisissures présentes.

Lors de la démolition A, dans des conditions climatiques sans précipitations abondantes, il a été possible de mesurer la présence de la mэрule pleureuse à proximité des bâtiments. Toutefois, la présence dans l'air de *Serpula lacrymans* était à la limite de la détection de la méthode lors de la mise au sol du bâtiment et un peu plus élevée lors du chargement des matériaux dans le camion-benne. Il est à noter qu'aucun système efficace d'abattement des aérosols n'était en place à ce moment.

La démolition du bâtiment F activement contaminé fut réalisée sous une pluie abondante limitant ainsi grandement les aérosols. D'ailleurs, les échantillons d'air prélevés étaient majoritairement sous la limite de quantification de la méthode.

Recommandations

Pour l'instant, il apparaît possible que les spores de *S. lacrymans* soient dispersées dans l'air lors des travaux de rénovation puisque nous observons des charges importantes à l'intérieur des bâtiments lors des étapes de retrait des matériaux avant rénovations.

Des espèces de moisissures, dont certaines reconnues pour posséder un potentiel toxigène et immunogène tels *Penicillium* et *Aspergillus*, étaient aussi présentes. La manipulation des matériaux contaminés représente un risque que ces moisissures soient dispersées dans l'air. Ainsi, le port des équipements de protection individuelle et les pratiques de confinement sont alors recommandés pour la protection des travailleurs et des occupants.

Bien qu'il ne soit pas démontré que la transmission aérienne de ces spores peut mener à la contamination de bâtiments avoisinants, des techniques d'abattement sont à envisager par mesure de précautions afin de réduire la quantité de poussières et la dissémination possible des spores. Lors de rénovations, pendant la démolition et le retrait des matériaux touchés, le confinement et la filtration HEPA de l'air émis à l'extérieur du bâtiment semblent être des méthodes adéquates. Lors de la démolition complète d'un bâtiment, un arrosage adéquat (menant à une réduction significative de la quantité de poussière émise) réduirait considérablement les concentrations de mэрule dans l'air.

Perspectives de recherche

Afin de mieux décrire la présence et l'écologie fongique en lien avec *Serpula lacrymans*, une stratégie de collecte adaptée aux besoins de recherche académique des échantillons de matériaux sur lesquels la croissance de la mэрule pleureuse est suspectée devrait être élaborée lors de travaux similaires. En effet, la collaboration des firmes et des entrepreneurs qui utiliserait une procédure de prélèvement simple et standardisé, afin de fournir des échantillons contenant à la fois le mycélium aérien et une partie de la matrice des matériaux, permettrait une description plus précise de l'écologie fongique des matériaux.

Références

1. Boddy, L., J. Frankland, and P. Van West, *Ecology of saprotrophic basidiomycetes*. 2007: Elsevier.
2. Jennings, D.H. and A. Bravery, *Serpula lacrymans: fundamental biology and control strategies*. 1991: John Wiley & Sons Incorporated.
3. Singh, J., *Dry rot and other wood-destroying fungi: their occurrence, biology, pathology and control*. Indoor and Built Environment, 1999. **8**(1): p. 3-20.
4. Embacher, J., et al., *Bacterial community associated with the dry-rot fungus *Serpula lacrymans* is dominated by Firmicutes and Proteobacteria*. 2020.
5. Embacher, J., et al., *Microbiota Associated with Different Developmental Stages of the Dry Rot Fungus *Serpula lacrymans**. Journal of Fungi, 2021. **7**(5): p. 354.
6. DesRochers, P., et al., *La mэрule pleureuse, *Serpula lacrymans*: revue de la situation historique et des interventions possibles*. Phytoprotection, 2017. **97**(1): p. 44-53.
7. Cao, H. and J.M. Shockey, *Comparison of TaqMan and SYBR Green qPCR methods for quantitative gene expression in tung tree tissues*. Journal of agricultural and food chemistry, 2012. **60**(50): p. 12296-12303.
8. Yin, J.L., et al., *Real-time reverse transcriptase–polymerase chain reaction (RT–PCR) for measurement of cytokine and growth factor mRNA expression with fluorogenic probes or SYBR Green I*. Immunology and cell biology, 2001. **79**(3): p. 213-221.
9. Giroux, E. *Custom scripts using xml to parse SRA metadata*. 2020; Available from: https://github.com/girouxem/Serpula_lacrymans
10. Pitt, J., *The current role of *Aspergillus* and *Penicillium* in human and animal health*. Journal of medical and veterinary mycology, 1994. **32**(sup1): p. 17-32.
11. Skóra, J., et al., *Toxinogenicity and cytotoxicity of *Alternaria*, *Aspergillus* and *Penicillium* moulds isolated from working environments*. International Journal of Environmental Science and Technology, 2017. **14**(3): p. 595-608.

Annexes

Annexe I : Détails des méthodes développées aux laboratoires du CEAEQ :

Extraction de l'ADN à partir de structures fongiques

- Utilisation de trousse d'extraction pour l'ADN contenu dans les échantillons de sol. Trousse disponibles commercialement.

qPCR ITS2

- Méthode de quantification par SYBR Green
- Vise le gène ITS2 (Internal Transcribed Spacer 2)
- Spécifique à *Serpula lacrymans*.
 - o En cours de validation, il a été déterminé que *Serpula himantioides* donne aussi une réaction positive au qPCR ITS2.
- L'amplicon a une longueur de 120 paires de bases.
- Séquences des amorces :
 - o S-lacry-ITS2 Set #2 FWD : 5'-GTTTCATCGGCTCCTCTGAAAT-3'
 - o S-lacry-ITS2 Set #2 REV : 5'-TCTTGCGACAACGACTGTAAG-3'
- Composition de la solution mère pour la réaction d'amplification
 - o Amorces : 0,5 µM chaque
- Conditions d'amplification

98 °C pendant 3 minutes

40 cycles de :

- 95 °C pendant 20 secondes
- 60 °C pendant 45 secondes
- Lecture (SYBR Green ; Excitation : 494 nm, Émission : 521 nm)

Courbe de fusion

- Fusion attendue à environ 83 °C.

PCR SLH

- Amorces localisées dans les régions 5.8S et 28S de l'ARNr.
- Amplicon attendu d'environ 980 paires de bases pour *Serpula*.
- Séquences des amorces :
 - o Slh-IF FWD : 5'-CGCATCGATGAAGAACGCAG-3'
 - o Slh-IR REV : 5'-AAGCATGGATGTGAGCCGAA-3'
- Composition de la solution mère pour la réaction d'amplification
 - o Amorces : 0,5 µM chaque



- Conditions d'amplification
 - 98 °C pendant 30 secondes
 - 35 cycles de :
 - 98 °C pendant 10 secondes
 - 67 °C pendant 30 secondes
 - 72 °C pendant 30 secondes
 - 72 °C pendant 120 secondes
- Migration sur gel d'agarose 1 %
- Séquençage Sanger des bandes apparaissant à la hauteur du marqueur de 1 000 pb



Annexe 2 : Détails des échantillons retrouvés dans la banque de données SRA à l'aide du protocole bio-informatique

Numéro d'expérience	Numéro de soumission	Numéro d'étude	Numéro d'échantillon	Numéro d'accession	Date de publication	de
ERR1864548	ERA828797	ERP021196	ERSI107790	SAMEA3920656	2016-12-30	
ERR1864559	ERA828797	ERP021196	ERSI107801	SAMEA3920667	2016-12-30	
ERR1864560	ERA828797	ERP021196	ERSI107802	SAMEA3920668	2016-12-30	
ERR1864566	ERA828797	ERP021196	ERSI107808	SAMEA3920674	2016-12-30	
ERR1864568	ERA828797	ERP021196	ERSI107810	SAMEA3920676	2016-12-30	
ERR1864571	ERA828797	ERP021196	ERSI107813	SAMEA3920679	2016-12-30	
ERR1864573	ERA828797	ERP021196	ERSI107815	SAMEA3920681	2016-12-30	
ERR1864575	ERA828797	ERP021196	ERSI107817	SAMEA3920683	2016-12-30	
ERR1864577	ERA828797	ERP021196	ERSI107819	SAMEA3920685	2016-12-30	
ERR1864578	ERA828797	ERP021196	ERSI107820	SAMEA3920686	2016-12-30	
ERR1864580	ERA828797	ERP021196	ERSI107822	SAMEA3920688	2016-12-30	
ERR1864582	ERA828797	ERP021196	ERSI107824	SAMEA3920690	2016-12-30	
ERR1864586	ERA828797	ERP021196	ERSI107828	SAMEA3920694	2016-12-30	
ERR1864587	ERA828797	ERP021196	ERSI107829	SAMEA3920695	2016-12-30	
ERR1864588	ERA828797	ERP021196	ERSI107830	SAMEA3920696	2016-12-30	
ERR1864589	ERA828797	ERP021196	ERSI107831	SAMEA3920697	2016-12-30	
ERR1864598	ERA828797	ERP021196	ERSI107840	SAMEA3920706	2016-12-30	
ERR1864600	ERA828797	ERP021196	ERSI107842	SAMEA3920708	2016-12-30	
ERR1864601	ERA828797	ERP021196	ERSI107843	SAMEA3920709	2016-12-30	
ERR1864602	ERA828797	ERP021196	ERSI107844	SAMEA3920710	2016-12-30	
ERR2034689	ERA977723	ERP024079	ERSI823892	SAMEA104164874	2018-05-14	
ERR2034690	ERA977723	ERP024079	ERSI823893	SAMEA104164875	2018-05-14	
ERR738485	ERA404282	ERP009341	ERS642762	SAMEA3215244	2015-09-01	
ERR738516	ERA404282	ERP009341	ERS642793	SAMEA3215275	2015-09-01	
ERR738517	ERA404282	ERP009341	ERS642794	SAMEA3215276	2015-09-01	
ERR738519	ERA404282	ERP009341	ERS642796	SAMEA3215278	2015-09-01	
ERR738522	ERA404282	ERP009341	ERS642799	SAMEA3215281	2015-09-01	
ERR738523	ERA404282	ERP009341	ERS642800	SAMEA3215282	2015-09-01	
ERR738527	ERA404282	ERP009341	ERS642804	SAMEA3215286	2015-09-01	
ERR738532	ERA404282	ERP009341	ERS642809	SAMEA3215291	2015-09-01	
ERR843021	ERA427691	ERP010084	ERS697539	SAMEA3322363	2016-05-31	
ERR843022	ERA427691	ERP010084	ERS697472	SAMEA3322296	2016-05-31	
ERR843029	ERA427691	ERP010084	ERS697460	SAMEA3339693	2016-05-31	
ERR843037	ERA427691	ERP010084	ERS697484	SAMEA3322308	2016-05-31	
ERR843038	ERA427691	ERP010084	ERS697486	SAMEA3322310	2016-05-31	
ERR843043	ERA427691	ERP010084	ERS697511	SAMEA3322335	2016-05-31	



ERR843054	ERA427691	ERP010084	ERS697540	SAMEA3322364	2016-05-31
ERR843055	ERA427691	ERP010084	ERS697643	SAMEA3322467	2016-05-31
ERR843056	ERA427691	ERP010084	ERS697487	SAMEA3322311	2016-05-31
ERR843093	ERA427691	ERP010084	ERS697497	SAMEA3322321	2016-05-31
ERR843112	ERA427691	ERP010084	ERS697543	SAMEA3322367	2016-05-31
ERR843113	ERA427691	ERP010084	ERS697480	SAMEA3322304	2016-05-31
ERR843229	ERA427691	ERP010084	ERS697657	SAMEA3322481	2016-05-31
SRR5851256	SRA589119	SRP079521	SRS2370354	SAMN07370557	2017-07-19
SRR5985538	SRA603290	SRP116332	SRS2474233	SAMN07568095	2017-08-28
SRR5985539	SRA603290	SRP116332	SRS2474354	SAMN07568094	2017-08-28
SRR5985540	SRA603290	SRP116332	SRS2474232	SAMN07568093	2017-08-28
SRR5985542	SRA603290	SRP116332	SRS2474351	SAMN07568099	2017-08-28
SRR5985543	SRA603290	SRP116332	SRS2474352	SAMN07568098	2017-08-28
SRR5985544	SRA603290	SRP116332	SRS2474350	SAMN07568097	2017-08-28
SRR5985545	SRA603290	SRP116332	SRS2474349	SAMN07568096	2017-08-28

Annexe 3 : Amorces, sonde et thermo-protocole utilisés pour la quantification de *Serpula lacrymans* dans les échantillons d'air

Séquences :

Amorce Sens : 5'-TTTGATTGTGGGCTTGGATTG-3'

Amorce Anti-Sens : 5'-TCTTGCGACAACGACTGTAAG-3'

Sonde : FAM 5'- TGCTGGTGGACTCTTGTTTCATCG-3' BHQ1

Thermo-protocole :

Activation 95 °C : 3 min

40 cycles

95 °C 15 sec

60 °C 1 min + lecture fluorescence

Contenu par réaction :

Amorce sens (100 µM)	1 µM
Amorce anti-sens	1 µM
Sonde	0.1 µM