

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN

ANNEE 1969

N°

THESE POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE
(Diplôme d'Etat)

par

M. Michel LUQUET

né le 28 Janvier 1939

à MONT-SAINT-AIGNAN

(Seine-Maritime)

présentée et soutenue publiquement le

LES GERMES DE L'AIR DES CAVERNES

Président : M. le Pr M. MAISONNET

LES GERMES DE L'AIR DES CAVERNES

SOMMAIRE

	<u>Page</u>
I - INTRODUCTION	1
II - LE MILIEU SOUERRAIN	1
1) Evolution	1
2) Climatologie - Ventilation.....	4
III - SUPPORTS MICROBIENS ET PARTICULES EN SUSPENSION DANS L'AIR DES CAVERNES	14
IV - TECHNIQUE D'ETUDE ET DE PRELEVEMENT	18
V - CULTURE, DENOMBREMENT ET IDENTIFICATION DES GERMES RECUEILLIS	22
VI - PROVENANCE DES PRELEVEMENTS	23
- Grotte d'Orliac	23
- Grotte Mortureux	26
- Grotte du Fond d'Anguillère	28
- Aven d'Orgnac	30
- Grotte de Mont-la-Chapelle	34
- Grotte du Pylone	36
- Grotte Jacqueline	38
- Gouffre de la Pierre-Saint-Martin	40
- Pierre Saint-Martin Arphidia	44
- Grotte de Gozaltza-Arrikrutz	49
VII - ETUDE QUALITATIVE DE LA MICROFLORE, REPARTITION DES GERMES RECUEILLIS	52

A/ Selon les familles et les genres	52
1) Pour la totalité des prélèvements	52
2) Grotte par grotte	53
B/ Selon les variétés	58
1) Variétés de Bacillus	58
2) Variétés de Micrococcus	61
3) Variétés de Flavobacterium	65
4) Les autres germes	67
VIII - COMPOSITION DE LA FLORE BACTERIENNE DE L'AIR DES CAVERNES	68
CONCLUSION	74
BIBLIOGRAPHIE	75

I - INTRODUCTION -

La présence de micro-organismes dans l'air, soupçonnée depuis l'antiquité, a été définitivement objectivée par les travaux de Pasteur et son équipe (1862).

Des études récentes ont montré que ce sont des particules matérielles de dimensions et d'origines diverses, en suspension dans l'air qui servent de support-vecteur aux germes et assurent leur dissémination.

Les recherches de notre maître, le Professeur MAISONNET, ont permis de préciser l'aspect quantitatif et qualitatif de ce peuplement, ainsi que certains paramètres climatiques et météorologiques intervenant sur le transport, le groupement, la concentration et le développement des germes de l'air (31).

Une dualité constante de la microflore a été ainsi mise en évidence qu'il a dénommé :

‡ Flore saprophyte de base, constituée par 5 espèces princeps :

- Bacillus
- Micrococcus
- Sarcina
- Aspergillus
- Penicillium

auxquelles s'ajoutent en petite quantité les flavobactéries, les corynébactéries, etc

‡ Flore accidentelle dans laquelle toutes les bactéries peuvent a priori être retrouvées mais plus spécialement celles provenant de l'homme et des animaux.

Ces résultats se vérifient jusqu'à présent dans tous les milieux aériens étudiés. (3I et 3I A)

La masse rocheuse qui constitue le sous-sol calcaire de nombreuses régions, fortement hétérogène, fissurée et intensément ventilée, représente un milieu spécifique, possédant ses propres climats, sa faune et sa microflore.

Dans les eaux souterraines, les bactéries sont depuis longtemps l'objet d'études de la part des hygiénistes à la recherche des pollutions par des germes virulents. Mais une flore autochtone, autotrophe et hétérotrophe des sédiments et argiles des cavernes a été signalée dès 1930 par le Pr ENDRE-DUDICH (1) en Hongrie, lequel avait noté la présence de bactéries chimiotrophes des types Beggiatoa et Leptothrix. En Angleterre, MASON-WILLIAMS et BENSON-EVANS (1958) constatent la présence d'une microflore variée comprenant des autotrophes (nitrobactéries, thiobactéries, ferrobactéries) et des hétérotrophes divers. Ces premières recherches ont été confirmées par les travaux de CAUMARTIN 1957-1964 (2).

AM. GOUNOT -1967- (3), dans un important travail sur la microflore des limons souterrains et son éventuelle activité productrice dans la biocoenose cavernicole, a mis en évidence l'aspect qualitatif et quantitatif des germes de divers limons argileux des cavernes. Elle a montré qu'il existe dans les grottes un grand nombre de germes, doués d'un pouvoir de synthèse élevé s'exerçant in situ. Les souches étudiées se répartissent dans les familles suivantes :

- Pseudomonadaceae (ordre des pseudomonales)
 - Corynebacteriaceae (genre arthrobacter)
 - Bacillaceae (genre bacillus)
 - Achromobacteraceae (genres achromobacter
flavobacterium)
- } ordre des
eubactériales

Dans l'air souterrain, PRAT en 1925 (4) constatait un ensemencement rapide par sédimentation sur boîte de PETRI, parlant même d'un aéroplancton - LIDDO 1951 (5) - MASON-WILLIAMS et BENSON-EVANS 1958 (6) pensent que ces germes sont amenés par l'air venant de l'extérieur, ou par les visiteurs. Ces auteurs considèrent l'atmosphère des grottes comme très pauvre en germes et le Hongrois MOLNAR 1961 (7) explique ce fait par la sédimentation rapide des germes s'entourant d'une pellicule d'eau.

CAUMARTIN 1964 (8) révèle la dissémination aérienne d'une population bactérienne venue de l'extérieur ou primitivement localisée dans une des galeries de la grotte préhistorique de LASCAUX, en relation avec la circulation naturelle ou provoquée de l'air, et dont la responsabilité serait importante dans l'altération des peintures.

L'objet de notre étude a été essentiellement de vérifier si les germes de l'atmosphère libre se retrouvent dans l'air souterrain, à l'exclusion des micro-organismes en provenance du sol. Pour cela, nous avons prélevé et identifié le peuplement bactérien de l'atmosphère de 11 cavernes d'altitude et de latitude variées la plupart située en France. Il s'agit de gouffres ou cavernes non aménagés, inexplorés ou le plus souvent peu visités où je suis descendu parfois à grande profondeur.

C'est pourquoi, en raison des difficultés de progression, la méthode de prélèvement devait être simple et l'appareillage peu encombrant. Nous avons donc utilisé l'ensemencement par sédimentation sur boîte de PETRI contenant une gélose nutritive, malgré les imprécisions bien connues de cette technique.

II - LE MILIEU AERIEN SOUTERRAIN-

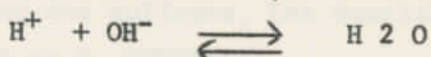
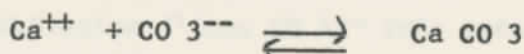
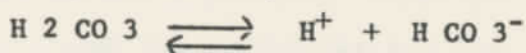
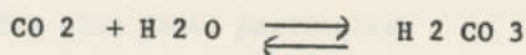
I) Son évolution.

Les formations sédimentaires calcaires, souvent d'épaisseur considérable, ont subi des contraintes mécaniques multidirectionnelles intenses qui ont provoqué leur plissement en même temps que leur exondation et leur hétérogénéisation. Il en résulte une fracturation de l'ensemble émergé qui permet à l'eau, sous les trois phases solide, liquide, gazeux et à l'air, de circuler dans la masse. Ces deux éléments interviennent de façon directe ou indirecte dans un grand nombre d'effets qui vont modifier le faciès de cette fracturation primaire, et y conditionner le climat et le peuplement. Toutefois, leur influence ne reflète que d'une façon amortie et décalée les variations climatiques générales, et le biotope aérien souterrain se caractérise par une stabilité, certes relative, mais néanmoins perceptible même à l'échelle de l'évolution géologique, comme l'atteste la présence des "fossiles vivants" des cavernes, étudiés par le Pr JEANNEL (9).

L'eau, au cours de son transit souterrain, se draine par gravité vers les vides préexistants. Il en résulte un agrandissement constant, d'origine mécanique des parois des fractures du massif.

Par ailleurs, en traversant la couche d'humus dans laquelle la pression partielle de CO_2 atteint communément 1 %, l'eau de pluie dissout physiquement de fortes quantités de CO_2 , dont une faible proportion passe à l'état d'acide carbonique H_2CO_3 . Cette eau acide attaque les carbonates qu'elle transforme en bicarbonates solubles. Ces bicarbonates sont alors facilement transportables et permettent le dépôt de la calcite dans les grottes par libération du CO_2 .

Le phénomène est régi par la suite d'équilibres chimiques.



A tous ces équilibres, la loi d'action ou le produit de solubilité sont applicables, de sorte que l'on obtient la série de relations :

$$\frac{(\text{H}_2\text{CO}_3)}{(\text{CO}_2)} = K \qquad \frac{(\text{H}^+) (\text{CO}_3^{--})}{\text{HCO}_3^-} = K_2$$

$$\frac{(\text{H}^+) (\text{HCO}_3^-)}{(\text{H}_2\text{CO}_3)} = K_1 \qquad (\text{H}^+) (\text{OH}^-) = P$$

$$(\text{Ca}^{++}) (\text{CO}_3^{--}) = K_3$$

C'est de la valeur des constantes K, K₁, K₂, K₃ et de leurs variations avec la température que vont découler les caractéristiques de formation ou de dissociation du bicarbonate de calcium, dont la précipitation ou la dissolution du CaCO₃.

On peut schématiser tout le système précédent par l'équilibre :



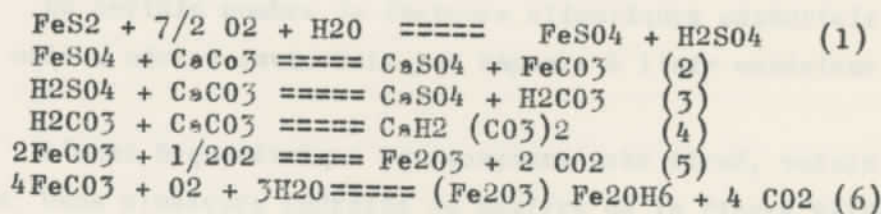
en remarquant que l'équilibre est déplacé dans le sens (1) si la température décroît ou si la concentration en CO₂ augmente et dans le sens (2) si la température croît ou si la concentration en CO₂ décroît.

Les équilibres précédents rendent compte en partie de la richesse en CO₂ de l'air des grottes.

Le type de corrosion physico-chimique à partir du CO₂ dissout, sur paroi sèche, et en l'absence de condensation laisse apparaître un re-

couvrement pulvérulent (CAUMARTIN -10-) dont la granulométrie basse permet d'envisager sa mobilisation par l'air en mouvement et le transport à distance des plus fines particules.

En présence de l'air et de l'eau, certaines impuretés du calcaire, comme les sulfures (pyrites), subissent une oxydation aboutissant à la libération d'ions SO_4^{4-} très agressifs sur le calcaire, la réaction libérant des sulfates. Les équilibres suivants ont été proposés par G. LORIAUX et C. QUEFFELEC.



Ces auteurs, devant l'importance du phénomène parfois constaté, parlent d'auto-cavernement.

Mais il faut toutefois remarquer que ces équilibres sont fortement contestés par les chimistes et l'explication se trouve peut-être dans la présence de bactéries "chimiotrophes" récemment trouvées dans les argiles et les sédiments des grottes et dont l'action permettrait d'envisager un processus comparable à celui constaté dans l'altération biologique des monuments bâtis en pierres calcaires (II) où il y a transformation à partir des sulfures, de la majeure partie du $CO_3 Ca$ en SO_4 beaucoup plus soluble.

CAUMARTIN (12) étudie une corrosion biochimique liée à la présence de micro-organismes hétérotrophes qui se développent sur les parois des cavernes au contact de complexes organo-calcaïques acheminés par l'eau des fentes et microfissures du massif. Leur fermentation au niveau du calcaire ou de la calcite entraîne la formation d'un humus, rapidement minéralisé, riche en Acides Aminés, dont l'évolution se fait vers des dérivés amoniacaux et des nitrates pour le radical NH_2 , vers des complexes calcaïques pour le radical $COOH$.

On entrevoit donc l'importance de ces phénomènes dans l'évolution du biotope souterrain, dont la nature exacte et les différents métabolites restent à préciser, ainsi que dans la genèse possible de supports vecteurs pour les germes de l'air des cavernes.

2) Climatologie.

Un certain nombre de facteurs climatiques essentiels caractérisent le milieu aérien souterrain par rapport à l'air extérieur.

L'état hygrométrique est toujours très élevé, voisin de la saturation. Dans plusieurs endroits du gouffre de la Pierre SAINT-MARTIN, salle La Verna, Salle Levy (à 900 mètres de profondeur), par exemple, il existe une sursaturation, un aérosol d'eau se forme dans l'atmosphère. C'est exceptionnellement que dans certaines cavernes ou partie de caverne, le degré hygrométrique s'abaisse sans pourtant chuter à des valeurs très en dessous de 90 %.

En raison des difficultés résultant d'une mesure faite à chaque prélèvement (difficultés principalement dues au transport du matériel, car, répétons-le, la plupart des prélèvements ont été faits en cours d'exploration), nous avons préféré adopter un système de classification inspiré par celui de V. CAUMARTIN (13) en cavité ou partie de cavité sursaturée, suintante et sèche, ces trois aspects donnant une approximation suffisante pour le travail qui nous intéresse.

✕ La cavité saturée est celle où le ruissellement est intense. C'est aussi celle où circule une rivière souterraine. L'état hygrométrique est au-dessus de 100 %. La sursaturation se traduit par un aérosol d'eau permanent, visible dans le faisceau des lampes sous forme d'un brouillard formé de très fines particules. Ce type de cavité est particulièrement caractérisé par le gouffre de la Pierre SAINT-MARTIN.

* La cavité suintante ne présente pas de ruissellement. L'eau perle sur la voûte et les parois, l'état hygrométrique y prend des valeurs voisines de 100 %.

* La cavité sèche ne reçoit plus d'eau par ruissellement ou suintement. Une seule grotte de notre étude rentre dans ce type. Le degré hygrométrique peut s'abaisser à 80, 90 %.

La composition de l'air des cavernes est grossièrement identique à l'air de surface. Seule la proportion de CO₂, variable d'une cavité à l'autre se situe fréquemment à des valeurs 10 fois supérieures à celles de l'extérieur. En particulier dans les zones peu ventilées, et nous avons montré précédemment (corrosion physico-chimique) l'une des causes possibles de son origine. Des teneurs parfois élevées ont été trouvées. Par exemple, R. GAIA, Président du groupe spéléologique de l'usine de Pierrelatte, publie (14) les résultats d'analyse suivant pour le gouffre dit "Puits de Plance" dans l'Ardèche :

- à 18 mètres de profondeur 4 % de CO₂
- à 50 mètres de profondeur 4,5 % de CO₂
- à 80 mètres de profondeur 5 % de CO₂

pour une hygrométrie (intérieure) de 100 %.

L'analyse étant effectuée instantanément par détecteur Draeger (pourcentage de CO₂), une prise d'échantillon par ballon sous vide et analyse par chromatographie en phase gazeuse a confirmé ces résultats en donnant 4,22 % de CO₂, 19,20 % d'O₂ et 75,30 % d'azote, soit une teneur plus de 100 fois supérieure à celle de l'air extérieur.

A l'Igue de Goudon, sur les Causses, nous avons observé le manque de luminosité de nos lampes à acétylène, une dyspnée d'effort inhabituelle (Philippe RENAULT aurait mesuré des teneurs en CO₂ de 2 à 5 % dans cette caverne).

Par contre, dans les grands réseaux de montagne, à forte dénivellée, comme la Pierre SAINT-MARTIN, où l'air circule intensément, la te-

neur en CO₂, bien que supérieure à la moyenne extérieure ne doit pas dépasser 0,1 % (F. TROMBE).

Pour certaines cavités très fréquentées, peu ventilées (par exemple la grotte d'ORLIAC dans notre étude), la quantité de CO₂ exhalée par les visiteurs entraîne sans doute une augmentation de la concentration spontanée. M. GOROMOSOV (15) estime à 22,6 litres de CO₂ par heure la quantité rejetée par une personne effectuant un travail léger. Ceci montre que si on admet une concentration de 0,1 % (1 litre par m³) de ce gaz dans l'atmosphère d'une caverne, pour empêcher qu'elle passe à 1 % (10 litres par m³), il faut pour chaque individu et par heure 22,6 (1,0 - 0,1) = 25m³ d'air frais, ce qui n'est probablement pas toujours réalisé.

On peut dire que l'atmosphère des grottes est chargée en CO₂ dont la pression partielle est plus ou moins en équilibre avec celle du CO₂ dissout dans l'eau de percolation et de ruissellement (ANDRIEUX -16). Sa présence en nappes épisodiques, dans certaines cavités, semble relever d'une diffusion dans les fentes et microfissures de la roche, en fonction de la pression atmosphérique.

En ce qui concerne la température, l'observation montre qu'en général celle de l'air d'une caverne correspond à la moyenne annuelle des températures extérieures du lieu considéré. Elles sont donc variables avec la latitude et l'altitude des points d'entrée. La descente en profondeur dans les gouffres ne s'accompagne que d'une très légère augmentation (1 à 2 % de plus pour la Pierre SAINT-MARTIN à 100 mètres de profondeur). Rappelons à ce propos que nous exprimons des profondeurs relatives à l'entrée du réseau la plus haute située connue (+ 1886 mètres pour la Pierre SAINT-MARTIN) et qu'aucune caverne étudiée ne descend en-dessous du niveau de la mer. En réalité, la forme des cavités, leur inclinaison positive ou négative, leur orientation, leurs communications entraînent des régimes de température extrêmement différents pour une même altitude et dans un même massif.

A l'Aven ORGNAC, cavité horizontale, vaste, et pour laquelle les échanges d'air interviennent peu dans l'équilibre thermique, J. C. DUPLESSY (17) traite mathématiquement le problème de l'amortissement des

variations thermiques saisonnières. Il démontre ainsi que les grottes présentent une considérable inertie vis-à-vis des variations thermiques de l'extérieur, même lorsqu'il s'agit de fluctuations thermiques de relativement longues périodes. Des mesures effectuées pendant un an dans ORGNAC III n'ont pas permis de mettre en évidence une variation de 1/10 de degré. POLLI, en 1958 (A. VANDEL -18-) a fait des relevés pendant 5 années à la "Grotte Gigente" près de TRIESTE. Elles montrent un écart maximum de température dans l'air de 8/10 de degré. GINET a noté pour 3 cavernes françaises :

- Grotte de CORVEISSIAT (Ain) 2,2°
- Grotte de LA BALME (Isère) 1,2°
- Grotte de MOULIS (Ariège) 0,7°

A la Pierre SAINT-MARTIN, réseau où la ventilation est particulièrement intense, M. CABIDOCHÉ (CR. Ac. des Sciences -19-) a mesuré entre l'hiver et l'été des écarts maximum de 2°.

L'expérience confirme donc l'amortissement important théoriquement calculé, et la mise en évidence des variations thermiques saisonnières est difficile si les échanges d'air sont négligeables, leurs valeurs étant très faibles même dans les réseaux très aérés comme la Pierre SAINT-MARTIN.

G. ANDRIEUX (20) étudiant les micro-climats cavernicoles, a montré qu'en zone non turbulente les températures sont plus élevées près des voûtes que sur le sol et plus froides près des parois à cause du ruissellement (Schéma I). Cela entraîne un mouvement lent de l'air. Selon les saisons également, les courants d'eau présentent de faibles variations de température (1 à 2°). La paroi rocheuse n'est donc jamais en équilibre thermique avec l'air et l'eau, soit qu'elle perde ou reçoive des calories de l'une ou de l'autre. L'air descend donc le long des parois, et remonte du centre de la zone considérée lorsque le gradient de température est en faveur de l'eau ou de l'air, ou des deux à la fois (Schéma II et III).

Ce phénomène s'accompagne d'ailleurs d'un échange d'eau entre la nappe et la paroi froide, sur laquelle elle condense.

Nous avons classé les grottes et gouffres en 3 catégories :

- Les grottes froides, pour des températures de l'air de 6° et au-dessous (sans qu'elles atteignent 0°, aucune grotte glacée ne faisant partie de notre étude).

- Les grottes tièdes de 6 à 12°.

- Les grottes chaudes 12° et au-dessus.

Un autre facteur prépondérant au monde souterrain est l'obscurité totale, qui, a priori, exclut toutes les formes de phototropie. De même tous les rayonnements de courtes longueurs d'onde (rayonnement cosmique par exemple) sont arrêtés par l'épaisseur de la masse rocheuse.

Toutefois, une assez forte radio-activité a été décelée dans l'air de certaines cavités (TROMBE -2I-) et il semble qu'en moyenne la radio-activité de l'air souterrain dépasse les chiffres normaux. La cause en serait la présence de gaz issus des éléments radio-actifs des roches mères et s'échappant dans l'atmosphère des cavités lors des variations de la pression atmosphérique (Cf. ventilation).

Les argiles des grottes présentent également une radio-activité relativement élevée. CAVAILLE (22) trouve ainsi pour des argiles rouges : $\gamma = 349$ coups/30 minutes ; $\beta = 792$ coups/30 minutes. La présence de C I4 a été également reconnue.

C'est le cas, par exemple, à l'Aven ORGNAC où J. C. DUPLESSY, au cours d'une étude thermique des nouvelles salles, conclut à des échanges d'air quantitativement peu important entre la grotte et l'extérieur.

Ceci est confirmé par une teneur en CO₂ douze fois plus élevée que dans l'air extérieur, et une radio-activité C I₄ de l'air de la caverne, beaucoup plus faible que celle de l'extérieur. (En prenant comme référence l'activité de l'air avant les premières explosions atomiques, l'air de la grotte a subi une augmentation d'activité de 11 % seulement alors que l'air extérieur subissait, au moment de la mesure, une augmentation d'activité de 70 %.

Toutefois, les gouffres et cavernes sont le siège d'une circulation d'air très variable dans son intensité mais constante, exception faite pour les grottes "géodes" (ANDRIEUX -24-) rares, et dont aucune n'a été le sujet de nos recherches. Les vitesses de ventilation sont parfois considérables, et des chiffres de 60 à 80 Km/heure ont été observés au niveau de zones à faible section (étroitures) (ANDRIEUX -24-). En été, il sort du gouffre de la Pierre SAINT-MARTIN, par le tunnel artificiel E.D.F. un vent atteignant plusieurs dizaines de Km/heure et 300 tonnes d'air transitent chaque jour à travers les galeries du gouffre. (Voir le schéma de la ventilation du gouffre de la Pierre SAINT-MARTIN). Plus modestement, la plupart des cavernes sub-horizontales, ne possédant qu'une seule entrée importante, sont parcourues par de faibles courants d'air seulement perceptibles en certains endroits. La morphologie des cavernes, souvent complexe, entraîne des instabilités climatiques isolées, nombreuses au sein d'une même cavité. On aborde ainsi la notion des micro-climats souterrains, d'ailleurs objectivés par une faune cavernicole spécifique, dont ils conditionnent le développement, grâce à la détection de très faibles variations de l'hygrométrie et de la température par ces animaux. Les causes des pressions motrices qui mettent en mouvement des masses d'air parfois importantes dans le sous-sol calcaire sont multiples.

Les plus fréquentes sont les chutes d'eau, les différences de densité entre deux colonnes d'air toutes deux intérieures, ou l'une extérieure et l'autre intérieure, les changements de la pression atmosphérique extérieure.

Ces causes additionnent le plus souvent leurs effets et l'on imagine la complexité du phénomène résultant.

Les chutes d'eau agissent par effet de trompe entraînant généralement la circulation d'un volume d'air considérable remontant le long des parois lorsque la chute se fait dans un espace limité, ou dans un puits "bouteille" classique. Selon la forme de la cavité et l'importance de la chute, les pressions motrices produites déplaceront l'air dans une partie ou la totalité de la cavité.

(Schéma de la circulation d'air au voisinage d'une chute, d'après TROMBE).

On sait que la densité de l'air varie suivant la température et le degré hygrométrique. Les variations du degré hygrométrique, de faible amplitude, peuvent produire des courants d'air locaux. Mais les effets résultant de la différence de température entre deux masses d'air leur sont d'importance très largement supérieure, comme par exemple au gouffre de la Pierre SAINT-MARTIN où il existe des différences d'altitude dépassant le kilomètre entre les orifices d'entrée et de sortie. Les pressions motrices, dans ces cas, peuvent devenir considérables, de l'ordre de plusieurs cms d'eau et provoquer une circulation d'air ascendante ou descendante selon le sens du gradient de température entre l'intérieur et l'extérieur.

Effectivement, dans le réseau de la Pierre SAINT-MARTIN, le sens des courants d'air s'inverse entre l'été et l'hiver et atteignent certains jours de chaleur ou de grand froid une très grande violence en accord avec ce qui vient d'être énoncé.

Dans les grottes horizontales, la circulation d'été apporte de l'air chaud dans la partie supérieure des galeries, et restitue de l'air froid vers la sortie (TROMBE -25-) - (JEANNEL -26-). Le processus s'inverse en hiver, mais se trouve en réalité toujours modifié par l'inclinaison, même faible, des grottes.

Rappelons l'existence de déplacements continus d'air, motivés par le gradient de température entre l'air et les parois ou entre les nappes d'eau et les parois (cf. température).

Les changements de la pression atmosphérique extérieure sont une des causes majeures de la ventilation. Dans le cas d'un réseau à plusieurs entrées, les variations des conditions atmosphériques externes, influent sur les circulations d'air mais de façon difficilement analysable et prévisible, pour la raison simple que l'on ne connaît généralement pas toutes les entrées.

Dans les cavités possédant un seul orifice important, l'air se comprime et se détend, selon les variations de la pression extérieure et les volumes sont dans un rapport constant, selon la Loi de MARIOTTE.

$$\frac{V}{V'} = \frac{P'}{P}$$

(V = volume initial
 (V' = volume diminué sous l'effet de l'augmentation de la pression atmosphérique
 (P et P' étant les pressions atmosphériques initiales et finales résultant de la variation.

Certaines cavernes de grande dimension présentent ainsi une véritable respiration, à fortes amplitudes, synchrones ou légèrement décalées par rapport aux variations de la pression atmosphérique.

Nous connaissons près de BREVAL (Eure-et-Loir) un ensemble de 12 puits souffleurs appartenant à deux systèmes distincts. L'un d'eux est relié à la laiterie de la ferme que le vent à pour effet de climatiser, cette circonstance exceptionnelle a permis d'en faire une étude aérodynamique précise. Nous avons ainsi constaté qu'une surpression de 10 mm d'eau pouvait se maintenir pendant 24 heures, assurant une sortie d'air de 20.000 m³. La pression atmosphérique restant constante pendant cette période, il en résulte qu'on devrait pouvoir attribuer à la cavité hypothétique une capacité de 20.000.000 de m³ ! L'étude, étalée dans le temps des débits aspirés ou expulsés, a d'ailleurs confirmé ces résultats.

En d'autres termes, toutes les cavernes respirent à chaque instant pour se mettre en équilibre de pression avec l'atmosphère. Ce fait passe souvent inaperçu pour un ensemble de raisons dont les principales sont probablement :

- Les variations de pression atmosphérique étant continues, la mise en équilibre peut se faire avec des dépressions ou des surpressions faibles donc avec des vitesses d'air petites.

- Le rapport entre le volume d'air de la cavité et la somme des sections d'ouverture est rarement faible, si bien que la mise en équilibre est rapide même avec des vitesses peu importantes.

- Les cavernes ou gouffres possédant plusieurs ouvertures à des altitudes différentes sont en outre le siège d'effets de cheminée (voir ci-dessus b) qui s'ajoutent à la respiration et la masquent complètement.

Il faut remarquer que l'ensemble du réseau de fentes et de fissures du massif, étendu sur des dizaines de Km² et parfois plusieurs milliers de mètres d'épaisseur, participe au phénomène, et déverse dans le réseau principal, le seul où nous ayons accès, l'air et les germes qu'elles contiennent.

La ventilation et la climatologie des cavités des sous-sols calcaires dépendant donc d'un grand nombre de facteurs dont les effets se superposent et en rendent l'étude difficile. Pour notre travail, à chaque prélèvement, nous avons noté l'existence ou non d'un courant d'air perceptible, sa direction, vers l'intérieur ou l'extérieur de la caverne, son intensité par des croix, une croix correspondant à un courant d'air à la limite de la perceptibilité, deux croix à une circulation nettement perçue, trois à un vent très caractéristique et quatre croix à un vent violent.

III - SUPPORTS MICROBIENS ET PARTICULES EN SUSPENSION

DANS L'AIR DES CAVERNES -

Les travaux de nombreux auteurs Wells, Winslow, Robertson,.. ont montré que si l'air transporte des germes, ceux-ci ne se trouvent pas à l'état libre, mais fixes à des particules matérielles possédant des propriétés physico-chimiques qui dépendent de leur nature. Ces supports aériens ont été classés en trois catégories :

a) Les grosses particules qui sont des poussières supports de 10 à 100 μ capables d'agglomérer ou d'absorber une quantité importante de microbes, en particulier de germes saprophytes. Leur sédimentation, considérée comme rapide en air calme, diminue considérablement leur rôle dans la dissémination aérienne des germes.

b) Les gouttelettes bactériennes ou gouttelettes de PFLÜGGE, extériorisées lors de la toux, de l'éternuement, de la voix haute, etc En raison de leur taille, au-dessus de 100 μ , leur vitesse de chute en air non turbulent est relativement rapide, 0,30 m/sec. mais selon le diamètre initiale, le degré hygrométrique et la température de l'air ambiant, ces gouttelettes d'eau évoluent du fait de l'évaporation vers une diminution très importante de leur volume. On parle alors de noyaux de condensation "Droplet-nuclei", véritables résidus d'évaporation dont le diamètre est de 2 à 3 μ .

Nous n'avons pu trouver aucune publication traitant de l'évolution, de la présence et du comportement des particules matérielles dans l'atmosphère des cavernes. Nous avons donc tenté, compte-tenu des facteurs climatiques particuliers au milieu souterrain, d'approcher le problème en fonction des résultats habituellement admis pour l'air extérieur.

La pénétration des particules de surface est probablement très limitée. Les distances souvent considérables parcourues par l'air en mouvement, les chocs sur la roche, l'humidité saturante de l'air souterrain, provoquent sans doute rapidement leur fixation sur la fine pellicule d'eau qui recouvre parois et concrétions, ou plus simplement leur chute sur le sol. CAUMARTIN (27) évoque pourtant cette possibilité d'apports aériens extérieurs pour expliquer la présence de micro-organismes et de supports organiques sur les parois de certaines grottes. VAN CAMPO par contre, constate la présence de grains de pollen à 40 mètres au maximum dans les entrées des grottes et pas au-delà, ce qui semble confirmer notre hypothèse d'une faible pénétration des particules venues de l'extérieur. (VAN CAMPO (M) - Leroy Crouhan (A) - Etude des Pollens - (Fossiles des grottes d'Arcy-sur-Cure. Bull.Mus.Hist.Nat.Paris(2) XXVIII, 1956).

Plusieurs auteurs signalent la présence d'une poussière de calcite (cristaux de CO_3Ca) et d'argile, parfois abondante et particulièrement gênante lorsqu'elle se dépose sur les objectifs des appareils photo-cinématographiques. Mais une observation attentive du phénomène nous a permis de constater qu'il s'agit en réalité d'une nuage de particules provenant de la combinaison des spéléologues. Celle-ci, traînée le long des parois, ou sur le sol argileux au cours des ramping, se couvre d'une couche d'argile et de calcite, qui, sous l'effet du micro-climat créé par l'explorateur, se dessèche et se fragmente en très fines particules, propulsées dans l'air environnant au moindre mouvement. Un stationnement prolongé, immobile, permet de constater leur disparition. Pour cette raison, nous avons toujours opéré loin de la zone de passage, en effectuant des mouvements lents, afin d'éviter une contamination, spécifique mais artificiellement créée.

La granulométrie des argiles, $0,5\mu$ à 30μ pour certaines argiles rouges, $0,75\mu$ à 25μ pour des mélanges formés de calcite et d'argile (J.J. BLANC -28-) permet toutefois de penser que pour certaines conditions de ventilation, d'hygrométrie, d'ionisation peut-être, les particules de ces matériaux peuvent être mobilisées et servir de support à certains germes.

Si l'on peut admettre la production de gouttelettes de PFLÜGGE dans certaines cavernes très visitées, leur nombre tend vers 0 dans la presque totalité des grottes ou gouffres qui nous intéressent faute de producteur ! Nous avons d'ailleurs, pour chaque cavité, coté la fréquentation de 0 à 10. Le 0 correspond à des galeries ou grottes vierges, inexplorées, le 10 à une fréquentation intense.

Par contre, un aérosol d'eau permanent, probablement bactérien se produit à la faveur des gouttes d'eau qui perlent ou ruissellent de la voûte après avoir traversé les couches pédologiques superficielles, ou des sédiments souterrains. L'aérosol est produit lorsque la goutte éclate et provoque un brouillard nettement visible en tombant sur un rocher, une stalagmite, ou le sol.

Les cascates, cascades et rivières souterraines pulvérisent également sans arrêt de l'eau dans une atmosphère déjà saturée. Certaines boîtes placées par mégarde à la Pierre SAINT-MARTIN, trop près d'une telle source d'aérosolisation sont manifestement plus ensemencées, et d'une façon différente des autres

L'importance de ces aérosols, dans la dissémination aérienne des germes, dépend de leur durée de vie. Les gouttelettes en effet, sédimentent plus ou moins rapidement en suivant la loi de STOKES ou

$$V = 2/g \frac{R^2 g \rho}{\mu} \quad \text{où} \quad \begin{array}{l} V = \text{vitesse de chute en unités CG S} \\ R = \text{rayon de la gouttelette} \\ \rho = \text{densité de l'eau} \\ \mu = \text{viscosité du milieu de chute,} \\ \text{ici l'air où} \quad = 2 \times 10^{-4} \text{ Poises} \end{array}$$

On peut ainsi calculer que théoriquement une gouttelette de 5 μ chute de 2,50 mètres à l'heure, celle de 1 μ de 10 cm à l'heure, etc Ces vitesses faibles, confirment que le moindre courant d'air va assurer la dissémination et la diffusion d'un nuage d'aérosol. Sa longévité et sa stabilité dépendront de la dimension primaire des particules, de la ventilation, et de la prépondérance respective des phénomènes de coalescence ou d'évaporation.

Les facteurs de coalescence étant la pesanteur, surtout pour les grosses particules au-delà de 15μ , les mouvements browniens, les turbulences, les forces électro-statiques.

L'évaporation à l'inverse oriente vers la formation de noyaux de condensation. On peut être surpris de voir évoquer l'évaporation pour un tel milieu, mais MAISONNET (29) rend compte d'une étude de WELLS montrant que si les gouttelettes d'eau de 150 à 200μ ne peuvent se condenser qu'en air sec, les plus fines d'entre-elles au-dessous de 100μ évoluent encore par évaporation en air calme à 90% d'humidité ; ce cas doit correspondre à plusieurs sites cavernicoles.

Cette question sur l'origine et la stabilité des supports aériens en cavernes n'est donc pas simple. On peut en retenir que si l'existence de particules matérielles solides, possible, mais probablement pas dans des zones profondes et éloignées de la surface, il est probable que l'hygrométrie élevée assure la stabilité d'un aérosol bactérien permanent et à tout moment renouvelé par les eaux de percolation et de ruissellement. A titre de comparaison, nous avons d'ailleurs régulièrementensemencé les boîtes avec des gouttes d'eau perlant à l'extrémité des stalactites afin d'identifier les germes qu'elles amènent.

IV - TECHNIQUE D'ETUDE ET DE PRELEVEMENT -

Un grand nombre de techniques et méthodes ont été proposées pour prélever les germes de l'air. Le Professeur MAISONNET, dans une étude détaillée des appareils anciens et modernes (30), isole 5 procédés fondamentaux :

- filtration sur bourre
- ensemencement direct
- prélèvement d'air par barbotage
- prélèvement par sédimentation accélérée
- prélèvement par ensemencement direct
- prélèvement par ensemencement indirect
- précipitation électrostatique

Chacun de ces procédés présente avantages et inconvénients en rapport avec les buts recherchés, et il définit les principales caractéristiques que devrait présenter un appareil satisfaisant.

Pour notre travail, et compte-tenu de l'environnement difficile dans lequel nous avons opéré, il a fallu choisir une méthode simple, nécessitant un appareillage facilement transportable et peu fragile. Nous avons donc utilisé le procédé par sédimentation sur boîte de PETRI contenant un milieu nutritif gélosé solide.

Les particules se déposent ainsi directement sur le milieu de culture.

I/ Préparation - transport des boîtes -

A/ Préparation :

Deux types de boîtes de PETRI ont été utilisées avec des emballages différents.

a) Boîtes en verre pyrex diamètre 100 mm.

Après stérilisation et remplissage, les boîtes sont testées par incubation de 24 heures à 37°. Elles sont ensuite :

- soit le plus fréquemment enveloppées dans du papier velin à filtre stérile,
- soit entourées et fermées avec un sparadrap chirurgical habituel disposé suivant deux dimensions :

- ✕ horizontalement, le long de la solution de continuité entre fond et couvercle de la boîte,
- ✕ verticalement, dans un plan perpendiculaire au premier pour maintenir les deux parties de la boîte fortement appliquées l'une sur l'autre.

b) Boîtes en matière plastique 100 mm de diamètre.

Ces boîtes sont livrées stériles et conditionnées sous emballage plastic. Elles sont remplies au laboratoire avec de la gélose nutritive stérile, puis replacées dans le sac en plastic d'origine à nouveau hermétiquement fermé par un ruban adhésif. Une voie d'aération est conservée par fil de coton tressé traversant la soudure industrielle des deux lèvres du sac.

B/ Transport :

A chaque expédition, en caverne, les boîtes ont été emmenées dans les emballages ci-dessus décrits. Des témoins, préparés de cette façon, subissant les mêmes cheminements et transports que celles utilisées mais non ouvertes, ont été testées après toutes les séances de prélèvement. Elles auraient permis de mettre en évidence une contamination parasite par défaut de la technique d'isolement de l'intérieur des boîtes.

Après les prélèvements, les boîtes étaient de nouveau fermées avec du sparadrap appliqué comme précédemment décrit.

Les boîtes témoins ont confirmé la valeur du système de fermeture. Celui-ci a permis d'éliminer les risques de contaminations pré et post-manipulatoires, en particulier celles liées aux variations de pression atmosphérique et aux entrées et sorties d'air qu'elles provoquent lors des variations d'altitude.

2/ Protocole de prélèvement -

a) Les boîtes ouvertes : lentement, manipulées aussi aseptiquement que possible, en faisant usage fréquemment de bavettes et gants stériles "disposables", ont été placées loin des zones de passages, en des endroits choisis suivant la disposition des lieux et les possibilités d'accès.

Les paramètres majeurs, climatiques, physico-chimiques, biologiques, géologiques et la durée du prélèvement ont, à chaque fois, été soigneusement notés. Exceptionnellement, dans la grotte d'ARRIKRUTZ (Oñate-Guipzcoa -Espagne-) qui présente deux entrées situées de part et d'autre d'une montagne, le parcours ne se faisant alors que dans une seule direction, nous avons pratiqué un mode de prélèvement "dynamique". La boîte tenue à la main, éloignée le plus possible vers l'avant et orientée dans un plan perpendiculaire à celui du déplacement, nous avons avancé régulièrement, le premier vers l'intérieur de la caverne pendant tout le temps d'ouverture de la boîte.

b) La durée de chaque prélèvement a été très variable selon les boîtes et la caverne considérée. Au minimum, ils ont été d'un quart d'heure, au maximum de quelques dizaines d'heures, seule la boîte n°II L. est restée un mois dans la salle de la Verna au gouffre de la Pierre SAINT-MARTIN.

3/ Critique de la méthode -

Les imprécisions de cette méthode par sédimentation simple sont nombreuses et dues à la technique ou au milieu de culture. Mais notre

but était de réaliser une étude qualitative plutôt qu'un dénombrement quantitatif par unité de volume des germes présent dans l'air souterrain. Il est toutefois certain qu'un nombre important de micro-organismes ont échappé à nos investigations pour les raisons que nous évoquons ci-après :

- La totalité des supports n'est évidemment pas recueillie, et la probabilité varie en fonction inverse de leur taille.
- Les turbulences dues aux courants d'air souterrains perturbent obligatoirement la chute des particules supports. Certaines boîtes ont d'ailleurs été exposées perpendiculairement à la direction du déplacement d'air lorsqu'il était violent.
- La plupart des auteurs signalent que les milieux liquides permettent un meilleur développement des germes de l'air que les milieux solides.
- Pour les boîtes longuement exposées, où dont la densité d'ensemencement est élevée, une concurrence vitale a dû s'établir, inhibant le développement de certaines souches.
- Le milieu gélosé nutritif utilisé est certainement incompatible avec le développement de nombreux germes pourtant présents dans l'atmosphère des grottes.
- Le changement des paramètres physico-chimiques et climatiques lors du retour à l'extérieur doit limiter, ou même inhiber le développement d'un grand nombre de souches.
- Le protocole de sélection des colonies sur leurs caractères différentiels macroscopiquement visibles introduit une sous-estimation du nombre des souches dissemblables.

V - CULTURE, DENOMBREMENT ET IDENTIFICATION

DES GERMES RECUEILLIS -

I - Culture - Isolement -

Les boîtes, ramenées au laboratoire sont lavées, débarrassées de leur sparadrap de fermeture, disposées à plat sur une paillasse à la lumière du jour et à la température de la pièce.

Au bout d'un temps variable, des colonies isolées se développent sur la gélose. Leur nombre, pour chaque boîte, a été calculé à l'aide d'un compteur électrique de colonies (Kolonienzählgerät Mod. BZG 24).

Un repiquage sélectif des colonies est ensuite effectué.

Les souches sont ainsi isolées, puisensemencées sur milieux permettant d'examiner leurs propriétés biochimiques. Toutes ces opérations bactériologiques ont été effectuées à la température du laboratoire.

VI - PROVENANCE DES PRELEVEMENTS -

Nous avons prélevé les germes de l'air de II cavités ainsi réparties :

- GROTTES D'ORLIAC, Dordogne, février 1968
- GROTTES MORTUREUX, Dordogne, février 1968
- GROTTES DU FOND D'ANGUILLE, Dordogne, février 1968
- AVEN D'ORGNAC (réseaux découverts en 1966-1967), Ardèche, mai 1968
- GROTTES DU REY, Mayenne, mai 1968
- PUIITS - GROTTES DE MONT-LA-CHAPELLE, Indre, mai 1968
- GROTTES DU PYLONE, Eure, février 1968
- GROTTES JACQUELINE, Eure, février-mars 1968
- GOUFFRE DE LA PIERRE SAINT-MARTIN, Basses-Pyrénées, janvier-mars-juillet-août-septembre 1968
 - Réseau principal.
 - Réseau d'ARPHIDIA, actuel record du monde en cours d'explorations, les prélèvements ayant été réalisés jusqu'à 1.150 m. de profondeur en cours d'expédition, avec l'aide des membres des expéditions, en particulier ceux du Spéléo-Club de ROUEN et de Corentin QUEFFELEC, Président de l'ARSIP (Association de Recherches Spéléologiques Internationales à la Pierre Saint-Martin).
- GROTTES - GOUFFRE DE GEZALTA-ARRIKRUTZ, Espagne, novembre 1968

GROTTE D'ORLIAC (commune d'ORLIAC - Dordogne) :

Altitude : + 200 environ
 Roche : calcaire cénomaniens (probable)
 Température : grotte du type tiède

- Humidité : grotte de type suintante - 100 % -
- Ventilation : peu importante provoquée par les variations de la pression atmosphérique
- Biospéléologie : chauves-souris peu nombreuses. Rongeurs divers. Le couloir d'entrée, très étroit était à l'origine un terrier maintenant agrandi.
- Fréquentation : 5 - grotte assez peu souvent visitée.

- Description -

La grotte fut découverte il y a quelques années par le fils du propriétaire, chasseur, après agrandissement d'un terrier. Un étroit couloir de 60 mètres rencontre une grande galerie de 150 mètres environ, d'où partent de nombreux couloirs bas encore incomplètement explorés. Un très maigre ruisseau la traverse et va se perdre dans une zone impénétrable. Toute la grotte se développe à faible profondeur, sous une colline boisée.

- Prélèvements -

7 boîtes ont été exposées, numérotées de I à 7 et une 8ème boîte ensemencée avec l'eau coulant goutte à goutte d'une stalactite.

Boîte I : exposée au niveau du sol pendant 3/4 d'heure, à l'entrée d'une galerie étroite et basse. Pas de courant d'air perceptible.

Boîte 2 : exposée au niveau du sol, dans une zone à concrétions. Pas de courant d'air perceptible. Durée 3/4 d'heure.

Boîte 3 : placée dans la galerie principale à deux mètres environ au-dessus du sol, sur une coulée de calcite. Pas de courant d'air perceptible. Durée d'exposition : 3/4 d'heure.

Boîte 4 : Dans une petite galerie basse, confluent avec la galerie principale, au niveau du sol argileux, à 8 mètres à l'intérieur de ce boyau, exposition de 50 minutes. Pas de circulation d'air. Reste d'excréments animaux anciens au voisinage.

- Boîte 5 : A l'extrémité gauche de la grande galerie, sur le sol argilo-calcaire du cul-de-sac terminal. Durée d'exposition : 50 minutes. Pas de circulation d'air.
- Boîte 6 : Exposée à l'extrémité droite de la grande galerie, au niveau du cul-de-sac terminal à environ 1,50 mètres de hauteur, sur un support argilo-sableux. Durée du prélèvement : 1 heure. Pas de circulation d'air perceptible.
- Boîte 7 : Déposée dans la petite galerie affluente, parcourue par le ruisseau. Exposition d'une heure. Pas de circulation d'air perçue.
- Boîte 8 : Ensemencée avec l'eau coulant d'une stalactite.

- Nombre de colonies recueillies -

802 colonies au total se répartissant de la façon suivante :

- Boîte 1	81
- Boîte 2	65
- Boîte 3	132
- Boîte 4	74
- Boîte 5	118
- Boîte 6	81
- Boîte 7	251
	<hr/>
	802
- Boîte 8 (eau de stalactite)	49

GROTTE MORTUREUX (Domme - Dordogne)

- Altitude : + 200 environ
 Roche : calcaire jurassique
 Température : grotte de type tiède
 Humidité : grotte de type suintante
 Ventilation : moyenne - Essentiellement provoquée par les variations de la pression atmosphérique -
 Biospéléologie : chauves-souris dans la Ière partie de la grotte. Microforme non étudiée.
 Fréquentation : 5

- Description -

La grotte se trouve sous une colline boisée en bordure de la Dordogne. L'entrée, à 70 mètres au-dessus de la rivière, se présente comme un vaste abri sous-roche au fond duquel une chatière a été agrandie en 1958-59 (MORTUREUX - Ière exploration). Un courant d'air vers l'extérieur était nettement perceptible à cet endroit le jour de notre séance de prélèvement. Après un couloir de 3 à 10 mètres de hauteur en moyenne et long de 300 mètres, entrecoupé de passages étroits et bas (boîtes I à 5), une escalade de quelques mètres donne accès dans un étage latéral plus vaste, formé par une succession de salles très concrétionnées (boîtes 6 et 7). L'ensemble représente un développement de 1,100 Km.

- Prélèvements -

7 boîtes numérotées de I à 7 (Cf. Plan) et une 8ème boîte ensemencée avec l'eau coulant des stalactites dans la 3ème salle de l'étage latéral (Cf. plan et photo).

Boîte I : Durée d'exposition 180' - Placée au niveau du sol argileux, au fond d'une salle latérale - Pas de courant d'air perceptible.

Boîte 2 : Durée d'exposition 150' - Placée à mi-hauteur dans une salle latérale, très humide (de type ruisselant) par de l'eau coulant goutte à goutte de nombreuses concrétions. Pas de courant d'air perceptible.

Boîte 3 : Durée d'exposition 150' - Placée à demi-hauteur dans le couloir principal, à 130 mètres environ de l'entrée. Légère circulation d'air perceptible vers l'extérieur.

Boîte 4 : Durée d'exposition 80' - Placée à hauteur d'homme dans le couloir principal plus profondément que la boîte 3 - Légère circulation d'air perceptible vers l'extérieur -

Boîte 5 : 75' - Situation identique à la précédente mais plus profondément -

Boîte 6 : Durée d'exposition 45' - Placée au niveau du sol, vers le haut d'une salle remontante très humide et argileuse (photo). Pas de circulation d'air perceptible -

Boîte 7 : 15' d'exposition - Boîte placée sous voûte basse à 1 mètre du sol - Présence de nombreuses stalactites -

Eau de stalactite - Boîte 8 (1 photo) -

- Nombre de colonies recueillies -

1.633 au total se répartissant ainsi :

- Boîte 1	366
- Boîte 2	356
- Boîte 3	325
- Boîte 4	283
- Boîte 5	131
- Boîte 6	84
- Boîte 7	88

I.633

- Boîte 8 (eau de stalactite) 6

°

°

°

GROTTE DU FOND D'ANGUILLERE :

Altitude	: + 30 (environ)
Roche	: non identifiée
Température	: grotte du type tiède
Humidité	: 100 %
Ventilation	: pas de circulation d'air perceptible
Biospéléologie	: très importante colonie de chauves-souris - Apports organiques très importants (feuilles, brindilles, etc ...). Microforme non étudiée.
Fréquentation	: Moyenne - 5 -

- Description -

Le ruisseau d'Anguillère jaillit de la falaise au bord d'un vallon verdoyant, dans les environs de BERGERAC. Quelques mètres plus haut, dans les broussailles, baille un porche de caverne. En s'enfonçant d'une vingtaine de mètres, on retrouve le ruisseau dans son cours souterrain. Il circule dans une unique galerie sinueuse et longue de 2,500 Kms, très près de la surface. Une importante colonie de chauves-souris, plusieurs milliers d'individus, vit accrochée au plafond à environ 60 mètres de l'entrée. Le ruisseau a creusé à cet endroit un chenal dans un énorme tas de guano qu'il lessive sans arrêt. Au-delà, dans cette galerie simple à l'extrême, on observe la présence de débris organiques provenant de la surface, constitués de feuilles, brindilles, morceaux de bois, etc

- Prélèvements -

Boîte 1 : A 50 mètres de l'entrée environ, sur un redan de la paroi à 1,50 mètre au-dessus du ruisseau. Durée d'exposition : 2 H.

Boîte 2 : A 100 mètres de l'entrée, près de l'endroit marqué par le guano où se situe, l'été, la colonie de chauves-souris, absentes à la saison où ont été faits les prélèvements. Durée d'exposition : 1 H 30.

Boîtes 3 - 4 - 5 - 6 : Disposées dans la galerie à 1 mètre environ au-dessus du ruisseau, à 300, 450, 500 et 600 mètres de l'entrée pour des durées d'exposition de 1 H 1/4, 3/4 d'heure, 3/4 d'heure et 1/4 d'heure. La caverne se poursuit au-delà du dernier prélèvement.

Boîte 8 : Un prélèvement de paroi a été fait au niveau de zone argileuse sur laquelle se développent des taches blanches ressemblant à des moisissures.

Un prélèvement d'eau de ruissellement de la paroi a été pratiqué.

- Nombre de colonies recueillies -

637 au total se répartissant ainsi :

- Boîte 1	27 col.
- Boîte 2	19 col.
- Boîte 3	266 col.
- Boîte 4	57 col.
- Boîte 5	55 col.
- Boîte 6	213 col.
Total	<u>637 col.</u>

- Boîte 8 (prélèvement paroi) 72 col.
- Boîte 9 (eau de ruissellement) 4 col.

AVEN D'ORGNAC :

- Altitude : + 400 mètres
 Roche : calcaire urgonien
 Température : type de grotte tiède
 Humidité : type de grotte suintante
 Ventilation : Assez forte circulation d'air vers la sortie, déjà signalée en 1938-39 par l'Abbé GLORY qui avait noté deux petits orifices dans la paroi Nord d'où s'échappait un vent violent. C'est cet endroit qui, agrandi en 1965, donna accès dans la suite du réseau où nous avons pratiqué les prélèvements.
 Biospéléologie : quelques chauves-souris, Coléoptères du type diaprysius (l'un d'eux a été retrouvé dans une boîte de Pétri).
 Fréquentation : ORGNAC I est l'objet d'une visite touristique depuis 1939.

ORGNAC II, III et IV, découverts en 1965, sont relativement peu fréquentées par les spéléologues en dehors des inventeurs. L'étroitesse du passage entre ORGNAC I et ORGNAC II, la constance du courant d'air vers la sortie ont certainement assuré un isolement suffisant pour considérer les nouveaux réseaux d'ORGNAC comme non-contaminés par les touristes.

Nouveaux réseaux cotation 2.

- Description -

Découvert en 1935 et exploré à la même époque par R. de JOLY et son équipe, l'AVEN D'ORGNAC est devenu une des plus célèbres cavernes touristiques françaises.

En 1965, une équipe, dirigée par J.C. TREBUCHON (spelunca I-1967) découvre, après désobstruction d'un trou souffleur déjà anciennement connu, une suite quintuplant la surface déjà connue de l'Aven.

Les très grandes galeries nouvellement explorées, se répartissent en 3 zones ainsi nommées : ORGNAC II 700 mètres - ORGNAC III I.400 mètres - ORGNAC IV I.050 mètres.

ORGNAC I, long de 700 mètres, correspondant à la partie aménagée pour les visites touristiques.

L'ensemble de la caverne est caractérisée par la grande dimension des galeries et un concrétionnement profus et constant dont nous ne connaissons pas d'autre exemple. Les prélèvements que nous avons effectués ont tous été faits dans les zones II - III - IV que nous pouvons considérer comme non contaminées jusqu'à leur découverte en 1965.

- Prélèvements -

Boîte 1 : Placée dans la première salle, à mi-hauteur. Zone très concrétionnée. Durée d'exposition : 11 H 30.

Boîte 2 : Exposée dans une partie basse, argileuse et ruisselante. Deux faits importants à noter.

- a) la présence d'un cavernicole (probablement un diaprysius) entré seul dans la boîte où il est resté prisonnier.
- b) la présence de 2 colonies ayant poussé pendant les 10 H. d'exposition.

Boîte 3 : Dans la 3^{ème} salle d'ORGNAC III, très vaste, la boîte a été exposée 9 H au sommet d'un bloc d'aboutis, au point le plus haut de la salle.

Boîte 4 : Entrée de la salle plane, loin de la zone de passage.

Boîte 5 : Dans un éboulis.

Boîte 6 - 7 - 8 : Ces boîtes ont été exposées dans cette zone de type ruisselant, où les concrétions sont particulièrement abondantes.

Boîte 9 : Placée dans la salle des I3 qui se présente un peu comme un amphithéâtre, sur un bord, à mi-hauteur.

- Nombre de colonies recueillies -

I.502 au total se répartissant ainsi :

- Boîte 1	258
- Boîte 3	130
- Boîte 4	192
- Boîte 5	101
- Boîte 6.....	87
- Boîte 7	297
- Boîte 8	344
- Boîte 9	93

- Boîte 2 (insecte) incomptable

- GROTTE DU REY : 5 boîtes - Envahissement par des moisissures.
Nombre de colonies incommptables.
- Altitude : + 200 environ
- Roche : calcaire primaire probablement carbonifère
- Température : caverne de type chaud (la seule de notre étude)
- Humidité : caverne de type suintant - 100 % -
- Ventilation : extrêmement faible, néanmoins une légère circulation d'air est perceptible, en particulier à l'extrémité du réseau supérieur sud (appelé Méandre).
- Biospéléologie : microforme non étudiée, probablement peu abondante.
- Fréquentation : IO. Il s'agit, avec la Jacqueline, de la caverne la plus fréquentée de notre étude.

- Description -

Découverte fortuitement à la faveur d'un coup de mine dans une carrière, la grotte du REY, creusée dans des calcaires primaires, est la seule grotte de notre travail à être du type chaud.

Un escalier en bois, installé par le propriétaire (Nous devons à la gentillesse de M. d'ALBOVILLE d'avoir pu visiter sa grotte à plusieurs reprises), descend dans une grande salle joliment décorée par des concrétions colorées. A partir de cette salle, se développe une vaste cavité, comportant 3 niveaux, un nouveau réseau Nord a été découvert en 1967, et les galeries du niveau inférieur (Boîtes 3 à 5) voisinent la nappe phréatique. La circulation d'air est faible.

GROTTE DE MONT-la-CHAPELLE (Indre) :

- Altitude : + 100 (environ)
 Roche : calcaire oolithique bathonien
 Température : grotte de type tiède
 Humidité : grotte de type suintante 100 %
 Ventilation : provoquée presque exclusivement par les variations de la pression atmosphérique, réalisant le type de caverne avec respiration, dont nous avons expliqué le fonctionnement dans le paragraphe sur la ventilation.
 Biospéléologie : aucune étude connue.
 Fréquentation : 4

- Description -

Il s'agit d'un vieux puits (photo) ouvert au flanc d'une falaise que borde l'Indre près de LEBLANC. A 20 mètres de profondeur, on rencontre un niveau de cavernement qui, à la faveur d'une influence phréatique, a engendré la formation d'une cavité relativement vaste et horizontale. La nappe d'eau, au même niveau que l'Indre toute proche, affleure, et certaines parties sont totalement ennoyées (salle du lac - Boîtes 3 et 4). Dans un diverticule de la première salle, des infiltrations de purins issues d'une ferme voisine forment une zone boueuse et malodorante. Dans la 2ème salle, d'assez jolies concrétions se développent sous des plafonds bas. En plusieurs endroits, des racines venues de la surface percent le calcaire et pendent de la voûte.

- Prélèvements -

6 boîtes ont été exposées au cours de 2 séances, les 15 Avril et 5 Mai 1968.

Le 15 Avril 1968 -

- Boîte I : Placée dans la première salle, sur des blocs de calcaires assez près (10 à 15 mètres) de la zone où se produisent

les infiltrations polluantes venues de la surface. Durée d'exposition : 2 H. - Pas de courant d'air.

- Boîte 2 : Egalement dans la 1ère salle mais du côté opposé donc assez éloigné de la zone polluée. Au niveau du sol. 2 H. d'exposition. Pas de courant d'air.
- Boîte 3 : Boîte déposée sur un îlot, au milieu du lac, très près du niveau de l'eau. Pas de courant d'air. Exposition de 20 minutes.

Le 5 Mai 1968 -

- Boîte 4 : Disposée près de la paroi Ouest, dans la 2ème salle, non loin du lac. Pas de courant d'air, quelques stalactites sous les plafonds bas au voisinage. Durée d'exposition : 3/4 d'heure.
- Boîte 5 : Dans la grande galerie au-delà de la 2ème salle. Placée à plat sur le sol. Racines suspendues à la voûte, au-dessus de la boîte. Durée d'exposition : 1/2 heure.
- Boîte 6 : 1ère salle. Exposition de 3 heures.

- Nombre de colonies recueillies -

I.090 au total se répartissant ainsi :

- Boîte 1	58
- Boîte 2	78
- Boîte 3	60
- Boîte 4	238
- Boîte 5	220
- Boîte 6	436

GROTTE DU PYLONE (Caumont - Eure -) :

- Altitude : + 20 mètres environ
 Roche : craie sénonienne (classique craie à silex)
 Température : grotte de type tiède - 10 à 11° selon les endroits -
 Humidité : grotte de type suintante - 100 %
 Ventilation : faible. Mal systématisée. Légers courants d'air perceptible en certains endroits, se dirigeant vers l'extérieur.
 Biospéléologie : quelques chauves-souris. Microforme non étudiée.
 Fréquentation : importante cotation 8.

- Description -

La grotte proprement dite s'ouvre au fond d'une carrière souterraine longue de 350 mètres et débute par une diaclase en partie comblée par de l'argile. Après une escalade de 10 mètres, on chemine sous un plafond crayeux (Boîte 4) et une forte pente argileuse (puits de la boue) conduit au bord d'un ruisseau jaillissant de micro-fissures (boîte 5). Au sommet de la diaclase, avant le puits de la boue, une galerie étroite et basse, appelée méandre, permet d'accéder après 45 Mètres de reptation au plafond d'une "grande salle" traversée par un ruisseau à très faible débit (0,26 l/s. d'après WILKINSON - Spélinca 2 - 1968). Les boîtes 1 - 2 - 3 ont été exposées en différents endroits de cette salle longue de 10 mètres, large de 3 à 4 et haute de 15 mètres environ.

- Disposition des boîtes -

5 boîtes au total, de 1 à 5.

Boîte 1 : Durée I H 30. Placée dans la "grande salle", à l'extrémité amont, à 1,50 mètre du sol, à l'entrée de la galerie d'arrivée du ruisseau. Pas de courant d'air perçu.

- Boîte 2 : "Grande salle". Durée 1 H 30. A l'extrémité aval, au niveau de l'entrée dans la salle yolande, 30 cm sous la voûte, sur le sol. Léger courant d'air sortant de la grande salle vers la salle yolande.
- Boîte 3 : Durée 1 H 30. Dans la galerie située au fond de la "Grande Salle", à 1 mètre au-dessus de l'eau. Pas de courant d'air perceptible.
- Boîte 4 : Au sommet de la diaclase d'entrée. Pas de courant d'air. Durée 2 H.
- Boîte 5 : Au bas du Puits de la boue, à 30 cm au-dessus de l'eau. Argile en quantité importante. Pas de courant d'air possible, cul-de-sac complet. Durée 2 H.

- Nombre de colonies recueillies -

Nombre incomptable de colonies :

- | | | |
|-----------------|---|--|
| - Boîte 1 | } | incomptable - colonies trop nombreuses |
| - Boîte 2 | | |
| - Boîte 3 | | |
| - Boîte 4 | | |
| - Boîte 5 | | |

GROTTE JACQUELINE (Caumont - Eure -) :

- Altitude : + 7 mètres environ
- Roche : craie turonienne
- Température : grotte de type tiède.
 Températures relevées : galerie C.C.D.F. 11° 5
 salle du chaos 8° 2
- (la présence de courants d'air, parfois assez intenses, expliquent les écarts notés pour des lieux voisins).
- Humidité : type grotte suintante - 100 % -
- Ventilation : assez importante. Courant d'air perceptible en de nombreux endroits. Difficile à systématiser, l'existence d'entrées inconnues étant probable.
- Biospéléologie : chauves-souris (peu nombreuses du genre rhinolophes).
 Nombreux diptères (mouches, moustiques) dans certaines zones liés à la présence de détritits abandonnés par des visiteurs.
- Fréquentation : IO. La Grotte JACQUELINE est celle de notre travail qui, avec la Grotte du REY et la Grotte du PYLONE, est la plus fréquentée par les spéléologues ou soi-disant tels.

- Description -

La grotte commence dans une paroi de la carrière JACQUELINE, à 150 mètres de l'entrée, par une galerie basse, descendante où un courant d'air vers l'extérieur est nettement perceptible. Cette galerie se prolonge à deux niveaux horizontaux qui se rejoignent un peu avant la salle du chaos (boîte 4) à 67 mètres de l'entrée. Dans cette salle, un passage étroit, à travers les blocs entassés, donne accès dans la galerie du C.C.D.F. (Camping Club de France), rectiligne et accidentée, longue de 150 mètres (boîtes I et 2). Plusieurs endroits de cette galerie sont au niveau de l'Under-Flow de la Seine, et des laisses d'eau, à niveau variable selon les marées, barrent toute la galerie. La Grotte JACQUELINE présente bien d'autres galeries dans lesquelles nous n'avons pas effectué de prélèvements.

- Prélèvements -

- Boîte 1 : Dans la galerie C.C.D.F. à 2 mètres au-dessus du fond de la galerie. Pas de courant d'air.
- Boîte 2 : Dans la galerie C.C.D.F., dans sa partie moyenne, au-dessus d'une nappe d'eau. Pas de courant d'air. Eau de percolation assez abondante.
- Boîte 4 : Salle du chaos. Boîte placée tout en haut de la salle, sous une voûte basse. Pas de courant d'air.
- Boîte 5 : Cette boîte a été exposée dans une très petite galerie affluente de la galerie principale, à environ 30 mètres de celle-ci. Pas de courant d'air perceptible.
- Boîte 6 : A 10 mètres environ au-dessus du fond de la salle de la couronne, au sommet d'une cheminée remontante (non figurée sur le plan). 3 Heures d'exposition.
- Boîte 3 : goutte d'eau tombant du plafond.

- Nombre de colonies recueillies -

Nbre incomptable de colonies au total se répartissant ainsi :

- Boîte 1	incomptable	- moisissures
- Boîte 2	incomptable	- moisissures
- Boîte 4	incomptable	- moisissures
- Boîte 5	43	
- Boîte 6	36	

- Boîte 3 (eau de percolation) 52

GOUFFRE DE LA PIERRE SAINT-MARTIN :

- Altitude : zone de drainage air et eau + 2.000 m
 Gouffre de la Tête Sauvage + 1.882 m
 Gouffre de la Pierre Saint-Martin (lépineux) + 1.737 m
 Tunnel E.D.F. + 1.050 m
- Roche : calcaires turoniens sur une épaisseur de 300 à 400 m, puis sous une couche schisteuse, calcaires carbonifères.
- Température : caverne de type froid. Entre 4° et 5° selon la profondeur dans le gouffre.
- Humidité : sursaturation dans la plupart des zones étudiées, excepté dans la galerie ARANZADI.
- Ventilation : très importante. 300 à 400 tonnes d'air transitent par 24 H. dans le réseau, dont le sens est déterminé par le gradient de température entre l'extérieur et l'intérieur (Voir schéma circulation d'air).
- Biospéléologie : essentiellement des coléoptères du type Aphaenops. Microfaune encore mal connue en dehors de ces espèces.
- Fréquentation : très faible, ou nulle, beaucoup de zones étudiées étant encore vierges au moment des prélèvements.

- Description -

Il s'agit d'un réseau de haute montagne à grande dénivelée (actuellement record du monde), possédant plusieurs entrées connues. Depuis 1960, un tunnel artificiel, long de 800 mètres, percé par l'E.D.F., met en communication l'une des grandes salles du gouffre avec l'extérieur à la cote + 1.050 m. Découvert en 1950 (G. LEPINEUX - M. COSYNS), le gouffre a été descendu pour la première fois en 1951. Une cheminée verticale de 343 mètres (gouffre LEPINEUX) débouche au plafond d'une salle géante (salle LEPINEUX), encombrée d'éboulis sur plus de 100 mètres de hauteur.

Vers l'aval, sept salles de grande dimension s'échelonnent sur 2,500 Kms jusqu'à la profondeur de - 820 mètres, dans l'ordre suivant :
 Salle Casteret - Salle Loubens - Salle Quéffelec - Salle Adélie - Salle

Chevalier (600 mètres de long, 50 mètres de largeur et 80 mètres de hauteur), Salle la "Verna", la plus importante (230 mètres de long, 180 mètres de large et 150 mètres de hauteur).

La cavité est parcourue par un torrent à fort débit (1.000 litres/sec. à l'étiage, 20.000 litres/sec. enregistrés en crue par l'E.D.F.) qui se perd au fond de la salle "la Verna" sur une plage de gros galets roulés. A l'extrémité de cette plage, se dresse une muraille verticale de 110 mètres, au sommet de laquelle se trouve une vaste galerie fossile, la Galerie ARANZADI, longue de 300 mètres et en partie comblée par un dépôt d'argile sèche (de plus de 30 mètres d'épaisseur). Au-delà, la caverne se poursuit sur 1,800 km explorés mais nous n'avons pas pratiqué de prélèvement dans cette partie.

A l'amont, de la salle Lépineux, le gouffre continue encore sur plusieurs kilomètres, et l'exploration est en cours. Un puits vertical communiquant avec la surface, situé 420 mètres plus haut, a été récemment découvert (Tête Sauvage).

Le développement actuellement connu dépasse 13 Kms pour une dénivelée reconnue sur 1.153 mètres. L'ensemble du réseau est parcouru par un violent courant d'air, dont le sens varie avec les saisons. Une humidité sursaturante est constante, exceptée pour la Galerie ARANZADI. Les salles sont occupées par de gigantesques chaos, et le torrent circule sur un lit de schistes imperméables.

- Prélèvements -

II boîtes numérotées de I à II ont été mises en place les 19 - 20 juillet 1968 et exposées 24 heures en moyenne dans les galeries principales du gouffre, sur 2 Kms de distance et environ 300 mètres de dénivelée.

- Boîte 1 : Entrée de la galerie baptisée Métro, à 1 mètre du sol environ. Un courant d'air descendant est nettement perceptible. Il s'agit de la boîte placée la plus à l'amont, donc la plus élevée dans le gouffre (+ 1300 environ).
- Boîte 2 : Salle Queffelec, au sommet de la barrière de rochers et d'argile haute de 50 mètres, qui barre toute la galerie. Un courant d'air descendant est perçu.
- Boîte 3 : Petite salle latérale, entre les Salles Queffelec et Adélie, très peu de courant d'air, la boîte a été déposée sur le sol argileux.
- Boîte 4 : Salle Adélie. Cette première boîte a été disposée à 40 mètres environ au-dessus du torrent, à peu près à mi-hauteur dans la salle.
- Boîte 5 : Salle Adélie, au sommet du chaos, à environ 80 mètres au-dessus du niveau du torrent.
- Boîte 6 : Boîte placée à l'entrée de la zone d'étranglement qui se situe entre les Salles Adélie et Chevalier. Un très violent courant d'air s'engouffre dans la faible section empruntée également par le torrent (15 mètres de large, 1,50 mètre de haut). La boîte a été disposée dans un plan perpendiculaire, face au courant d'air.
- Boîte 7 : De l'autre côté des étroitures, à l'entrée de la Salle Chevalier, le torrent circule sous les blocs de rochers 3 ou 4 mètres plus bas. Air en circulation nettement perçu, violent, s'échappant de la zone d'étranglement précédemment décrite.
- Boîte 8 : Au bas de la Salle Chevalier, très près d'une cascade (15 à 20 litres/sec.) qui chute depuis le plafond (80 mètres). Cela crée une zone de turbulence, avec courant d'air violent et brouillard.

- Boîte 9 : Même zone que la boîte précédente, mais beaucoup plus haut dans la salle, loin de l'influence de la cascade.
- Boîte 10 : Entre les Salles Chevalier et Verna, dans une zone complexe où cascade le torrent. Sursaturation particulièrement abondante avec brouillard permanent et courants d'air violents.
- Boîte II : Dans la Galerie ARANZADI, à 100 mètres au-dessus du fond de la Salle La Verna dans une zone ventilée, de type sèche, la seule de nos prélèvements à la Pierre Saint-Martin.

- Nombre de colonies recueillies -

753 se répartissant ainsi :

- Boîte I	90
- Boîte 2	35
- Boîte 3	33
- Boîte 4	41
- Boîte 5	114
- Boîte 6	78
- Boîte 7	99
- Boîte 8	117
- Boîte 9	31
- Boîte 10	97
- Boîte II	18

753

GROTTE - GOUFFRE D'ARPHIDIA (Réseau du Gouffre de la Pierre Saint-Martin)

La grotte - gouffre d'Arphidia fait partie du système de la Pierre Saint-Martin dont elle constitue actuellement un affluent, et présente, par conséquent, les mêmes facteurs climatiques et écologiques. On y accède par le tunnel creusé par l'E.D.F. pour la recherche de la Salle La Verna.

Elle est connue depuis 1957. En 1967, le terminus aval fossile est désobstrué. L'exploration est reprise (Spéléo-Club de ROUEN) et amène la découverte d'une suite de puits et de galeries séparés par des chaos et des méandres parfois très étroits. La dénivelée totale à partir du tunnel est actuellement de 450 mètres, 1250 depuis l'entrée du gouffre de la Tête Sauvage.

De très nombreux prélèvements ont été faits dans cette partie du réseau de la Pierre Saint-Martin, la plupart en zones vierges au cours de plusieurs explorations.

Partie Avale :

- Expédition du 29 décembre 1967 -

La température extérieure est négative, le sens du courant d'air va vers l'intérieur du gouffre.

Boîte 1 : Salle Accoce, en haut de la salle, à 40 mètres au-dessus du fond. Zone de type suintant, air calme en raison de la grande section. Durée du prélèvement : 10 heures.

Boîte 2 : Au fond de la salle Accoce, dans une zone en cul-de-sac, totalement exempte de circulation d'air, type suintant. Durée d'exposition : 9 heures.

- Boîte 3 : Au fond de la Salle Accoce, mais dans une zone ruisselante, sous une coulée de calcite. Durée d'exposition : 9 heures.
- Boîte 4 : Dans une zone chaotique de type suintant. Durée du prélèvement : 8 heures.
- Boîte 5 : Au fond d'un puits, dans une galerie sans issue, très argileuse. Durée du prélèvement : 3 heures.
- Boîte II : Prélèvement d'argile.
- Boîte I2 : Dans une zone étroite avec courant d'air - vierge. Durée : 1 heure.

- Expédition du 17 mars 1968 -

- Boîtes I et 2 : A la base du puits Prébende. Durée : 6 heures.
- Boîte 3 : Dans zone étroite (mini-méandre) avec courant d'air. Durée : 4 heures.

- Expédition du 14 au 20 juillet 1968 (tous les prélèvements ont été faits en zone vierge inexplorée) -

- Boîte I : Galerie UNAMUNO. Air calme.
- Boîte 2 : Au début de la Galerie UNAMUNO, sur le bord de la Salle Rudeau. Sursaturation importante.
- Boîte 3 : Salle Rudeau à 30 mètres au-dessus du fond de la salle. Aérosol aqueux permanent entretenu par une cascade. Brouillard permanent.

- Expédition du 13 au 24 août 1968 (Tous les prélèvements ont été faits en zone vierge) -

- Boîte 9 : Dans la Galerie UNAMUNO, au seuil d'un puits inexploré d'où jaillit un violent courant d'air, la boîte étant disposée perpendiculairement au sens du courant d'air pendant 12 heures.
- Boîte 10 : Au niveau du sol dans la Galerie UNAMUNO. Durée d'exposition : 5 heures.
- Boîte 11 : Dans éboulis schisteux. Durée : 4 heures.
- Boîte 5 : Dans la Salle Treuthard, au niveau du sol argileux, dans une zone d'air calme. Durée : 1 heure 30.

- Expédition du 27 septembre au 1er octobre 1968 (prélèvements en zone vierge) -

- Boîte 1 : Salle Labeyrie. Au fond de la salle, dans une zone argileuse et ruisselante. Air calme.
- Boîtes 2 et 3 : Salle Treuthard. Au fond de la salle, sur un sol argileux.

Partie Amont : (Août 1968 - zone vierge)

- Boîte 1 : Galerie suicide. Zone ruisselante, air calme. Durée : 2 H.
- Boîte 4 : Galerie principale amont. Courant d'air descendant important. Zone ruisselante : Durée : 4 heures 30.

- Boîte 6 : Dans la Galerie principale. Courant d'air descendant. Zone ruisselante. Durée : 3 heures.
- Boîte 7 : Au début de la galerie principale amont, à 50 mètres environ du tunnel E.D.F. Courant d'air descendant près d'une cascade. Sursaturation. Durée : 4 heures 30.
- Boîte 8 : Dans la galerie principale. Courant d'air descendant, zone ruisselante. Durée : 4 heures.

- Nombre total de colonies recueillies -

4.083 au total, se répartissant ainsi :

29.12.67

- Boîte I	142
- Boîte 2	35
- Boîte 3	70
- Boîte 4	82
- Boîte 5	665
- Boîte I2	295

- Boîte II - argile germes non identifiés

17.3.68

- Boîte I	125
- Boîte 2	73
- Boîte 3	91

I4 - 20.7.68

- Boîte I	80
- Boîte 2	61
- Boîte 3	48

I3 - 24.8.68

- Boîte 9	I40
- Boîte IO	I23
- Boîte II	I36
- Boîte 5	259

27.9.68

- Boîte I	I57
- Boîte 2	220
- Boîte 3	59

Août 68 - Amont -

- Boîte I	358
- Boîte 4	36
- Boîte 6	309
- Boîte 7	I07
- Boîte 8	413

GROTTE DE GEZALTZA-ARRIKRUTZ (Espagne)

Altitude : + 900 m
 Roche : calcaires turoniens
 Température : grotte de type tiède
 Humidité : type suintante
 Biospéléologie : non étudiée
 Fréquentation : 2

- Description -

GEZALTZA-ARRIKRUTZ représente un ensemble de galeries étendues sur plusieurs kilomètres et traversant la montagne de part en part. Exploration non terminée, commencée en 1952 par nos amis spéléologues d'Oñate et Tolosa (Espagne). Cette caverne complexe est la seule où nous avons pratiqué des prélèvements "mobiles", c'est-à-dire en progressant avec la boîte de Petri ouverte, gelose orientée vers l'avant, perpendiculairement à l'axe de la direction suivie, et en précédant les autres visiteurs. La grotte présente 3 entrées connues à des altitudes variées, les différentes parties étant écologiquement fort différentes.

Boîte 1 : Près de l'entrée la plus basse. Zone suintante. Pas de courant d'air. Durée : 5 mn.

Boîte 2 : Même endroit. Mobile 5 mn.

Boîte 3 : Galerie suintante. Air calme. Mobile 4 mn.

Boîte 4 : Salle suintante. Air calme. 45 mn.

- Boîte 5 : Grande salle Aranzadi, Au niveau du sol, Air calme,
Durée : 45 mn.
- Boîte 6 : Zone très concrétionnée, Air calme. Type suintante. Mobile
15 mn.
- Boîte 7 : Mobile sur 100 m. Grande galerie, Air calme.
- Boîte 8 : Même zone, placée à 2 mètres au-dessus du sol. Air calme.
Type suintante. Durée : 50 mn.
- Boîte 9 : Sur sol argileux au bord d'un lac. Sursaturation. Air
totalement calme. Durée : 40 mn.
- Boîte 10 : Dans une galerie latérale (galerie 53) au niveau du sol.
Air calme. Type suintante. Durée : 50 mn.
- Boîte 11 : Idem - Durée : 1 H 45
- Boîte 12 : Idem - Durée : 2 H
- Boîte 13 : Prélèvement de paroi (mond-milch)

- Nombre total de colonies recueillies -

1671 au total, se répartissant ainsi :

- Boîte I	207
- Boîte 2	241
- Boîte 3	III
- Boîte 4	198
- Boîte 5	107
- Boîte 6	66
- Boîte 7	115
- Boîte 8	94
- Boîte 9	180
- Boîte 10	137
- Boîte 11	128
- Boîte 12	32
- Boîte 13 (prélèvement de paroi)	55

VII - ETUDE QUALITATIVE DE LA FLORE BACTERIENNE

RECUEILLIE -

Nous venons d'étudier les principaux facteurs qui conditionnent et caractérisent le milieu aérien souterrain, ainsi que les sites où nous avons opéré les prélèvements.

Par quelles espèces microbiennes la flore bactérienne de l'air des cavernes est-elle représentée ? La constitution de cette flore est-elle différente de celle de l'air extérieur ? Varie-t-elle selon la situation géographique des cavernes ? Selon leur fréquentation, etc ... Y-a-t-il des germes pathogènes pour l'homme ? Autant de problèmes que nous allons tenter de résoudre.

A/ Selon les familles et les genres -

1°) Pour la totalité des prélèvements.

103 prélèvements effectués dans les 11 cavernes citées. Ces prélèvements ont permis d'identifier 506 souches microbiennes qui se répartissent de la façon suivante :

- La famille la plus souvent rencontrée est celle des bacillaceae uniquement représentée par le genre bacillus : 249 souches, soit 49,03 % de la totalité des germes.

- Puis viennent les Micrococceae, représentés par les genres :

- Micrococcus, 135 souches, soit 26,56 % de la totalité

- Staphylococcus, 19 souches, soit 3,76 %

- Sarcina, 1 seule souche

- On trouve ensuite des achromobacteriaceae, représentés par le genre Flavobacterium, 74 souches, soit 14,62 % de la totalité.

19 souches n'ont pu être encore identifiées, et représentent donc 3,76 % de la totalité.

Enfin, 10 souches de levures ont été dénombrées.

2°) Grotte par grotte.

- ORLIAC - 51 souches ont été isolées et identifiées.

Bacillus	35 souches, soit 68,62 %
Micrococcus	11 souches, soit 21,56 %
Flavobacterium	2 souches, soit 3,92 %
Sarcina	1 souche, soit 1,96 %

Le pourcentage Bacillus - Micrococcus apparaît très important puisqu'il représente 46 souches, soit 90,2 % des germes de cette caverne.

- MORTUREUX - 57 souches furent isolées, 56 ont été identifiées.

Bacillus	37 souches, soit 64,84 %
Micrococcus	16 souches, soit 28,07 %
Flavobacterium	3 souches, soit 5,26 %

Bacillus et micrococcus occupent toujours la première place puisqu'ils représentent 53 souches, soit 94,64 % des germes de cette caverne.

- FOND D'ANGUILLE - 24 souches isolées et identifiées.

Bacillus	15 souches, soit 62,50 %
Micrococcus	6 souches, soit 25 %
Flavobacterium	3 souches, soit 12,5 %

Dans cette caverne, le pourcentage Bacillus - Micrococcus apparaît légèrement plus faible, tout en restant cependant très important avec 21 souches, soit 87,5 % de la microflore de la grotte.

- ORGNAC - 39 souches ont été isolées et identifiées.

Bacillus	20 souches, soit 51,28 %
Micrococcus	12 souches, soit 30,76 %
Flavobacterium	5 souches, soit 12,84 %
Staphylococcus	2 souches, soit 5,12 %

Le pourcentage Bacillus - Micrococcus est un peu plus faible, mais reste important avec 32 souches, soit 82,05 % de la totalité des germes recueillis. 2 souches de Staphylococcus ont été trouvées, ce qui semble montrer une certaine influence des visites touristiques de la partie ORGNAC I dans le peuplement de l'air des galeries nouvellement découvertes, cela semblait, a priori, exclu compte-temu de la morphologie et de la climatologie de la caverne.

- REY - 7 souches seulement ont été isolées afin d'être identifiées.

Bacillus	3 souches
Micrococcus	3 souches
Flavobacterium	1 souche

En raison du très faible nombre de souches isolées, aucune conclusion ne peut être tirée de ces résultats.

- MONT LA CHAPELLE - 33 souches isolées dont 29 identifiées et 4 non identifiées.

Bacillus	14 souches, soit 42,42 %
Micrococcus	10 souches, soit 30,33 %
Staphylococcus	2 souches, soit 6,06 %
Flavobacterium	1 souche, soit 3,03 %
Levures	2 souches, soit 6,06 %

Il existe donc un pourcentage Bacillus - Micrococcus qui reste élevé, 24 souches, soit 82,75 % des germes identifiés. La présence de staphylococci est probablement liée aux infiltrations polluantes venues de la surface très proche (voir cf. Description de la grotte). A noter également la présence de levures dans une proportion de 6,06 %.

- PYLONE - 23 souches isolées dont 22 identifiées et une non identifiée.

Bacillus	9 souches, soit 39,13 %
Micrococcus	6 souches, soit 26,09 %
Staphylococcus	4 souches, soit 17,39 %
Flavobacterium	2 souches, soit 8,70 %
Levures	1 souche, soit 4,75 %

Pour cette caverne, le pourcentage Bacillus - Micrococcus est assez nettement plus faible que les précédentes puisque les 15 souches isolées ne représentent que 68,18 % de la totalité des germes identifiés. Cela semble correspondre à une diminution des Bacillus, le pourcentage des micrococci conservant une valeur voisine de celle des autres cavernes.

La présence de 4 souches de staphylococcus, soit 17,39 % de l'ensemble des germes identifiés correspond sans doute à une fréquentation élevée, côtéé 8.

- JACQUELINE - 33 souches isolées dont 32 identifiées et une non identifiée.

Bacillus	7 souches, soit 21,21 %
Micrococcus	13 souches, soit 39,39 %
Staphylococcus	6 souches, soit 18,18 %
Flavobacterium	2 souches, soit 6,06 %
Levures	4 souches, soit 12,12 %

Pour cette caverne, le pourcentage Bacillus - Micrococcus est faible, 20 souches représentant 62,5 % de l'ensemble des germes identifiées.

Il y a inversion du rapport Bacillus - Micrococcus et une plus grande proportion des Micrococeae (micrococcus et staphylococcus) puisqu'avec 19 souches identifiées, ils totalisent un pourcentage de 59,37 %. Le seul paramètre écologique prépondérant et qui doit être responsable de ce fait est la très importante fréquentation de cette caverne peu ventilée.

- GOUFFRE DE LA PIERRE SAINT-MARTIN - Réseau principal.

89 souches ont été isolées dont 82 identifiées et 7 non identifiées.

Bacillus	42 souches, soit	47,19 %
Flavobacterium	22 souches, soit	24,70 %
Micrococcus	16 souches, soit	17,97 %
Staphylococcus	1 souche, soit	1,12 %
Levures	1 souche, soit	1,12 %

Le nombre de souches appartenant au genre Flavobacterium est très élevé dans cette partie du gouffre et le pourcentage Bacillus - Flavobacterium représente 78 % de la totalité.

- GOUFFRE DE LA PIERRE SAINT-MARTIN - Réseau d'Arphidia.

92 souches ont été isolées dont 90 identifiées et 2 non identifiées.

Bacillus	44 souches, soit	47,82 %
Micrococcus	25 souches, soit	27,17 %
Flavobacterium	16 souches, soit	17,39 %
Staphylococcus	4 souches, soit	4,34 %
Levures	1 souche, soit	1,00 %

Le pourcentage Bacillus - Micrococcus reste le plus élevé avec 70,73 % de la totalité, mais le nombre de Flavobacterium reste important.

De même, le pourcentage de Staphylococcus avec 4 souches représentant un pourcentage de 4,34 % est étonnamment élevé pour une zone où presque tous les prélèvements ont été effectués en milieu vierge.

- ARRIKRUTZ - 59 souches ont été isolées dont 57 identifiées et 2 non identifiées.

Bacillus	23 souches, soit 38,98 %
Micrococcus	17 souches, soit 28,80 %
Flavobacterium	17 souches, soit 28,80 %

La proportion de Bacillus est faible, probablement en relation avec le nombre important de Flavobacterium, constant pour les grottes de cette partie des Pyrénées et qui, avec 17 souches, représentent autant que les micrococci, soit 28,80 % des germes identifiés.

Il existe donc un pourcentage de Bacillus le plus élevé pour les 3 cavernes du Sud-Ouest (ORLIAC, MORTUREUX, FOND D'ANGUILLE, -Dordogne-) dont le chiffre est de 65,33 % des germes qui ont été identifiés. Il est, par contre, le plus faible dans la Grotte JACQUELINE (Seine-Maritime) avec seulement 21,21 %. Pour toutes les autres grottes étudiées, les chiffres se situent entre 51 % et 35 %, la valeur moyenne étant 44,28 %.

Le nombre des micrococci est le plus élevé dans la Grotte JACQUELINE avec 13 souches, soit 39,39 % des germes identifiés. Il est le plus faible dans le réseau principal du Gouffre de la Pierre Saint-Martin, 16 souches identifiées, soit 17,97 % des germes. Pour toutes les autres cavernes étudiées, sauf la Grotte du REY où le très faible nombre de souches isolées ne permet pas de conclure, le pourcentage de micrococci se situe entre 21,56 % et 30,77 %, soit une valeur moyenne de 27,22 %.

La proportion des Flavobacterium est particulièrement élevée pour les 3 cavités de la zone pyrénéenne où l'on trouve :

- 22 souches à la Pierre Saint-Martin, soit 24,70 %

Commune	Souches isolées	Non identifiées	Bacillus	Micobacillus	Streptococcus	Levures	Bacillus	Micrococcus	Flavobactéries	Staphylococcus	Pourcentage LEVURES	Tem°	Type	HYG.	VENTIL.	FREQUEN.
VERVÈRES	51	1	35	11	2	1	68,62%	21,56%	3,92%	—	2%	12°	Symbiotique	+	+	5
ARTUREUX	57	1	37	16	3	—	64,84%	28,07%	5,96%	—	—	12°	Symbiotique	++	++	5
Fond GUILLERE	24	—	15	6	3	—	62,50%	25%	12,5%	—	—	12°	Symbiotique	0	0	5
Aven RGNAC	39	—	20	12	5	2	51,28%	30,76%	12,84%	5,12%	—	12°-6	Symbiotique	+	+	2
REY	7	—	3	3	1	—	42,85%	42,85%	14,88%	—	—	13° à 15°	Symbiotique	+	+	10
Mont HAPELLE	33	4	14	10	1	2	42,42%	30,33%	3,03%	6,06%	6,06%	14°	Symbiotique	+	+	4
LÔNE	23	1	9	6	2	1	39,13%	26,05%	8,70%	17,39%	4,35%	10° à 11°	Symbiotique	+	+	8
QUELINE	33	1	7	13	2	4	21,21%	39,39%	6,06%	18,18%	12,12%	8°-2 à 11°-5	Symbiotique	++	++	10
ERRE MARTIN	89	7	42	16	22	1	47,19%	17,97%	24,90%	1,12%	1,12%	4° à 5°	Symbiotique	+++	+++	1
PHIDIA	92	2	44	25	16	1	47,82%	27,17%	17,39%	4,34%	1,08%	4° à 5°	Symbiotique	+++	+++	0
IKRUTZ	59	2	23	17	1	—	38,98%	28,80%	28,80%	—	—	12° à 14°	Symbiotique	++	++	2
TOI	506	19	249	135	74	19	49,03%	26,51%	16,69%	3,21%	—	—	—	—	—	—

- 16 souches dans Arphidia, soit 17,39 %
- 17 souches dans Arrikrutz, soit 28,80 %

Leur fréquence se situe entre 3,92 % et 12,84 % pour les autres cavernes (REY exclue).

Le chiffre des Staphylococci, très irrégulier, semble lié au taux de fréquentation de la caverne. Seul Arphidia, avec 4 souches représentant 4,34 % des germes identifiés dans ce gouffre, fait exception.

B/Selon les variétés -

Les 506 souches isolées sont encore insuffisantes pour permettre de tirer une conclusion définitive sur les variétés de Bacillus, Micrococcus et Flavobacterium constituant la microflore de l'air souterrain. Nous ne pouvons actuellement que donner des chiffres indicatifs et certains pourcentages qui devront être confirmés par des recherches ultérieures.

I) Les Bacillus.

Dans ce genre, 5 variétés se rencontrent fréquemment et occupent une place importante. Il s'agit de :

Bacillus Sphaericus	107 souches
Bacillus Pumilus	21 souches
Bacillus Licheniformis	19 souches
Bacillus Cereus	17 souches
Bacillus Circulans	15 souches

Le reste étant figuré par 13 variétés différentes dans les proportions de 0,40 % à 3,16 %. Ce sont :

Bacillus Laterosporus	6 souches
Bacillus Pulvificiens	5 souches
Bacillus Firmus	4 souches

Bacillus Lontus	3 souches
Bacillus Brovis	3 souches
Bacillus Polymyxa	2 souches
Bacillus Alvei	2 souches
Bacillus Macerans	1 souche
Bacillus Stearothermophilus...	1 souche

- Grotte par grotte - Nous ne reprendrons pas ici l'énoncé de toutes les variétés de Bacillus identifiés, mais uniquement les valeurs et pourcentages de celles les plus souvent trouvées.

- ORLIAC -

B. Sphaericus	21 souches	} 82,8 %
B. Circulans	4 souches	
B. Badius	}	
B. Coagulans		

soit 56,86 % de la totalité des germes de cette caverne.

- MORTUREUX -

B. Sphaericus	18 souches	} 66,66 %
B. Megaterium	3 souches	
B. Coagulans	3 souches	

soit 42,75 % de la totalité des germes de cette caverne.

- FOND D'ANGUILLERE -

B. Sphaericus	8 souches	} 93,32 %
B. Licheniformis	2 souches	
B. Pumilus	2 souches	
B. Circulans	2 souches	

soit 58,33 % de la totalité des germes de cette caverne.

- ORGNAC -

B. Sphaericus	12 souches	}	70 %
B. Licheniformis	2 souches		

soit 35,89 % de la totalité des germes de cette caverne.

- REY -

B. Licheniformis	1 souche
B. Pumilus	1 souche
B. Pulvifaciens	1 souche

Nombre de souches isolées trop faible pour permettre une étude valable (déjà signalé).

- MONT LA CHAPELLE -

B. Sphaericus	5 souches	}	71,41 %
B. Licheniformis	3 souches		
B. Pumilus	2 souches		

soit 33,4 % de la totalité des germes de cette caverne.

- PYLONE -

B. Sphaericus	5 souches	}	77,9 %
B. Licheniformis	2 souches		

soit 30,43 % de la totalité des germes de cette caverne.

- JACQUELINE -

B. Sphaericus	3 souches
---------------------	-----------

- PIERRE SAINT-MARTIN - Réseau principal -

B. Pumilus	13 souches	}	64,28 %
B. Cercus	9 souches		
B. Sphaericus	5 souches		

Ces 3 variétés de Bacillus représentent 30,34 % de la totalité des germes de cette caverne.

- PIERRE SAINT-MARTIN - Arphidia -

B. Sphaericus	22 souches	}	63,63 %
B. Circulans	6 souches		

Ces 2 variétés représentent 30,43 % de la totalité des germes de cette caverne.

- ARRIKRUTZ -

B. Sphaericus	8 souches	}	73,90 %
B. Cerens	5 souches		
B. Latérosporus	4 souches		

soit 28,81 % de la totalité des germes de cette caverne.

Aucun Bacillus pathogène n'a été identifié.

Ainsi le genre Bacillus prédomine dans la microflore de l'air souterrain. 5 variétés sont fréquemment retrouvées, les autres n'étant présentes qu'en petit nombre de façon variable selon les cavernes.

2) Les variétés des Micrococci.

Après le genre Bacillus, on rencontre le plus souvent le genre Micrococcus. Comme pour le genre précédent, nous donnons la liste complète des espèces de micrococcus identifiées et leur nombre sur la totalité des

prélèvements. Pour chaque caverne, nous ne citerons que les variétés les plus fréquemment rencontrées.

Totalité des prélèvements : 506 souches - 135 micrococci -

M. Flavus	40 souches
M. Conglomeratus	22 souches
M. Roseus	17 souches
M. Denitrificans	12 souches
M. Caseolyticus	10 souches
M. Colpogenes	9 souches
M. Cryophilus	9 souches
M. Candidus	6 souches
M. Varians	4 souches
M. luteus	2 souches
M. Halodenitrificans	2 souches
M. Ureae	2 souches

Ainsi l'espèce *Micrococcus Flavus* est la plus souvent présente dans l'air des cavernes. D'autres espèces se retrouvent assez fréquemment, c'est le cas pour *Conglomeratus* et *Roseus*. Ensembles, ces 3 variétés représentent 58,44 % des *Micrococci* rencontrés.

- Grotte par grotte -

- ORLIAC -

M. Flavus	5 souches
M. Colpogenes	2 souches

Ces 2 variétés représentent 13,72 % de la totalité des germes de cette caverne.

- MORTUREUX -

M. Flavus	3 souches
M. Varians	3 souches
M. Conglomeratus	3 souches
M. Denitrificans	2 souches

Ces variétés représentent 19,3 % de la totalité des germes de cette caverne.

- FOND D'ANGUILLERE -

M. Conglomeratus	2 souches
M. Rosens, Denitrificans, Flavus, Colpogenes	1 souche

Le faible nombre de souches recueillies et la dispersion des variétés ne permettent pas d'accorder une réelle valeur aux résultats trouvés.

- ORGNAC -

M. Conglomeratus	3 souches
M. Flavus	2 souches
M. Denitrificans	2 souches

Ces 3 variétés représentent 17,94 % de la totalité des germes de cet aven.

- REY -

Nombre de souches recueillies trop faible pour en permettre l'étude.

M. Denitrificans, Flavus, Caseolyticus	1 souche
--	----------

- MONT LA CHAPELLE -

M. Flavus	3 souches
M. Roseus	2 souches
M. Cryophilus	2 souches

Ces 3 variétés représentant 21,2 % de la totalité des germes trouvés dans cette grotte.

- PYLONE -

M. Flavus	3 souches
M. Conglomeratus	2 souches

Ces 2 variétés représentant 21,73 % de l'ensemble des germes de cette cavité.

- JACQUELINE -

M. Flavus	5 souches
M. Cryophilus	3 souches
M. Roseus	2 souches

Ces 3 variétés représentant 30,4 % de la totalité des germes recueillis dans cette grotte.

- PIERRE SAINT-MARTIN - Réseau principal -

M. Roseus	4 souches
M. Caseolyticus	4 souches
M. Flavus	3 souches

Ces 3 variétés représentant 12,35 % de la totalité des germes recueillis dans ce gouffre.

- PIERRE SAINT-MARTIN - Arphidia -

M. Flavus	10 souches
M. Conglomeratus	3 souches

Ces 2 variétés représentent 14,13 % de la totalité des germes recueillis dans ce gouffre.

- ARRIKRUTZ -

M. Conglomeratus	5 souches
M. Flavus	4 souches
M. Roscus	3 souches

Ces 3 variétés représentent 20,33 % de la totalité des germes recueillis dans cette caverne.

3) Espèces de Flavobacterium rencontrées.

Les Flavobactéries sont difficiles à identifier. Leur morphologie et leur coloration de grain varient selon les valeurs nutritives d'une même gélose. Leur nombre est très variable selon les cavités. Relativement important pour les 3 cavernes de la zone pyrénéenne, il est nul pour les cavités du Sud-Ouest, et faible pour les autres grottes. Une espèce prédomine sur les autres, Flavobacterium Lactis qui est représenté par 16 souches, soit 21,62 % de l'ensemble des Flavobacterium, dont la diversité est comparable à celle des Micrococci.

Totalité des prélèvements : 506 souches - 74 Flavobacterium -

Fl. Lactis	16 souches
Fl. Balustinum	9 souches
Fl. Fucatum	7 souches
Fl. Lutescens	6 souches
Fl. Ferrugineum	5 souches
Fl. Dormitator	5 souches

Fl. Aquatile	4 souches
Fl. Pérégrinum	4 souches
Fl. O eanokoites	3 souches
Fl. Dévorans	3 souches
Fl. Marinotypicum	2 souches
Fl. Marinovisurum	2 souches
Fl. Arborescens	2 souches
Fl. Invisible	1 souche
Fl. Breve	1 souche
Fl. Halohydrium	1 souche

L'ensemble des Flavobacterium représente 14,62 % de la totalité des germes recueillis dans les II cavernes, ce qui est nettement supérieur aux résultats constatés pour l'air extérieur.

Dans les 4 cavités où leur nombre est suffisant pour permettre une répartition on obtient les résultats suivants :

- ORNIAC -

Fl. Peregrinum	2 souches
Fl. Aquatile	1 souche
Fl. Dormitator	1 souche
Fl. Lactis	1 souche

- PIERRE SAINT-MARTIN - Réseau principal -

Fl. Balustinum	5 souches
Fl. Lactis	4 souches
Fl. Ferrugineum	3 souches
Fl. Fucatum	3 souches

Soit 16,86 % de l'ensemble des germes de cette caverne pour ces 4 variétés.

- PIERRE SAINT-MARTIN - Arphidia -

Fl. Lactis	4 souches
Fl. Lutescens	3 souches

Ces 2 variétés représentent 7,60 % de l'ensemble des germes de la caverne.

- ARRIKRUTZ -

Fl. Lactis	5 souches
Fl. Lutescens	3 souches
Fl. Dormitator	2 souches

4) Autres germes.

Les autres germes ne sont représentés que par les Staphylococcus, les Levures et une souche de Sarcina.

Parmi les Staphylococcus, une seule variété est représentée, il s'agit de Staphylococcus Epidermidis. Les Levures n'ont pas fait l'objet d'identification.

Enfin 19 souches, représentant 3,76 % de l'ensemble, n'ont pu encore être identifiées. Elles se répartissent ainsi :

- ORLIAC	I souche
- MORTUREUX	I souche
- MONT-LA-CHAPELLE	4 souches
- PYLONE	I souche
- JACQUELINE	I souche
- PIERRE-SAINT-MARTIN	7 souches
- ARPHIDIA	2 souches
- ARRIKRUTZ	2 souches

VIII - COMPOSITION DE LA FLORE BACTERIENNE

DE L'AIR DES CAVERNES

- Composition et comparaison avec les résultats trouvés pour l'air extérieur -

Une microflore existe dans l'air souterrain où l'ensemencement des boîtes de PÉTRI a été très abondant. Trois espèces constituent une flore de base constante, au sein de laquelle les proportions relatives de chacune des espèces apparaît être fonction de la situation géographique. 4 zones se détachent particulièrement de notre étude :

- une zone Sud-Ouest Atlantique de faible altitude (ORLIAC - MORTUREUX - FOND D'ANGUILLERE).
- une zone Centre - Sud Est, éloignée de la mer d'altitude faible (ORGNAC - MONT LA CHAPELLE).
- une zone Nord-Ouest au niveau de la mer (JACQUELINE - PYLONE).
- une zone pyrénéenne Atlantique d'altitude élevée (PIERRE SAINT-MARTIN, ARPHÉDIA - ARRIKRUTZ).

Pour chacune de ces zones, la composition moyenne de la flore bactérienne de l'air souterrain peut s'établir approximativement ainsi :

A/ La zone Sud-Ouest - se caractérise par l'importance quantitative des Bacillus qui totalisent 65,32 % de la totalité des germes de l'air des cavités de cette région.

Puis viennent les Micrococci avec 24,67 % et enfin les Flavobacterium 7,22 %.

Les levures ne représentent que 0,67 %.

L'ensemble Bacillus - Micrococci constituant 90,19 % de la composition bactérienne de l'air souterrain de cette région.

B/ La zone Centre - Sud-Est -

L'importance des Bacillus y est moindre puisqu'ils ne représentent que 46,85 % du peuplement bactérien de l'air de ces cavernes.

Les Micrococceae y sont abondants, 30,95 % pour les Micrococci et 5,59 % pour les Staphylococci, soit 36,14 % pour les germes de cette famille.

Le nombre des Flavobacterium et levures est trop différent dans chacune des cavernes pour donner des conclusions valables. Signalons toutefois qu'on obtient 7,93 % pour les Flavobacteries et 3,03 % pour les levures.

C/ La zone Nord - Ouest, où le nombre de Bacillus est particulièrement faible puisqu'il ne représente que 30,17 % de la microflore et les Micrococceae sont quantitativement très importants avec 32,74 % pour les Micrococci et 12,88 % pour les Staphylococci, cette famille réunit 45,52 % de l'ensemble des bactéries de l'air de ces cavernes. Les Flavobactéries 7,58 % et les levures 8,23 % constituent le reste du peuplement.

La fréquentation importante de ces deux cavernes est peut-être responsable de l'inversion en faveur des cocci, qui se fait au dépend des Bacillus puisque le pourcentage des Flavobactéries reste comparable à celui des autres cavernes dont il apparaît d'ailleurs comme une constante.

D/ La zone pyrénéenne Atlantique -

Les Bacillus prédominent avec 44,7 % de l'ensemble du peuplement. Puis viennent les Micrococci 24,65 % et les Flavobacterium 23,63 % dont le nombre est particulièrement élevé dans les 3 cavités de cette région. Ici

encore l'élévation des Flavobactéries se fait au dépend des Bacillus, le pourcentage des cocci restant stable.

Par conséquent, Bacillus, Micrococcus et Flavobacterium constituent une microflore de base de l'air des cavernes, constamment retrouvée, auxquels viennent s'ajouter les Staphylococci et une faible quantité d'autres espèces non encore identifiées. Rappelons que ni les levures, ni les champignons ne faisaient partie de notre étude. La contamination d'origine humaine récente est probable pour les Staphylococci dont le nombre est approximativement fonction de la fréquentation des grottes, excepté pour ARPHIDIA.

Les pourcentages relatifs des 3 espèces fondamentales et la répartition des variétés au sein d'une même espèce varient parfois de façon notoire suivant la situation géographique des cavernes. Il existe peut-être une parenté avec la microflore des sols superficiels. Les nombreux facteurs climatiques, géologiques et physico-chimiques que nous avons signalés conditionnent très probablement aussi la répartition des différentes espèces au sein de la flore de base. Nos mesures des paramètres climatiques sont toutefois encore trop imprécises et ne permettent pas de tirer des conclusions qui seront l'objet d'une prochaine étape.

Comparativement au peuplement de l'air de surface mis en évidence par le Professeur MAISONNET (31 - 31 A) qui trouve :

- 61 à 68 % de Bacillus (64,70 %)
- 22 à 30 % de Micrococcus et Staphylococcus (25,70 %)
- 3 à 10 % de Sarcina (6,72 %)
- 1 à 2 % de Flavobactéries (2,31 %)
- et 1 % de germes divers,

on constate une similitude étroite pour les deux populations.

En effet, les Bacillus prédominent dans 3 zones sur 4 - seules les cavernes de la région Nord-Ouest présentent une population de micrococceae supérieure à celle des Bacillus, probablement en relation avec une pollution due aux visites répétées.

Mais leur importance est souvent moindre que dans l'air extérieur, sauf pour les 5 cavités de la région Sud-Ouest, dont la microflore atmosphérique se rapproche le plus de celle de l'air extérieur.

La proportion de Micrococcus, constante entre 24 et 35 %, excepté pour la région Nord - Ouest, s'apparente très nettement à celle de l'air de surface.

Enfin, les Flavobacterium, et cela est assez surprenant, occupent une place importante dans la microflore de l'air de cavernes, surtout pour celles situées dans la zone pyrénéenne. Une seule souche de Sarcina a été recueillie, ce qui est négligeable en regard des 6,72 % de l'air libre.

A l'intérieur des espèces Bacillus, Micrococcus et Flavobacterium, certaines variétés se rencontrent avec une fréquence particulièrement élevée. Bacillus Sphaericus, Pumilus, Lichéniformis, Cereus et Circulans pour les Bacillus dont ils représentent 71,49 %.

Les Micrococci présentent une diversité plus importante mais 3 variétés prédominent :

- Micrococcus Flavus
- Micrococcus Conglomeratus
- Micrococcus Roseus,

les 5 réunis constituant 58,44 % de la population des Micrococci.

Chez les Flavobacterium la diversité est aussi très élevée.

Les variations des pourcentages relatifs des 3 espèces de base, inhabituelle dans l'atmosphère libre sont probablement en rapport avec la climatologie particulière de chaque caverne et la nature biochimique des particules supports. Celles-ci sont de nature diverse comme nous l'avons montré. Elles se forment le plus souvent à partir des eaux d'infiltration qui transportent depuis la surface des matières organiques, acheminent par les fissures des composés organo-calciques élaborés par les micro-organismes des couches pédologiques (CAUMARTIN 10) et mettent en solution un grand nombre de substances utilisables. Ces matériaux entrent donc dans la composition des particules des aérosols dont on a noté l'importance et la permanence dans le milieu aérien souterrain. La durée de vie, ou peut-être de survie, des bactéries dans cet aérosol en suspension dans l'atmosphère de la caverne doit être plus ou moins longue suivant les souches et leur aptitude à utiliser les substrats présents, ions, noyaux de condensation et poussières, constituant en quelque sorte un milieu de culture dispersé dans une phase dispersante qui est l'air. La détermination de l'âge des échantillons bactériens dans l'aérosol donnerait des précisions intéressantes sur leur origine. Certaines souches se développent probablement de façon habituelle dans l'air des cavernes, une fraction d'entre elles possède sûrement un matériel enzymatique spécifique, différent de celui de leurs homologues de surface. La poursuite de l'étude des souches devrait permettre de confirmer cette hypothèse et mettre en évidence de véritables espèces cavernicoles. Il est probable que certains germes, les Flavobactéries par exemple, ne s'y trouvent qu'en transit, accidentellement véhiculés par les courants d'air. L'atmosphère de la grotte, riche en particules supports, retient sans doute un grand nombre d'entre eux, l'accumulation qui en résulte pourrait expliquer leur pourcentage parfois anormalement élevé.

Aucun germe pathogène n'a été mis en évidence, les Staphylococci épidermidis étant généralement considérés comme Saprophytes banaux non susceptibles de virulence chez l'homme. De plus, leur provenance semble très directement liée à une contamination récente par les visiteurs nombreux des cavernes où ils ont été trouvés.

La flore saprophyte de base représente ainsi le peuplement bactérien essentiel de l'atmosphère souterraine. La flore accidentelle, rare, réduite dans nos résultats à quelques échantillons de Staphylococci épidermidis y est inhabituelle.

Les gouffres, cavernes et l'ensemble des fissures des massifs calcaires représentent néanmoins un volumineux réservoir de germes, capable d'en déverser une importante quantité dans l'air extérieur selon les conditions météorologiques. Il est possible que certaines épidémies, ou certaines allergies microbiennes, soient en rapport avec l'extériorisation de ces micro-organismes dont les potentialités antigéniques ont pu en outre se modifier au cours de leur séjour souterrain. Le Professeur LEPINE (52) a relaté des cas de rage transmis par voie respiratoire chez des entomologues Sud-Américains fréquentant des grottes à chauves-souris. La seule explication est l'existence précisément dans ces grottes d'un aérosol contaminé par la salive des cheiroptères. Dans les régions tropicales, l'air des cavernes sert de réservoir à un parasite "histoplasma capsulatum" agent de l'histoplasmosé dont l'une des plus célèbres victimes a peut-être été Lord CARNAVON, contaminé en 1923, lors de l'exploration du Tombeau de Toutankamon. Nous n'avons, pour notre part, jamais constaté de maladie à caractère infectieux survenue à la suite d'un séjour en caverne et P. SAUMANDE (53), étudiant les réactions d'un petit groupe humain au cours de séjours prolongés dans ce milieu, ne rend compte d'aucun cas pathologique.

o

o

o

CONCLUSION

L'identification des germes recueillis met en évidence une flore saprophyte de base constante. Nous avons été surpris du faible nombre d'espèces rencontrées et du pourcentage relativement élevé des Flavobactéries, en particulier dans les cavernes des Pyrénées Occidentales. Rappelons toutefois que les milieux utilisés ne permettent pas la culture de tous les germes et que nous avons exclu de notre étude les micro-organismes en provenance du sol.

Une flore accidentelle extrêmement pauvre, a été trouvée presque uniquement dans les grottes à forte fréquentation.

Cette flore saprophyte de base, ainsi mise en évidence dans l'air souterrain, se situe dans le cadre plus général des germes de l'air libre tels que les a défini le professeur MALSONTEP. Les quelques différences constatées quant au pourcentage relatif des espèces rencontrées sont probablement liées aux facteurs climatiques propres à chaque caverne. Nous pouvons espérer déterminer leurs influences respectives, et une étude en ce sens est déjà commencée.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - DUDICH (E) - 1930 - Die Nahrungsquellen der Tierwelt in der aggteleker Tropsteinhöhle (Allat.Kôzlon 27 - 77 - 85)
1935 - Die Klassifikation der Höhlen auf biologischer Grundlage (Mitt. höhlen-u-Karstforsch.)

- 2 - CAUBERFON (V) - 1957 - La microflore des cavernes - Notes biospéléologiques - XII - 59-64
1959 - Quelques aspects nouveaux de la microflore des cavernes (ann. de spéléologie, XIV - 147-157)
1964 - Le comportement des moisissures dans le milieu souterrain (C.R. III - Congr. international de spéléo. Wien 1961 - 3 - 41 - 44)

- 3 - GOUNOT (A.M.) - 1967 - Microflore des linons souterrains (Ann. de spéléo. T. XIII - I, I - 118)

- 4 - PRAT (S) - 1925 - Das Aëroplancton neu geöffneter höhlen - zbl. Bakt - 64, 39-40

- 5 - LIDDO (S) - 1951 - Ricerca batteriologiche nell'aria delle grotte de Castellana (Contributo allo studio della microflore cavernicola) - Bull. Soc. Ital. Biol. Spor. 17, 3, 496-498 -

- 6 - MASON-WILLIAM (A) - BENSON-EVANS (K) - 1958 - A preliminary investigation into the bacterial and botanical flora of caves in South Wales (Cave. Res. Group. Great brit. Publ. n° 8)

- 7 - MOLNAR (M) - 1961 - Beiträge zur Kenntnis der Mikrobiologie der Aggteleker Tropsteinhöhle "Baradla" (Ann. Univ. Sci. Budapest Biol. 4, 131-139)
- 8 - CAUMARTIN (V) - 1964 - Biospéléologie et conservation des grottes application au cas particulier de Lascaux (Spelunca 3 - 1964 - 5 - 15)
- 9 - JEANNEL - (R) - Les fossiles vivants des cavernes - Gallimard Ed. Paris 1943 -
- 10 - CAUMARTIN (V) - 1964 - Les corrosions de cavernes (Spelunca 4 - 1964 - 5 - 12)
- 11 - POCHON (J) - COPPIER (O) - 1950 - Rôle des bactéries sulfato réductrices dans l'altération biologique des pierres des monuments - C.R. Acad. des Sciences - Paris T. 231 p. 1584-1585 -
- 12 - Déjà cité - Référence 10
- 13 - Déjà cité - référence 8
- 14 - SAIA (R) - Rev. Spelunca n° 2 - 1967 -
- 15 - BOROMOSOV - Bases physiologiques des normes d'hygiène applicables au logement - Cahiers de Santé Publique n° 33 OMS - 1968 -
- 16 - ANDRIEUX (C) - Météo-climatologie souterraine - Ann. de Spéléo T XX - 3 - 1965 -
- 17 - DUPLÉSY (J. G.) - Etude isotopique du concrétionnement de l'Avon Ornac - Application à la paléo-climatologie de la région Sud-Ardéchoise - (Thèse Fac. Sciences - Paris - 1967 -)

- 18 - VAIDEL (A) - Biospéléologie - Biologie des animaux cavernicoles
(Gauthier - Villars - Paris)
- 19 - CABIDOCHÉ (M) - CR. Acad. des Sciences
- 20 - déjà cité - référence 16
- 21 - TROMBE (F) - Traité de spéléologie (Bibl. PAYOT - Paris)
- 22 - cité par TROMBE - Traité de spéléologie
- 24 - ANDRIEUX (C) - déjà cité - référence 16
- 25 - TROMBE (F) - déjà cité - référence 21
- 26 - JEANNEL (R) - déjà cité - référence 9
- 27 - CAUMARTIN - (V) - déjà cité - référence 8
- 28 - BLANC (J.J.) - Remplissages argileux dans les grottes de Baudinard
(Ann. de Spéléo T. IV - 2 -)
- 29 - MAISONNET (M) - 1956 - Contribution à l'étude des germes de l'air -
Un nouvel appareil permettant l'étude de la
pollution atmosphérique et l'analyse bactériolo-
gique de l'eau -
- 30 - MAISONNET (M) - idem
- 31 - MAISONNET (M) - La flore microbienne de l'air marin. Etude biologique
et climatique (Rev. d'hyg. et de méd. sociale - T 9 -
n° 3 - 1961 -)
- 31 A - MAISONNET (M) - Etude bactériologique de l'air de la forêt sub. tro-
picale et de la savane. Déduction épidémiologiques
(Rev. d'hyg. et de méd. sociale - T 7 - n° 2 -1959-)

32 - Gazette médicale de France - 5 mars 1968 -

33 - SAUMANDE (P) - ANGIOUST - GALBAN - Etude des réactions physiologiques
et du comportement d'un petit groupe humain isolé dans un
milieu d'exception -

Pierre Saint-Martin et Gouffre de la Mude - 1965-66 -
Convention D.R.M.E. n° 374/65.