



Schimmelpilze in Höhlen – Versuche mit direkter Probenahme und Luftkeimproben

Moisissures dans les grottes - Essais de prélèvement direct et de germes dans l'air

Konstantin von Gunten, AGN

Traduction: Michel Blant

Einleitung

Die Pilzwelt der Höhlen

Die Biospeläologie beschäftigt immer wie mehr Höhlenforscher. Wegen der erschwerten Zugänglichkeiten und der lichtlimitierten Bedingungen sind noch zahlreiche Höhlen-Lebewesen schlecht erforscht. Dabei sind Höhlensysteme sehr anfällig, z.B. auf menschliche Einflüsse. So können Besucher über Kleider und Nahrungsmittel neue Organismen in die Höhle einbringen. Belichtungen und das Hinterlassen von organischer Materie können lokal neue Gesellschaften entstehen lassen.

Höhlen beherbergen auch zahlreiche Pilzarten. Einige davon können bereits vom blossen Auge erkannt werden. Manch einem Höhlenbesucher fallen die behaarten Auswüchse auf toten Insekten und fallengelassenen Essensresten auf. Dennoch erhalten diese Pilze wenig Beachtung oder erst dann, wenn sie einem unglücklichen Höhlenforscher zum Verhängnis werden, aber dazu später mehr.

Solche Schimmelpilze sind oft die ersten Zersetzer (Destruenten) organischer Materie, da höhere Organismen fehlen, oder nicht schnell genug an das Material gelangen können. Dennoch ist auch ihre Ausbreitung sehr limitiert, wegen der oft fehlenden Luftbewegungen und biologischen Überträger. Hier können dann ersatzweise Fledermäuse und/oder Menschen als Träger von Pilzsporen fungieren (Borzęcka et al., 2021). In den Mogao-Grotten in China wurde ein Zusammenhang zwischen der Anzahl Besuchern und der Anzahl der Sporen in der Höhlenluft gefunden (Wang et al. 2010), was den menschlichen Einfluss deutlich aufzeigt. In einem Extremfall konnte eine durch Erbrechen menschlicher Nahrung ausgelöste Ansammlung organischer Materie und deren Verschleppung durch andere Besucher eine regelrechte „Pilzinvasion“ in der spanischen Castañar-Höhle auslösen (Martin-Pozas et al., 2022).

Introduction

Le monde des champignons dans les grottes

La biospéléologie occupe de plus en plus de spéléologues. En raison des difficultés d'accès et des conditions de lumière limitées, de nombreux organismes vivant dans les grottes sont encore mal étudiés. Les systèmes souterrains sont pourtant très vulnérables, par exemple aux influences humaines. Ainsi, les visiteurs peuvent introduire de nouveaux organismes dans la grotte par le biais de vêtements et de nourriture. L'exposition à la lumière et l'abandon de matière organique peuvent faire naître localement de nouvelles associations microbiennes.

Les grottes abritent également de nombreuses espèces de champignons. Certains d'entre eux sont reconnaissables à l'œil nu. Certains spéléologues remarquent les excroissances poilues sur les insectes morts et les restes de nourriture. Pourtant, ces champignons ne retiennent guère l'attention, ou alors seulement lorsqu'ils sont fatals à un spéléologue malchanceux, mais nous y reviendrons plus tard.

Ces moisissures sont souvent les premiers décomposeurs (destructeurs) de la matière organique, car les organismes supérieurs sont absents ou ne peuvent pas accéder assez rapidement à la matière. Néanmoins, leur propagation est également très limitée en raison de l'absence fréquente de mouvements d'air et de vecteurs biologiques. Dans ce cas, les chauves-souris et/ou les hommes peuvent servir de porteurs de spores fongiques (Borzęcka et al., 2021). Dans les grottes de Mogao en Chine, une corrélation a été établie entre le nombre de visiteurs et le nombre de spores dans l'air de la grotte (Wang et al. 2010), ce qui démontre clairement l'influence humaine. Dans un cas extrême, une accumulation de matière organique provoquée par le vomissement de nourriture humaine et son transport par d'autres visiteurs a pu déclencher une véritable "invasion fongique" dans la grotte espagnole de Castañar (Martin-Pozas et al., 2022).

Selon une étude de Vanderwolf et al. (2013), plus d'un millier d'espèces

Schimmelpilze (Tropfen) an einem alten Deckenbalken im Bergwerk Riedhof (ZH).

Moisissures (gouttes) sur une vieille poutre de plafond dans la mine de Riedhof (ZH).

Photo: M. Widmer

Gemäss einer Übersichtsstudie von Vanderwolf et al. (2013) sind über Tausend Pilzarten in Höhlen anzutreffen (leider flossen keine Daten aus der Schweiz in diese Studie, da es bei uns wenige Publikationen zu diesem Thema gibt). Von den in dieser Übersichtsstudie beschriebenen Pilzen gehören mehr als die Hälfte zu den Schlauchpilzen (Ascomycota).

Einige Pilze haben indirekt einen hohen Bekanntheitsgrad erreicht, so z.B. *Pseudogymnoascus destructans* (siehe z.B. Hoyt et al., 2021), ein aus Europa stammender Pilz, welcher um 2006 über Höhlenbesucher den Sprung nach Nordamerika schaffte und dort nun lokale Fledermauspopulationen durch das «white-nose syndrome» bedroht. Der vermutlich aus Afrika stammende Chytridpilz (*Batrachochytrium dendrobatidis*) kann bei diversen Amphibienarten die sogenannte Chytridiomykose auslösen und wurde im Jahr 2007 erstmals auf verendeten Tieren in der Schweiz nachgewiesen. Eine Ausbreitung dieses Pilzes hatte wohl bereits früher stattgefunden und durch genetische Veränderungen hat der Pilz nun ein Potential erreicht, das zu Massensterben von Amphibien führen könnte (info fauna, 2024). Von seinem ebenfalls bekannten Verwandten, *Batrachochytrium salamandrivorans*, blieb die Schweiz bisher verschont. Dieser befällt Schwanzlurche und führt bei ihnen zu bis zu 100% Mortalitätsrate. Der Mensch wird als sein Hauptverbreiter angesehen (BLV, 2023). Für den Menschen ist wohl *Histoplasma capsulatum* die bisher relevanteste Art. Dieser Pilz lebt im Guano von Fledermäusen und kann bei Menschen schwere Lungenerkrankungen auslösen (Robert Koch-Institut, 2024).

Für die Untersuchung der Pilzwelt in Schweizer Höhlen besteht noch ein grosses wissenschaftliches Potenzial, doch ihre Erforschung ist nicht einfach. Für die Untersuchung von Pilzen, bzw. Schimmelpilzen, sind Kombinationen aus klassischen Kultivierungstechniken mit molekulargenetischen Analysen notwendig, um die Pilze genügend genau (bis auf die Art) zu bestimmen (z.B. nach Suetrong et al., 2023). In diesen Untersuchungen wurde versucht, mittels lichtmikroskopischen Verfahren die Schimmelpilze aus Höhlen zu bestimmen und auch zu quantifizieren. Dieser Bericht soll einen Ansatz für die Pilzforschung in Höhlen der Schweiz und die dabei auftretenden Schwierigkeiten beschreiben.

Untersuchte Höhlen

Für die Untersuchungen wurden vier Schweizer Höhlen berücksichtigt (siehe Tabelle 1). Die Neuenburgerhöhle war die erste und die am höchsten gelegenste der untersuchten Höhlen. Gemäss einer Besucherstatistik von Beat Heeb (AGH), die mithilfe von Lichtsensoren gemacht wird, wird die Neuenburgerhöhle im jährlichen Durchschnitt (2002-2024) von 76 Personen besucht.

Beim Nidlenloch wird mithilfe der Schlüsselausgabe und des Anmeldeformulars die Zahl der Besucher dokumentiert. So kann nicht nur die Anzahl der Besucher sondern auch ihre geplante Route nachvollzogen werden. Im Jahr 2001 besuchten über 5'000 Personen das Nidlenloch, im Jahr 2024 noch knapp über 1'400 (vgl. Abb. 1). Eine

de champignons sont présentes dans les grottes (malheureusement, aucune donnée suisse n'a été incluse dans cette étude, car il existe peu de publications sur ce sujet chez nous). Plus de la moitié d'entre elles appartiennent à la famille des champignons supérieurs, à mycélium cloisonné (Ascomycota).

Certains champignons ont atteint indirectement un degré de notoriété élevé, comme le *Pseudogymnoascus destructans* (voir par exemple Hoyt et al., 2021), un champignon originaire d'Europe qui a réussi à s'introduire en Amérique du Nord vers 2006 par le biais de visiteurs de grottes et qui y menace désormais les populations locales de chauves-souris par le "syndrome du nez blanc". Le champignon chytride (*Batrachochytrium dendrobatidis*), probablement originaire d'Afrique, peut déclencher la chytridiomycose chez diverses espèces d'amphibiens et a été détecté pour la première fois en 2007 sur des animaux morts en Suisse. Une propagation de ce champignon avait probablement déjà eu lieu auparavant et, suite à des modifications génétiques, le champignon a maintenant atteint un potentiel qui pourrait entraîner une mortalité massive des amphibiens (info fauna, 2024). La Suisse a été épargnée jusqu'à présent par son cousin également connu, *Batrachochytrium salamandrivorans*. Celui-ci s'attaque aux urodèles et entraîne chez eux un taux de mortalité allant jusqu'à 100%. L'homme est considéré comme son principal propagateur (OFAG, 2023). Pour l'homme, *Histoplasma capsulatum* est probablement l'espèce la plus importante à ce jour. Ce champignon vit dans le guano des chauves-souris et peut provoquer de graves maladies pulmonaires chez l'homme (Robert Koch-Institut, 2024).

Il existe encore un grand potentiel scientifique pour l'étude du monde des champignons dans les grottes suisses, mais leur étude n'est pas simple. L'étude des champignons, ou plutôt des moisissures, nécessite des combinaisons de techniques de culture classiques avec des analyses de génétique moléculaire afin de déterminer les champignons avec suffisamment de précision (jusqu'à l'espèce) (par exemple selon Suetrong et al., 2023). Dans ces études, on a essayé de déterminer et également de quantifier les moisissures des grottes au moyen de méthodes de microscopie optique. Ce rapport a pour but de décrire une approche de la recherche sur les champignons dans les grottes de Suisse et les difficultés rencontrées.

Grottes étudiées

Quatre grottes suisses ont été prises en compte pour les études (voir tableau 1). La « Grotte des Neuchâtelois » était la première et la plus haute des grottes étudiées. Selon une statistique de fréquentation établie par Beat Heeb (AGH) à l'aide de capteurs de lumière, la Neuenburgerhöhle est visitée par 76 personnes par an en moyenne (2002-2024).

Au Nidlenloch, le nombre de visiteurs est documenté à l'aide de la distribution des clés et du formulaire d'inscription. Il est ainsi possible de suivre non seulement le nombre de visiteurs, mais aussi leur itinéraire prévu. En 2001, plus de 5 000 personnes ont visité le Nidlenloch, en 2024, elles étaient encore un peu plus de 1 400 (cf. fig. 1). Une analyse des

Tabelle 1: Übersicht der untersuchten Höhlen.

Tableau 1 : Aperçu des grottes étudiées.

Höhle Grotte	Lage Situation	Höhe m ü.M. Altitude	Besucher Visiteurs	Probenahme Prélèvement d'échantillons	Proben Echantillons
Neuenburgerhöhle	Flühli, LU	1696	ca. 75 pro Jahr / Env. 75 par an	16.10.23	Direkte Beprobung / Échantillonnage direct
Nidlenloch	Oberdorf, SO	1272	rund 1500 pro Jahr / Env. 1500 par an	23.02 & 09.12.24	Luftproben / Échantillons d'air
Eggschacht	Selzach, SO	1266	mind. 3 pro Jahr / Au moins 3 par an	10.08.24	Klebefilm / Film adhésif
Hölloch	Muotathal, SZ	744	ca. 10'000 pro Jahr / Env. 10'000 par an	17.02.24	Luftproben / Échantillons d'air

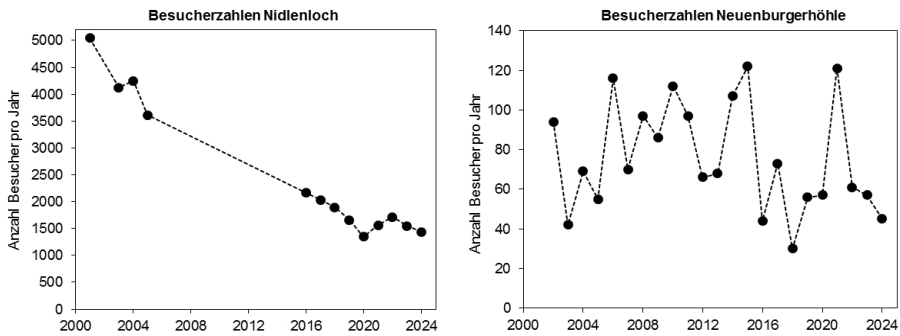


Abb. 1: Besucherzahlen Nidlenloch und Neuenburgerhöhle (Daten von Tom Hermann & Beat Heeb).
Fig. 1 : Nombre de visiteurs du Nidlenloch et de la Neuenburgerhöhle (données de Tom Hermann & Beat Heeb).

Auswertung der Besucher nach Monaten zeigte, dass im Jahr 2004 die meisten Besucher im Juni und im Oktober verzeichnet wurden, die wenigsten im Dezember bis Februar. Der Eggschacht ist eine weniger bekannte Höhle des Solothurner Juras (Herrmann und Bähler, 2013). Dort wurden Fäden beschrieben, bei denen man Pilzauswüchse (z.B. Rhizomorphen) vermuten könnte. Hier aber schon einmal vorweg: Diese Fäden im tiefsten Punkt der Höhle konnten bei unseren Expeditionen leider nicht erreicht und beprobt werden. Es wurden daher an anderen Stellen Proben entnommen. Aus der Tourenstatistik der AGN (AGN, 2024) können wir entnehmen, dass der Eggschacht zwischen 2009 und 2024 nur 38 Male besucht wurde. Allfällige Besuche anderer Sektionen/Gruppen wurden hier aber nicht erfasst. Das Hölloch ist die wohl bekannteste Höhle der Schweiz und wird von allen untersuchten Höhlen am meisten besucht. Die Besucherstatistik des Trekking Teams konnte nicht eingesehen werden, allerdings wurde berichtet, dass das Hölloch jährlich durch ca. 10'000 Personen aufgesucht wird (Feusi, 2018).

Versuch einer direkten Probenahme - Neuenburgerhöhle, LU

Methodik

In der Neuenburgerhöhle wurden insgesamt 12 Proben entnommen in diversen Gangsystemen, wie dem Réseau Aellen, dem Hauptgang und im Réseau Thiébaud. Sichtbare Kolonien wurden dabei als Ganzes oder teilweise und mit dem darunter liegenden Substrat (v.a. Fledermauskot, aber auch andere organische Matrizen) mithilfe einer sterilisierten Pinzette aufgenommen und in 50 ml fassende Polypropylen-Röhrchen transferiert. Mit dieser Methode werden die direkt wachsenden bzw. aktiven Schimmelpilze angeschaut. Luftbedingungen wurden mit einem TFA AIRCO2NTROL COACH-Messgerät aufgenommen. Die Proben

Le Hölloch est probablement la grotte la plus connue de Suisse et la plus visitée de toutes les grottes étudiées. Les statistiques de fréquentation de l'équipe de trekking n'ont pas pu être consultées, mais il a été rapporté que le Hölloch est visité chaque année par environ 10 000 personnes (Feusi, 2018).

Essai de prélèvement direct d'échantillons - Neuenburgerhöhle, LU

Méthodologie

Dans la « Grotte des Neuchâtelois », 12 échantillons ont été prélevés dans divers systèmes de galeries, comme le réseau Aellen, la galerie principale et le réseau Thiébaud. Les colonies visibles ont été prélevées en totalité ou en partie, avec le substrat sous-jacent (surtout des excréments de chauves-souris, mais aussi d'autres matrices organiques), à l'aide de pinces stérilisées et transférées dans des tubes en polypropylène de 50 ml. Cette méthode permet de regarder les moisissures qui se développent directement ou qui sont actives. Les conditions atmosphériques ont été enregistrées à l'aide d'un appareil de mesure TFA AIRCO2NTROL COACH. Les échantillons ont ensuite été emportés au laboratoire de moisissures Jenny GmbH pour être examinés au microscope.

Résultats

Lors des prises de données, des températures de 4,1 à 6,5 °C ont été mesurées, ainsi que des humidités relatives de 62 à 82% et des concentrations de CO₂ de 470 à 620 ppm. Leur exploitation s'est toutefois révélée très difficile. Les formes de croissance des champignons trouvées (cf. fig. 2) étaient très atypiques (par rapport aux formes poussant en surface). Ainsi, il manquait parfois des spores ou le mycélium n'était que très peu développé. Ces formes de croissance "atypiques" ont probablement été déclenchées par : (1) une forte humidité de l'air, (2) une obscurité permanente et (3) l'absence de

visiteurs par mois montre qu'en 2004, le plus grand nombre de visiteurs a été enregistré en juin et en octobre, et le plus petit de décembre à février. L'Eggschacht est une grotte moins connue du Jura soleurois (Herrmann et Bähler, 2013). On y a décrit des filaments dont on pourrait supposer l'origine fongique (par ex. des rhizomorphes). Mais voici d'ores et déjà une précision : ces filaments situés au point le plus profond de la grotte n'ont malheureusement pas pu être atteints et échantillonnés lors de nos expéditions. Des échantillons ont donc été prélevés à d'autres endroits. Les statistiques de l'AGN (AGN, 2024) nous apprennent que l'Eggschacht n'a été visité que 38 fois entre 2009 et 2024. Les éventuelles visites d'autres sections/groupes n'ont toutefois pas été enregistrées ici.

wurden dann zur mikroskopischen Untersuchung ins Schimmelpilzlabor Jenny GmbH mitgenommen.

Resultate

Bei den Messungen wurden Temperaturen von 4.1-6.5 °C gemessen zusammen mit relativen Luftfeuchten von 62-82% und CO₂-Konzentrationen von 470-620 ppm. Die Auswertung erwies sich aber als sehr schwierig. Die vorgefundenen Wachstumsformen der Pilze (vgl. Abb. 2) waren (verglichen mit oberirdisch wachsenden Formen) sehr untypisch. So fehlten teilweise Sporenträger oder das Pilzgeflecht war nur sehr schwach ausgebildet. Diese „atypischen“ Wachstumsformen wurden vermutlich ausgelöst durch: (1) Hohe Luftfeuchtigkeit, (2) ständige Dunkelheit und (3) fehlenden Luftzug. Dennoch konnten bei den Proben Vermutungen über die Schimmelpilzgattungen gemacht werden. Diese sind hier nach Trägersubstrat aufgeteilt:

- Fledermauskot/tote Insekten: *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Acremonium*
- Tote Fledermaus: *Fusarium*
- Eingetragenes Holz, Fruchtstein: *Cladosporium*

Versuch mit Abklatschproben - Eggschacht, SO

Methodik

Im Eggschacht wurden unten im Papstschacht 3 Klebefilmproben entnommen (sogenannte Abklatschproben). Dabei wurden die zu untersuchenden Oberflächen vorsichtig mit einem durchsichtigen Klebestreifen abgedeckt. Der Klebestreifen wurde wieder entfernt, auf eine saubere Plastikoberfläche geklebt und so ins Labor transportiert. Bei dieser Methode werden von der Oberfläche des Pilzes Teile von Sporen (sofern vorhanden) und vom Mycelium, also vom Pilzgeflecht, mitgerissen. Also werden hier wiederum Pilze angeschaut, welche aktiv auf einer Oberfläche gedeihen. Diese konnten im Labor unter dem Mikroskop mittels Färbeverfahren untersucht werden. Luftbedingungen wurden mit einem TFA Dostmann-Messgerät aufgenommen.

Resultate

Im Eggschacht wurde bei den Probenahmestellen 5.8 °C und eine relative Luftfeuchtigkeit von 95% gemessen. Aufgrund der Problematik, die bereits im oberen Kapitel aufgezeigt wurde, konnten auch hier nur Vermutungen zur Systematik der beprobten Pilze (vgl. Abb. 3) angestellt werden:

- Tote Fledermaus (Klebefilm 1 auf 1'231 m ü.M.)
 - Aktinomyceten (Bakterien, welche ein sehr feines Netz bilden), sehr massiv/sehr dicht vorhanden
 - ca. 12 farblose, relativ grosse ferner nicht bestimmbare „Sporen“, Durchmesser ca. 15-20 µm
- Fledermauskot (Klebefilme 2+3 auf 1'235 m ü.M.)
 - Mycelien, farblos, spaghettiartig, keine Sporenträger vorhanden
 - Zahlreiche kleine Sporen, ähnlich zu *Penicillium* spp., teils einzeln, teils in Gruppen.

Erster Versuch von Luftkeimmessungen - Nidlenloch, SO und Hölloch, SZ

Methodik

Versuche mit direkter Beprobung aber auch mit Abklatschproben zeigten, dass diese Methoden (zumindest für Höhlen) nur bedingt geeignet sind. Die speziellen Wachstumsformen und eine limitierte Ausbildung von Sporenträgern erschwerte die Bestimmung. Daher

courants d'air. Néanmoins, les échantillons ont permis d'émettre des hypothèses sur les genres de moisissures. Celles-ci sont réparties ici en fonction du substrat porteur :

- Excréments de chauves-souris/insectes morts : *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Acremonium*
- Chauve-souris morte : *Fusarium*
- Bois d'œuvre, noyaux de fruits : *Cladosporium*

Essai avec des prélèvements sur film adhésif - Eggschacht, SO

Méthodologie

Dans le Puits de la Herse, 3 échantillons de film adhésif ont été prélevés au bas du Puits du Pape (appelés aussi décalques). Les surfaces à analyser ont été soigneusement recouvertes d'une bande adhésive transparente. La bande adhésive a été retirée et collée sur une surface plastique propre, puis transportée au laboratoire. Avec cette méthode, des parties des spores (si elles existent) et du mycélium, soit des hyphes du champignon, sont emportées par la surface collante. On s'intéresse donc ici aux champignons qui se développent activement sur une surface. Ceux-ci ont pu être examinés en laboratoire sous le microscope à l'aide d'un procédé de coloration. Les conditions atmosphériques ont été enregistrées à l'aide d'un appareil de mesure TFA Dostmann.



Abb. 3: Objekte für Klebefilme im Eggschacht. Links: Probe 1, tote Fledermaus. Rechts: Probe 3, Fledermauskot.
Fig. 3 : Matériaux pour films adhésifs dans le Eggschacht. A gauche : échantillon 1, chauve-souris morte. A droite : échantillon 3, excréments de chauve-souris.

Résultats

Dans le Eggschacht, les points de prélèvement ont enregistré une température de 5,8 °C et une humidité relative de 95%. En raison de la problématique déjà exposée dans le chapitre précédent, il n'a été possible ici aussi que d'émettre des hypothèses sur la systématique des champignons échantillonnés (cf. fig. 3) :

- Chauve-souris morte (film adhésif 1 à 1'231 m d'altitude)
 - Actinomycètes (bactéries qui forment un réseau de filaments très fins), présence très massive/très dense
 - env. 12 "spores" incolores, relativement grandes en outre non déterminables, diamètre env. 15-20 µm
- Fèces de chauves-souris (films adhésifs 2+3 à 1'235 m d'altitude)
 - Mycélium incolore, en forme de spaghetti, pas de spores.
 - Nombreuses petites spores, semblables à *Penicillium* spp., en partie isolées, en partie groupées

Premier essai de mesures de germes dans l'air - Nidlenloch, SO et Hölloch, SZ

Méthodologie

Des essais d'échantillonnage direct, de même que les prélèvements sur films adhésifs, ont montré que ces méthodes ne sont que partiellement adaptées (du moins pour les grottes). Les formes de croissance



Abb. 2: Beispiele von Pilzkolonien in der Neuenburgerhöhle. Fledermauskot (vermutlich *Mucor* spp. und *Aspergillus* spp.). Holzschaft einer Schaufel bei der Grabstelle im Réseau Thiébaud (vermutlich *Cladosporium* spp.). Mit Schimmel überdecktes Insekt (evtl. eine Stelmücke) im Reseau Aellen (vermutlich *Aspergillus* spp. und *Penicillium* spp.).
Fig. 2 : exemples de colonies de champignons dans la Neuenburgerhöhle. Excréments de chauve-souris (probablement *Mucor* spp. et *Aspergillus* spp.). Manche en bois d'une pelle près de la tombe du Réseau Thiébaud (probablement *Cladosporium* spp.). Insecte recouvert de moisissure (peut-être un limonide) dans le Réseau Aellen (probablement *Aspergillus* spp. et *Penicillium* spp.).

wurde ein Versuch mit einer anderen Methode gestartet, und zwar die Beprobung der Luft mittels eines Luftkeimsammlers. Der Vorteil dieser Vorgehensweise liegt darin, dass man die eingefangenen Sporen unter Laborbedingungen ausbrüten kann und dabei eher bestimmbare Formen ausgebildet werden. Hierfür wurde im Februar 2024 an je zwei Stellen im Hölloch und im Nidlenloch gemessen.

Die Luftmessungen erfolgten mit dem Luftkeimsammler MBASS 30 von Umweltanalytik Holbach GmbH. Das Gerät wiegt ca. 3 kg. Es konnte in einer GP90-Munitionskiste aus Metall gut geschützt transportiert werden. Dazu müssen zusätzlich Nährböden geschützt mitgenommen werden. Pro Messstelle wurden drei Nährböden beladen mit einem Durchlaufvolumen von je 100 Liter. Pro Messstelle wurden je zwei Proben auf Malzextrakt (für Bakterien und Pilze) abgeschieden und eine auf DG18 (Dichloran-Glycerol 18%-Agar), einem Nährboden mit einem Antibiotikum gegen Bakterien und einer hemmender Wirkung gegen schnellwachsende Pilze. Jede Beladung dauerte 3:20 Minuten. Wo möglich, wurden zusätzliche weitere Nährböden beladen. Luftbedingungen wurden mit einem TFA AIRCO2NTROL COACH-Messgerät festgehalten.

Die Messungen im Hölloch erfolgten in Begleitung von einer Gruppe von 9 Personen. Die Höhle wurde an diesem Tag durch diverse Gruppen rege befahren. Die Messungen erfolgten während Marschpausen im Styx (Kreuzung) sowie beim Glitzertorbiwak (vgl. Abb. 4). Im Nidlenloch erfolgte die Messung durch ein Team von 2 Personen. Es wurden an diesem Tag keine anderen Besucher registriert. Die Proben wurden hinter dem Jungfernschlupf genommen (vom Eingang aus gesehen) sowie in der Forsterhalle. In der Forsterhalle wurde versuchsweise die Luft vor der Messung aktiv intensiv mit einer sauberen Jacke aufgewirbelt („Nutzungssimulation“).

Ergebnisse

An diversen Stellen im Hölloch und im Nidlenloch konnten deutlich erkennbar Schimmelpilzvorkommen beobachtet werden (Abb. 4 und Abb. 5). Dort, wo die Luft nicht aktiv aufgewirbelt wurde

particulières et la formation limitée de spores ont rendu la détermination difficile. C'est pourquoi un essai a été lancé avec une autre méthode, à savoir l'échantillonnage de l'air à l'aide d'un collecteur de germes aériens. L'avantage de cette méthode réside dans le fait que les spores capturées peuvent être incubées dans des conditions de laboratoire et que des formes plus facilement identifiables peuvent être formées. Pour ce faire, des mesures ont été effectuées en février 2024 à deux endroits du Hölloch et du Nidlenloch.

Les mesures de l'air ont été effectuées avec le collecteur de germes dans l'air MBASS 30 de la société Umweltanalytik Holbach GmbH. L'appareil pèse environ 3 kg. Il a pu être transporté bien protégé dans une caisse à munitions GP90 en métal. Il faut en outre emporter des milieux de culture protégés. Pour chaque site de mesure, trois milieux de culture ont été chargés avec un volume de passage de 100 litres chacun. Pour chaque site de mesure, deux échantillons ont été déposés sur de l'extrait de malt (pour les bactéries et les champignons) et un sur du DG18 (gélose au dichloran-glycérol 18%), un milieu de culture contenant un antibiotique contre les bactéries et un effet inhibiteur contre les champignons à croissance rapide. Chaque chargement a duré 3:20 minutes. Lorsque cela était possible, des milieux de culture supplémentaires ont été chargés. Les conditions atmosphériques ont été enregistrées à l'aide d'un appareil de mesure TFA AIRCO2NTROL COACH.

Les mesures dans le Hölloch ont été effectuées en compagnie d'un groupe de 9 personnes. La grotte a été très fréquentée par divers groupes ce jour-là. Les mesures ont été effectuées pendant des pauses de marche au Styx (carrefour) ainsi qu'au Glitzertorbiwak (cf. fig. 4). Au Nidlenloch, les mesures ont été effectuées par une équipe de deux personnes. Aucun autre visiteur n'a été enregistré ce jour-là. Les échantillons ont été prélevés derrière le Jungfernschlupf (vu de l'entrée) ainsi que dans la Forsterhalle. Dans la Forsterhalle, à titre d'essai, l'air a été activement et intensivement brassé avec une veste propre avant la mesure ("simulation d'utilisation").

Résultats

A divers endroits du Hölloch et du Nidlenloch, on a pu observer une présence clairement identifiable de moisissures (fig. 4 et fig. 5). Là où l'air n'a pas été activement brassé (donc sans "simulation d'utilisation"), la pollution de l'air était généralement de ≤150 unités formant colonies par mètre cube (UFC/m³). Lors de la simulation d'utilisation dans la Forsterhalle, la charge était d'environ 12'000 UFC/m³ (voir tableau 2). Cette différence était très visible lors du tri des milieux de culture (fig. 6). Ce nombre montre que, dans le cas d'un tel échantillonnage, le volume d'air filtré devrait être adapté à la charge attendue afin de pouvoir procéder à un comptage plus précis.

Un mélange de divers genres/espèces a été constaté dans le Hölloch. Ils'agissait notamment de : *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Eurotium*, *Wallemia sebi*, *Alternaria*, *Acremonium*. A l'exception de *Wallemia*, les familles des genres trouvés sont très fréquentes dans les grottes (Vanderwolf et al., 2013). Alors qu'*Alternaria* n'a été observée que dans le Styx, *Acremonium* n'a été trouvée que dans le Glitzertorbiwak. Il est également intéressant de noter l'absence de *Cladosporium* dans le Glitzertorbiwak, situé loin de l'entrée.



Abb. 4: Probenahmestellen im Hölloch. Oben links: Styx. Oben rechts: Glitzertorbiwak. Beispiele von Schimmelpilzen aus dem Hölloch. Unten links: Pilzhyphen auf unbekanntem Substrat. Unten rechts: Starkes Wachstum auf dem Holzgriff einer Trage.

Fig. 4 : Sites de prélèvement dans le Hölloch. En haut à gauche : Styx. En haut à droite : Glitzertorbiwak. Exemples de moisissures prélevées dans le Hölloch. En bas à gauche : Hyphes de champignons sur un substrat inconnu. En bas à droite : forte croissance sur la poignée en bois d'un brancard.



Schimmelpilz-Fruchtkörper auf Fledermauskot in der Grotte de la Cascade (NE).

Moisissures sur des excréments de chauves-souris dans la grotte de la Cascade (NE).

Hängender Pilz an einer Decke im Besucherbergwerk Herznach (AG).

Champignon suspendu à un plafond dans la mine touristique de Herznach (AG).



Abb. 5: Beispiele von Schimmelpilzvorkommen im Nidlenloch. Obere zwei Bilder: Schimmelpilze auf Fledermauskot im vorderen Bereich des Hauptganges. Untere zwei Bilder: Farbenreiche Schimmelpilze in der Forsterhalle.

Fig. 5 : Exemples de présence de moisissures dans le Nidlenloch. Les deux images du haut : Moisissures sur des excréments de chauves-souris dans la partie avant du couloir principal. Deux images du bas : Moisissures riches en couleurs dans la salle Forster.

(also ohne „Nutzungssimulation“), lag die Luftbelastung generell bei ≤ 150 koloniebildenden Einheiten pro Kubikmeter (KBE/m³). Bei der Nutzungssimulation in der Forsterhalle lag die Belastung bei ca. 12'000 KBE/m³ (siehe Tabelle 2). Dieser Unterschied war bei der Sichtung der Nährböden sehr gut zu erkennen (Abb. 6). Diese Anzahl zeigt, dass bei einer solchen Probenahme das Durchlaufvolumen der erwarteten Belastung angepasst werden müsste, um eine genauere Zählung vornehmen zu können.

Im Hölloch wurde eine Mischung diverser Gattungen/Arten festgestellt. Dazu zählten: *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Eurotium*, *Wallemia sebi*, *Alternaria*, *Acremonium*. Abgesehen von *Wallemia*, sind die Familien der gefundenen Gattungen sehr häufig in Höhlen anzutreffen (Vanderwolf et al., 2013). Während *Alternaria* nur im Styx festgestellt wurde, wurde *Acremonium* nur im Glitzertorbiwak vorgefunden. Interessant ist auch die Abwesenheit von *Cladosporium* im eingangsfern liegenden Glitzertorbiwak.

Im Nidlenloch wurde die Gattungszusammensetzung bei N1 Jungfernschlupf nicht weiter identifiziert. Bei der Forsterhalle aber dominierte bei der aktiven Probenahme *Penicillium*. Diese Gattung hat kleine Sporen, welche bei der Luftaufwirbelung leicht mobilisiert werden.

Zweiter Versuch von Luftkeimmessungen – Nidlenloch, SO

Methodik

Nach den durchgeführten Probenahmen war nun klar, dass ein grösserer Versuch mit der Luftkeimsammelmethode vielversprechend sein könnte. Die Quantifizierung der Sporen und die Bestimmung der Kolonien erlaubt es uns zu überprüfen, ob unterschiedliche Bereiche einer Höhle unterschiedliche Mengen und Gattungen von Schimmelpilzen aufweisen. Im zweiten Versuch sollte also geprüft werden, ob unterschiedliche Bereiche im Nidlenloch unterschiedliche Schimmelpilzzusammensetzungen aufweisen. Die Auswertung der Besucherstatistik aus den Jahren 2001 und 2002-2005 zeigte, dass im

Au Nidlenloch, les genres composant le peuplement n'ont pas été identifiés plus avant dans le N1 Jungfernschlupf. Mais dans le cas de la Forsterhalle, c'est le *Penicillium* qui dominait lors de l'échantillonnage actif. Ce genre a des spores de petite taille qui sont facilement mobilisées lors de la mise en suspension dans l'air.

Deuxième essai de mesures de germes dans l'air – Nidlenloch, SO

Méthodologie

Après les prélèvements effectués, il était désormais clair qu'un essai à plus grande échelle avec la méthode de collecte des germes dans l'air pourrait être prometteur. La quantification des spores et la détermination des colonies nous permettent de vérifier si différentes zones d'une grotte présentent des quantités et des genres de moisissures différents. Dans la deuxième expérience, il s'agissait donc de vérifier si différentes zones du Nidlenloch présentaient des compositions de moisissures différentes. L'analyse des statistiques de fréquentation des années 2001 et 2002-2005 a montré qu'en moyenne 90,5% des visiteurs ont indiqué la "partie touristique" comme but. 2,6% supplémentaires ont indiqué le Truggang jusqu'au Sauschacht, 2,5% le Märchengang jusqu'au Bänkli, 1,2% le Märchengang jusqu'au bivouac 3 et le même nombre le Hauptgang jusqu'au bivouac 1. Mephisto, AGN-Gang, Senkstollen und Aliengang ont été les moins cités (tous $\leq 0,13\%$). Le Sandgang a été cité dans 0,69% des cas. Nous avons décidé de comparer cette galerie avec la "partie touristique" de la grotte. Ceci en raison de son accessibilité avec l'appareil ainsi que de son relatif isolement derrière plusieurs puits. Ainsi, 2 sites ont été étudiés dans la "partie touristique" et 2 sites dans la galerie des contes et du sable (Fig. 7).

Comme pour l'étude précédente, 3 milieux de culture ont été chargés à chaque mesure, 2x extrait de malt et 1x DG18. A chaque endroit, l'air a été mesuré dans des conditions normales (avec 100 litres d'air tiré) et une fois après une simulation d'utilisation (avec 30 litres d'air tiré). Cette fois-ci, la simulation d'utilisation a été réalisée avec un chiffon propre, en le faisant tourner autour du point d'échantillonnage pendant 15 secondes.

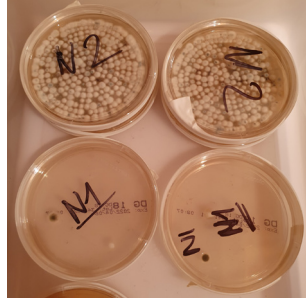


Abb. 6: Unterschiede in den Anzahl Kolonien auf den antibiotikahaltigen DG18-Nährböden. Bei N2 Forsterhalle bei aktiver Luftaufwirbelung wurde bei fast jedem Loch im Ansaugdeckel der Pumpe eine Kolonie gebildet, während bei N1 Jungfernschlupf nur einzelne Kolonien wuchsen.

Fig. 6 : Différences dans le nombre de colonies sur les milieux de culture DG18 contenant des antibiotiques. Dans le cas du N2 Forsterhalle, en présence d'un brassage d'air actif, une colonie s'est formée à presque chaque trou dans le couvercle d'aspiration de la pompe, alors que dans le cas du N1 Jungfernschlupf, seules quelques colonies ont poussé.

Schnitt 90.5% der Besucher den «touristischen Teil» als Ziel angaben. Weitere 2.6% gaben Truggang bis Sauschacht an, 2.5% Märchengang bis Bänkli, 1.2% Märchengang bis Biwak 3 und gleich viele Hauptgang bis Biwak 1. Am wenigsten genannt wurden Mephisto, AGN-Gang, Senkstollen, Dreckstollen und Aliengang (alle $\leq 0.13\%$). Der Sandgang wurde in 0.69% der Fälle genannt. Wir entschieden uns, diesen Gang mit dem «touristischen Teil» der Höhle zu vergleichen. Dies aufgrund der Zugänglichkeit mit dem Gerät sowie der relativen Abgeschiedenheit hinter mehreren Schächten. So wurden 2 Stellen im «touristischen Teil» und 2 Stellen im Märchen- und Sandgang untersucht (Abb. 7).

Wie bei der vorherigen Untersuchung, wurden auch hier pro Messung jeweils 3 Nährböden beladen, 2x Malzextrakt und 1x DG18. An jeder Stelle wurde die Luft bei Normalbedingungen (mit 100 Liter gezogener Luft) gemessen und einmal nach einer Nutzungssimulation (mit 30 Liter gezogener Luft). Diesmal wurde die Nutzungssimulation mit einem sauberen Tuch durchgeführt, indem es 15 Sekunden lang um die Probenahmestelle herum gewirbelt wurde.

Ergebnisse

Die Luft im Normalzustand (ohne Aufwirbelung) zeigte im Nidlenloch Werte im Bereich von 600-2'210 KBE/m³ (Tabelle 2), verglichen mit 140 KBE/m³ aussen, was eine deutlich höhere Konzentration darstellt, als bei der ersten Messung ermittelt. Dies deutet vor allem darauf hin, dass die Menge der Keime saisonal unterschiedlich sein könnte. Eine solche Saisonalität wurde auch durch Wang et al. (2010) in China beschrieben, wo vor allem im Sommer und im Herbst und bei stärkerer Nutzung höhere KBE-Konzentrationen gezählt wurden.

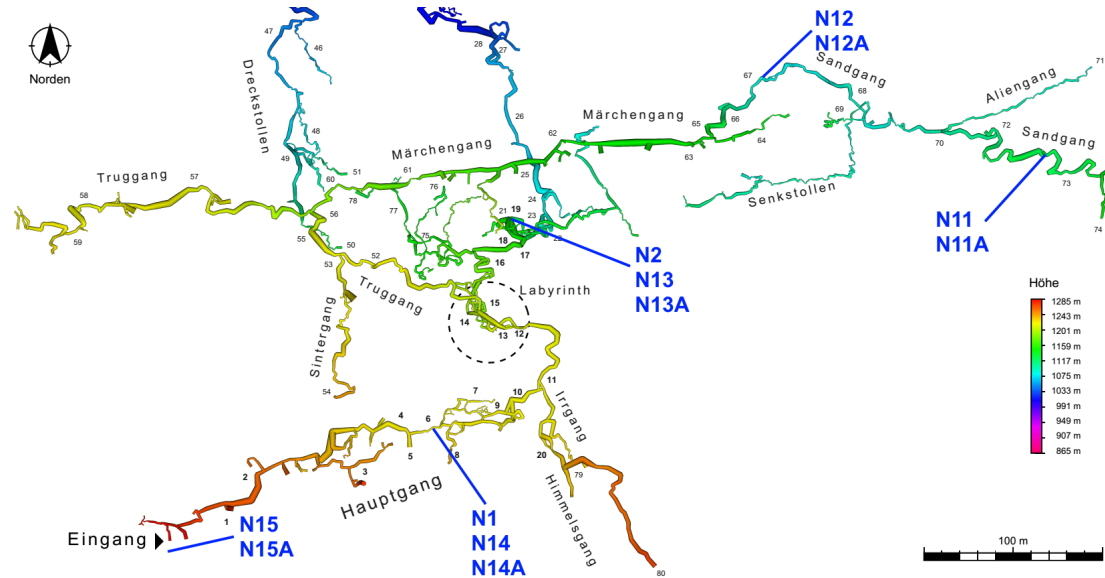


Abb. 7: Probenahmestellen im Nidlenloch. Die Fotos zeigen die Stellen in der Höhle. Links: N12 (Biwak 3), rechts: N14 (Jungfernschlupf).

Fig. 7 : Sites de prélèvement dans le Nidlenloch. Les photos montrent les endroits de la grotte. A gauche, il s'agit de l'endroit le plus proche : N12 (bivouac 3), à droite : N14 (gîte de la vierge).

Tabelle 2. Ergebnisse der Luftmessungen. NS: Nutzungssimulation. KBE: Kolonie bildende Einheiten. MEA: Malzextrakt-Nährboden. DG18: Dichloran-Glycerol 18%-Agar-Nährböden.

Tableau 2 : Résultats des mesures de l'air. NS : simulation d'utilisation. UFC : unités formant des colonies. MEA : milieu de culture à base d'extrait de malt. DG18 : milieu de culture en gélose au dichlorane-glycérol 18%.

Probe Echantillon	Messstelle Point de mesure	Datum, Zeit Date, heure	Temperatur Luftfeuchte CO ₂ Température Humidité de l'air CO ₂	NS	KBE DG18 20 °C (KBE/m³) UFC DG18 20 °C (UFC/m³)	KBE MEA 20 °C (KBE/m³) UFC MEA 20 °C (UFC/m³)	KBE MEA 37 °C (KBE/m³) UFC MEA 37 °C (UFC/m³)	Beobachtete Gattungen/Arten Genres/ espèces observés
Luftkeimsammlungen Hölloch und Nidlenloch / Collections de germes aériens Hölloch et Nidlenloch								
H1	Hölloch Styx	17.02.24 10:45	10.8 °C (vermutlich nicht lange genug gemessen) 64% 890 ppm 10,8 °C (probablement pas mesuré assez longtemps) 64% 890 ppm	-	70-100	70 Bakterien / Bactéries: 30	Schimmelp / P. de moisissures : 0 Hefen / Levures : 0 Bakterien / Bactéries : 10	Cladosporium Penicillium Aspergillus Eurotium Wallemia sebi Alternaria
H2	Hölloch Glitzertorbiwak	17.02.24 13:00	7.4 °C 77% 920 ppm	-	60-80	90 Bakterien / Bactéries: 10	Schimmelp / P. de moisissures : 0 Hefen / Levures : 0 Bakterien / Bactéries : 0	Penicillium Aspergillus Eurotium Wallemia sebi Acremonium
N1	Nidlenloch Jungfernschlupf	23.02.24 11:00	5.5 °C 74% 580 ppm	-	50-150	110	Schimmelp / P. de moisissures : 40 Hefen / Levures : 0 Bakterien / Bactéries : 0	Diverse
N2	Nidlenloch Forsterhalle	23.02.24 12:00	5.6 °C 80% 630 ppm	Ja Oui	ca. 12'000 env. 12'000	ca. 11'000 env. 11'000	Schimmelp / P. de moisissures : 30 Hefen / Levures : 0 Bakterien / Bactéries : 0	Penicillium
Luftkeimsammlungen Nidlenloch / Collections de germes aériens Nidlenloch								
N11	Nidlenloch Ende Schluf nach Glitzertor	09.12.24 12:40	6.3 79% 1200 ppm	-	760	840 Bakterien / Bactéries: 120	Schimmelp / P. de moisissures : 40 Hefen / Levures : 0 Bakterien / Bactéries : 620	Cladosporium Diverse sterile oder nicht bestimmbare Kolonien Cladosporium
N11A		09.12.24 13:00		Ja Oui	1430	1230 Bakterien / Bactéries: 100	Schimmelp / P. de moisissures : 233 Hefen / Levures : ü Bakterien / Bactéries : ü	
N12	Nidlenloch Bivouac 3	09.12.24 13:45	6.0 81% 1100 ppm	-	2210	1500	Schimmelp / P. de moisissures : 0 Hefen / Levures : 0 Bakterien / Bactéries : 30	Aspergillus Penicillium/Talaromyces Diverse sterile oder nicht bestimmbare Kolonien Aspergillus Penicillium/Talaromyces
N12A		09.12.24 14:00		Ja Oui	6400	5500	Schimmelp / P. de moisissures : 67 Hefen / Levures : 0 Bakterien / Bactéries : 965	
N13	Nidlenloch Forsterhalle	09.12.24 16:20	5.7 82% 1600 ppm	-	750	670	Schimmelp / P. de moisissures : 30 Hefen / Levures : 0 Bakterien / Bactéries : 240	Diverses colonies stériles ou non identifiabiles
N13A		09.12.24 16:35		Ja Oui	1600	1200	Schimmelp / P. de moisissures : 133 Hefen / Levures : 0 Bakterien / Bactéries : 333	
N14	Nidlenloch Jungfernschlupf	09.12.24 17:20	4.9 83% 860 ppm	-	600	210	Schimmelp / P. de moisissures : 30 Hefen / Levures : u Bakterien / Bactéries : u	Trichoderma Diverse sterile oder nicht bestimmbare Kolonien Trichoderma
N14A		09.12.24 17:35		Ja Oui	1065	860	Schimmelp / P. de moisissures : 0 Hefen / Levures : 0 Bakterien / Bactéries : 300	Trichoderma Mortirella polycephala Diverse sterile oder nicht bestimmbare Kolonien Trichoderma Mortirella polycephala Diverses colonies stériles ou non identifiabiles
N15	Nidlenloch Aussen bei Eingang	09.12.24 18:00	7.7 78% 500 ppm	-	140	270	Schimmelp / P. de moisissures : 30 Hefen / Levures : 0 Bakterien / Bactéries : 0	Cladosporium
N15A	Nidlenloch Extérieur près de l'entrée	09.12.24 18:15		Ja Oui	533	800	Schimmelp / P. de moisissures : 67 Hefen / Levures : 0 Bakterien / Bactéries : 0	

u = unbekannt; wegen starkem Pilzwachstum war das Auszählen der Hefen und Bakterien nicht möglich

u = inconnu ; en raison d'une forte croissance des champignons, le comptage des levures et des bactéries n'était pas possible

Empehlungen für Höhlenforscher zur Eindämmung der Verbreitung der „Salamanderpest“

Nach Meyer (2020).

- In der Schweiz wurde *Batrachochytrium salamandrivorans* (Bsal) bisher noch nicht nachgewiesen. Dies bedeutet, dass Höhlenforscher eine ganze besondere Verantwortung haben, um dessen Ausbreitung zu vermindern, besonders bei Besuchen von Höhlen in anderen Ländern.
- Die Ausrüstung nach einer Höhlenbefahrung mit Wasser reinigen, Anhaftungen wie Bodenreste/Schlamm, entfernen. Schläze in der Waschmaschine waschen.
 - Eine gesicherte Massnahme ist die Behandlung mit Desinfektionsmittel wie Virkon S oder 70%igem Ethanol.
 - Das Waschen schlammverschmutzter Kleider in Bächen wird nicht empfohlen, vor allem wenn diese sich nicht im Umkreis der befahrenen Höhle befinden und/oder naturschutzrechtliche Einschränkungen bestehen.
 - Verdächtige Totfunde an die kantonale Naturschutzstellen (in der Schweiz) oder die regionalen Fachstellen (im Ausland) melden. Totfunde, besonders Hautläsionen, photographisch dokumentieren. Tiere dabei nicht anfassen.

Proben, welche nach der Luftaufwirbelung genommen wurden, waren höher belastet, als solche ohne Aufwirbelung. Allerdings wurden nicht so extreme Werte erreicht, wie beim letzten Mal, da auch die Nutzungssimulation diesmal weniger extrem durchgeführt wurde.

Eindrücklich war die hohe KBE-Konzentration beim Biwak 3 (NL12), welche sogar höher ausfiel als im oft begangenen Forsterschacht. Hier ist zu erwähnen, dass sich unweit vom Biwak 3 (tiefer in der Höhe drinnen) eine alte Deponie und Toilette befindet. Ferner wurde hier eine kleinere Menge an Holzresten beobachtet. Dies alles fördert das Wachstum von Pilzen und Bakterien. So erstaunt es auch nicht, dass die Bakterienzahl bei den 37 °C-incubierten Proben deutlich höher ausfiel als im Forsterschacht.

Die Zusammensetzung im Forsterschacht und im Biwak 3 fiel ähnlich aus: Hauptsächlich *Aspergillus*, *Penicillium/Talaromyces*. Bei den weniger belasteten Messstellen (Glitzertor und Jungfernschlupf) wurden *Cladosporium* sowie einige kleinere Vorkommen von *Trichoderma* und *Mortirella* beobachtet.

Diskussion

Beobachtete Mikroorganismen

Hier sollen die am meisten beobachtete Gattungen/Arten kurz angesprochen werden, vor allem auch im Bezug auf ihre Bedeutung für die Gesundheit:

- Acremonium* (Abteilung: Ascomycota; Familie: Bionectriaceae): Vertreter dieser Gattung können in Menschen mit geschwächtem Immunsystem ein sogenanntes Mycetom (lokale Pilzinfektion) auslösen (Fincher et al., 1991). *Acremonium* wurde bereits in Höhlen und an Orten mit erhöhter Radioaktivität vorgefunden (Martin-Pozas et al., 2022).
- Aspergillus* (Abteilung: Ascomycota; Familie: Trichocomaceae): Besitzt allergenes Potenzial. Erhöhtes gesundheitliches Risiko durch die Bildung mikrobieller flüchtiger organischer Verbindungen (MVOC) und Giftstoffe (Toxine). Kann hauptsächlich bei immungeschwächten Personen Infektionen (Mykosen) verursachen. Bildet viele und gut flugfähige Sporen. *Aspergillus* wird in Höhlen als eine der häufigsten Gattungen beschrieben, z.B. in Brasilien (Alves et al., 2022), und

Discussion

Micro-organismes observés

Il s'agit ici d'aborder brièvement les genres/espèces les plus observés, notamment en ce qui concerne leur importance pour la santé :

- Acremonium* (division : Ascomycota ; famille : Bionectriaceae) : les représentants de ce genre peuvent provoquer ce que l'on appelle un mycétome (infection fongique locale) chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli (Fincher et al., 1991). *Acremonium* a déjà été trouvé dans des grottes et dans des endroits où la radioactivité est élevée (Martin-Pozas et al., 2022).
- Aspergillus* (Division : Ascomycota ; Famille : Trichocomaceae) : Possède un potentiel allergène. Risque accru pour la santé en raison de la formation de composés organiques volatils microbiens (COVM) et de substances toxiques (toxines). Peut provoquer des infections (mycoses) principalement chez les personnes immunodéprimées. Forme de nombreuses spores facilement transportables. *Aspergillus* est décrit comme l'un des genres les plus fréquents dans les grottes, par exemple au Brésil (Alves et al., 2022). Il est intéressant de noter qu'il fait également partie des moisissures les plus tolérantes aux radiations et qu'il peut ainsi se développer dans des grottes peu aérées avec des concentrations élevées de radon (Martin-Pozas et al., 2022).
- Cladosporium* (Division : Ascomycota ; Famille : Mycosphaerellaceae) : Possède un potentiel allergène chez les personnes prédisposées, mais est généralement considérée comme une moisissure relativement inoffensive. Elle peut toutefois provoquer des irritations des voies respiratoires. Se développe jusqu'à 35 °C maximum. Les spores sont souvent présentes en grande quantité dans l'air extérieur et intérieur (bâtiments), surtout en été et en automne. *Cladosporium* a déjà été décrit comme le genre le plus fréquent dans plusieurs grottes espagnoles (Dominguez-Moñino et al., 2021).
- Fusarium* (Division : Ascomycota ; Famille : Nectriaceae) : peut provoquer des infections chez les personnes sensibles, qui peuvent avoir un très mauvais pronostic en cas d'épidémie (Muhammed et al., 2011). Des représentants du genre ont été identifiés dans la grotte de Lascaux en France (Dupont et al., 2007). Une propagation accrue du champignon y a été observée à partir de 2001. Des années de fréquentation de la grotte de Lascaux, la modification des conditions d'aération ainsi que l'utilisation de fongicides ont conduit à la sélection d'un microbiome (ensemble de tous les microorganismes, y compris les champignons) présentant un potentiel élevé de nocivité pour la santé humaine (Bastian et al., 2010). *Fusarium*, tout comme *Aspergillus*, a été décrit dans des lieux où la radioactivité est élevée (Martin-Pozas et al., 2022).
- Mortirella polycephala* (Division : Mucoromycota ; Famille : Mortierellaceae) : Possède un potentiel allergène. Se développe à partir d'environ 4°C et plus. Le genre est connu pour pouvoir déclencher diverses maladies chez les animaux de rente (surtout les vaches), comme par exemple le granulome annulaire (dermatose) ou les pneumonies (Özavcı & Kırcan, 2014). Cette espèce a déjà été détectée dans d'autres grottes, par exemple en Pologne (Borzęcka et al., 2021).
- Mucor* (division : Mucoromycota ; famille : Mucoraceae) : forme de longs filaments et a déjà été trouvé sur des chauves-souris mortes et dans des mines polluées par des métaux lourds (Vanderwolf et al., 2016 ; Held et al., 2020). Dans la grotte Driny en Slovaquie, *Mucor* était le genre le plus fréquent sur les excréments de chauves-souris (Ogórek et al., 2016). Chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli, ces champignons peuvent provoquer une mucormycose grave (Morrissey et al., 2024).
- Penicillium/Talaromyces* (division : Ascomycota ; famille : Trichocomaceae) : il est difficile de distinguer les deux genres. Dans les



Photo: M. Widmer

Soweit die Nahrung reicht... Holz und Kot bieten eine gute Grundlage für Schimmelwachstum..

Le bois et les excréments offrent une bonne base pour la croissance des moisissures.



Photo: M. Widmer

gehört interessanterweise auch zu den strahlungstoleranteren Schimmelpilzen und kann so in wenig durchlüfteten Höhlen mit hohen Radonkonzentrationen gedeihen (Martin-Pozas et al., 2022).

- *Cladosporium* (Abteilung: Ascomycota; Familie: Mycosphaerellaceae): Besitzt allergenes Potenzial, bei entsprechend disponierten Personen, gilt generell aber als ein relativ harmloser Schimmelpilz. Kann jedoch auch Reizungen der Atemwege verursachen. Gedeiht bis max. 35 °C. Die Sporen kommen häufig in grossen Mengen in der Aussen- und Innenluft (Gebäude) vor – dies vor allem in den Sommer- und Herbstmonaten. *Cladosporium* wurde bereits in mehreren spanischen Höhlen als die häufigste Gattung beschrieben (Dominguez-Moñino et al., 2021).
- *Fusarium* (Abteilung: Ascomycota; Familie: Nectriaceae): Kann bei sensitiven Menschen zu Infektionen führen, welche bei einem Ausbruch zu sehr schlechten Prognosen führen können (Muhammed et al., 2011). Vertreter der Gattung wurden in der Lascaux-Höhle in Frankreich identifiziert (Dupont et al., 2007). Eine verstärkte Ausbreitung des Pilzes wurde dort ab 2001 beobachtet. Jahrelange Nutzung der Lascaux-Höhle, Änderung der Lüftungsverhältnisse sowie Fungizidanwendungen führten zu der Selektion vom einem Mikrobiom (Gesamtheit aller Mikroorganismen, also auch Pilzen) mit hohem gesundheitsschädigenden Potenzial für Menschen (Bastian et al., 2010). *Fusarium* wurde wie auch *Aspergillus* in Orten mit erhöhter Radioaktivität beschrieben (Martin-Pozas et al., 2022).
- *Mortierella polycephala* (Abteilung: Mucoromycota; Familie: Mortierellaceae): Besitzt allergenes Potenzial. Gedeiht ab ca. 4°C und mehr. Die Gattung ist bekannt, diverse Krankheiten bei Nutztieren (vor allem Kühen) auslösen zu können, so z.B. die Hauterkrankung Granuloma anulare oder Lungenentzündungen (Özavcı & Kirkan, 2014). Diese Art wurde bereits in anderen Höhlen nachgewiesen, so z.B. in Polen (Borzęcka et al., 2021).
- *Mucor* (Abteilung: Mucoromycota; Familie: Mucoraceae): Bildet lange Fäden und wurde schon auf toten Fledermäusen und in mit Schwermetall belasteten Minen gefunden (Vanderwolf et al., 2016; Held et al., 2020). In der Driny-Höhle in der Slowakei war *Mucor* die häufigste Gattung auf Fledermauskot (Ogórek et al., 2016). Bei Personen mit geschwächtem Immunsystem können diese Pilze eine schwere Mucormycose auslösen (Morrissey et al., 2024).
- *Penicillium/Talaromyces* (Abteilung: Ascomycota; Familie: Trichocomaceae): Die beiden Gattungen können nur schwer voneinander unterschieden werden. Bei beiden kommen dimorphe Schimmelpilze vor, die in ihrer parasitären Form als Hefe und in ihrer saprophytischen Form als Myzel wachsen können. Vertreter dieser Gattungen besitzen ein allergenes Potenzial und mögliche Giftstoff/Toxin-Bildner; generell sind es aber Gattungen mit gesundheitlich eher harmlosen Schimmelpilzen. Bilden meist sehr zahlreiche, kleine und gut flugfähige Sporen. Eine Studie aus Polen zeigte, dass *Penicillium* eine der häufigsten Gattungen in Höhlen, die oft von Fledermäusen (*Myotis myotis*) frequentiert werden, darstellen kann und positiv mit der Anzahl der Fledermäuse korreliert (Borzęcka et al., 2021). *Penicillium*-Vertreter wurden auch schon in verlassenen Minen mit hohen Schwermetallbelastungen (Held et al., 2020) und an Orten mit erhöhter Radioaktivität (Martin-Pozas et al., 2022) beschrieben.
- *Trichoderma* (Abteilung: Ascomycota; Familie: Hypocreaceae): Der weit verbreitete *Trichoderma viride* kommt häufig auf Holzoberflächen vor. *Trichoderma* wächst sehr schnell und gedeiht je nach Art bis 36 °C. Diese Schimmelpilze wirken leicht immunsuppressiv, können Grippe Symptome und Schleimhautirritationen erzeugen und Giftstoffe bzw. Antibiotika bilden. Besitzt allergenes Potenzial und zeigt erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen Desinfektionsmittel. In Höhlen ist *Trichoderma* bekannt als ein Pilz der erhöhte CO₂-Konzentrationen aushält und er wurde bereits von Biofilmen und

deux cas, on trouve des moisissures dimorphiques qui peuvent se développer sous forme de levure dans leur forme parasitaire et sous forme de mycélium dans leur forme saprophyte. Les représentants de ces genres possèdent un potentiel allergène et peuvent former des toxines ; mais en général, ce sont des genres de moisissures plutôt inoffensives pour la santé. Elles forment généralement de très nombreuses spores de petite taille et facilement transportables. Une étude menée en Pologne a montré que le *Penicillium* pouvait être l'un des genres les plus fréquents dans les grottes souvent fréquentées par les Grands Murins (*Myotis myotis*) et qu'il était positivement corrélé avec le nombre de chauves-souris (Borzęcka et al., 2021). Des représentants de *Penicillium* ont également déjà été décrits dans des mines abandonnées avec des niveaux élevés de métaux lourds (Held et al., 2020) et dans des lieux avec une radioactivité élevée (Martin-Pozas et al., 2022).

- *Trichoderma* (Division : Ascomycota ; Famille : Hypocréacées) : Très répandu, *Trichoderma viride* est souvent présent sur les surfaces en bois. *Trichoderma* croît très rapidement et se développe jusqu'à 36 °C selon les espèces. Ces moisissures ont un effet légèrement immunsuppresseur, peuvent générer des symptômes grippaux et des irritations des muqueuses et produire des toxines ou des antibiotiques. Possède un potentiel allergène et montre une résistance accrue aux désinfectants. Dans les grottes, *Trichoderma* est connu pour être un champignon qui résiste à des concentrations élevées de CO₂ et il a déjà été extrait de biofilms et de divers substrats de grottes (p. ex. animaux morts) (Nováková et al., 2017).
- Mycélium stérile : dans certains cas, on a trouvé des mycéliums de moisissures sans spores. Le mycélium (entrelacement) n'a pas produit de conidies ou de spores pendant la croissance ou l'incubation. Il peut y avoir plusieurs raisons à cela, par exemple un substrat/milieu de culture inapproprié. Dans de tels cas, le mycélium ne peut souvent pas être déterminé plus précisément au microscope en raison de l'absence de caractéristiques claires.

Recommandations aux spéléologues pour enrayer la propagation de la "peste des salamandres"

D'après Meyer (2020).

Batrachochytrium salamandrivorans (Bsal) n'a pas encore été détecté en Suisse. Cela signifie que les spéléologues ont une responsabilité particulière dans la réduction de sa propagation, en particulier lors de visites de grottes dans d'autres pays.

- Nettoyer l'équipement à l'eau après une descente en spéléo, enlever les adhérences comme les restes de sol/boue. Laver les combinaisons en machine.
- Une mesure sûre est le traitement avec un désinfectant comme Virkon S ou de l'éthanol à 70%.
- Il n'est pas recommandé de laver des vêtements souillés de boue dans les ruisseaux, surtout si ceux-ci ne se trouvent pas dans le périmètre de la grotte fréquentée et/ou s'il existe des restrictions en matière de protection de la nature.
- Signaler tout animal mort suspect aux services cantonaux de protection de la nature (en Suisse) ou aux services régionaux spécialisés (à l'étranger). Documenter les animaux trouvés morts, en particulier les lésions cutanées, par des photos. Ne pas toucher les animaux.

- diversen Höhlensubstraten (z.B. toten Tieren) extrahiert (Nováková et al., 2017).
- Sterile Mycelien: In einigen Fällen wurden Schimmelpilz-Mycelien ohne Sporen gefunden. Das Mycel (Geflecht) hat während des Wachstums bzw. der Bebrütung keine Konidien oder Sporen erzeugt. Die Gründe dafür können vielfältig sein, z.B. ungeeigneter Untergrund/ Nährboden. In solchen Fällen kann das Mycel mikroskopisch infolge fehlender eindeutiger Merkmale oft nicht näher bestimmt werden.

Gesundheitliche Einschätzung

Um die Resultate zu diskutieren, werden einige Richt- und Orientierungswerte für Innenräume herangezogen. Allerdings sind diese natürlich nicht direkt auf Höhlen übertragbar. Gemäss WHO ist eine Belastung von bis zu 500 KBE/m³ bei einer umwelttypischen Mischung der Pilzarten akzeptabel. Für die Schweiz gilt gemäss SUVA ein Orientierungswert von max. 1'000 KBE/m³. Gemäss der European Collaborative Action on Urban Air, Indoor Environment and Human

Die Mikrobiologie der Lascaux-Höhle

Nach Bastian et al. (2010)

Die Lascaux-Höhle in Frankreich ist durch die einzigartigen altsteinzeitlichen Wandmalereien bekannt geworden. Nach ihrer Entdeckung im Jahre 1940 wurde sie rege durch Menschen besucht, was schliesslich einen starken Einfluss auf die Höhlenökologie haben sollte. Durch die Beleuchtung ausgelöstes, starkes Algenwachstum in den 1960er Jahren führte zur ersten mikrobiellen Krise und schliesslich dazu, dass man die Höhle 1963 schliessen musste, um die Malereien zu schützen. Bis 1969 wurden mehrere Reinigungen mit Streptomycin, Penicillin und Formaldehyd durchgeführt.

2001 wurde ein Ausbruch vom Pilz *Fusarium solani* und dem damit assoziierten Bakterium *Pseudomonas fluorescens* festgestellt; die zweite mikrobielle Krise hatte begonnen. Die mikrobiellen Gesellschaften wuchsen als weisser, flauschiger Belag. Es wurden Behandlungen mit Benzalkoniumchlorid (Vitalub QC50), Streptomycin, Polymyxin und Kalziumoxid durchgeführt. Ab 2004 wurden mechanische Reinigungen und Reinigungen der Luft durchgeführt.

2003 wurde ein schwarzer Belag auf Malereien festgestellt. Doch erst 2006 wurde daraus eine Ausbreitung beschrieben, was die dritte mikrobielle Krise einläutete. In den Belägen wurden die Pilzgattungen *Verticillium* und *Scolecobasidium* nachgewiesen. Vor allem der letztere Pilz bildet das dunkle Melanin. Die Bekämpfung erfolgte danach hauptsächlich durch mechanische Reinigung und mit Ammoniumderivaten. Es wurde hypothesisiert, dass der Einsatz von Benzalkoniumchlorid ab 2001 die Ausbreitung von *Scolecobasidium* verstärkt hatte, da dieser den Stoff als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle benutzen kann. Ferner konnte beobachtet werden, dass Springschwänze sich von *Fusarium*-Pilzen ernährten und so einerseits eine schnelle Verbreitung von Pilzen über weitere Oberflächen begünstigten, aber gleichzeitig auch schwarze Kotspuren hinterliessen, was die Bildung dunkler Flecken zusätzlich förderte.

Die mikrobielle Zusammensetzung der Lascaux-Höhle beinhaltet heute zahlreiche potenzielle menschliche Pathogene, was einen Höhlenbesuch zu einem Gesundheitsrisiko macht. Diese dramatische Entwicklung lässt sich auf die jahrzehntelangen menschlichen Eingriffe in die Höhlenökologie zurückführen, die darauf ausgerichtet war, die Höhle Besuchern vorzuführen und gleichzeitig die Höhlenmalereien zu schützen.

Évaluation sanitaire

Pour discuter des résultats, quelques valeurs de référence et d'orientation pour les espaces intérieurs sont utilisées. Toutefois, elles ne sont évidemment pas directement applicables aux grottes. Selon l'OMS, une charge allant jusqu'à 500 UFC/m³ est acceptable pour un mélange d'espèces fongiques typique de l'environnement. Selon la SUVA, la valeur d'orientation pour la Suisse est de 1'000 UFC/m³ au maximum. Selon l'European Collaborative Action on Urban Air, Indoor Environment and Human Exposure, les valeurs <1'000 UFC/m³ sont considérées comme moyennement polluantes. Une comparaison avec l'air extérieur peut toutefois s'avérer utile. Au Hölloch, on a donc mesuré en février une charge relativement faible en UFC dans l'air, avec 60-100 UFC/m³ (bactéries comprises). Des genres très différents ont été trouvés. En revanche, selon le lieu d'échantillonnage et la saison, on a mesuré au Nidlenloch entre 50 et 2'210 UFC/m³ (sans simulation d'utilisation). Les espèces dominantes étaient *Aspergillus*, *Penicillium*/*Talaromyces* et *Trichoderma*. Les plus fortes concentrations ont été enregistrées en décembre (le mois où l'on devrait s'attendre à recevoir le moins de visiteurs). La contamination de l'air extérieur à proximité du Nidlenloch en février était nettement plus faible (<270 UFC/m³). Ici, c'est surtout *Cladosporium* qui dominait. Ainsi, la composition des moisissures au Nidlenloch, du moins dans le bivouac 3 et peut-être aussi dans la Forsterhalle, s'avère même plus problématique pour la santé que l'air extérieur. La charge au Nidlenloch peut donc, dans certaines circonstances, entraîner des problèmes de santé chez les personnes allergiques aux moisissures ou dont le système immunitaire est affaibli.

Regard critique sur la méthode

Il faudrait réfléchir davantage à la température d'incubation dans les grottes. Dans cette étude, une méthode standard relative aux habitations humaines a été utilisée pour pouvoir se prononcer sur l'importance sanitaire. D'autres études ont toutefois montré qu'une température d'incubation supérieure à la température des grottes pouvait supprimer certaines espèces aimant et tolérant le froid (Vanderwolf et al., 2013).

La réalisation d'une simulation d'utilisation devrait également faire l'objet d'une réflexion approfondie. Il faudrait trouver une simulation d'utilisation qui se rapproche le plus possible des mouvements ou travaux habituels dans la grotte. Par exemple, lors de contrôles de désamiantage, des simulations d'utilisation sont effectuées avant les mesures de l'air. Pour ce faire, la norme allemande VDI3492 prévoit de souffler à 4 m/s sur une surface d'au moins 5 m², à une distance maximale de 5 m du point de mesure (au moyen d'un sèche-cheveux). Il s'agit ainsi de s'assurer que les poussières qui se sont déposées dans l'environnement normalement sec de la zone d'assainissement sont mobilisées (FACH, 2022). Selon la norme, d'autres moyens auxiliaires peuvent être utilisés pour la mise en suspension (chute d'objets, rebondissement de balles). Une telle simulation n'est bien sûr pas adaptée à la grotte, mais une méthodologie adaptée à "l'utilisation de la grotte" pourrait être appliquée en s'en inspirant. Il faudrait cependant veiller à ce que la simulation ne contamine pas la zone de mesure (p. ex. par des spores introduites sur le matériel apporté).

Conclusion

En résumé, nous pouvons tirer ici quelques conclusions des études menées :

- Les analyses par échantillonnage direct des champignons et par prélèvement de films adhésifs (suivis d'une détermination microscopique) ne semblent être que partiellement appropriées en raison des formes de croissance spécifiques aux grottes. En revanche, les mesures de l'air peuvent être utilisées pour obtenir des informations sur l'importance sanitaire.
- Les mesures de l'air représentent un instantané, car le climat de la

Exposure sind Werte <1'000 KBE/m³ als mittelbelastet anzusehen. Dabei kann aber auch ein Vergleich mit der Aussenluft sinnvoll sein. Im Hölloch wurde im Februar mit 60-100 KBE/m³ (inkl. Bakterien) also eine relativ tiefe Belastung der Luft mit KBE gemessen. Dabei wurden sehr unterschiedliche Gattungen vorgefunden. Je nach Beprobungsort und je nach Jahreszeit wurden im Nidlenloch dagegen 50-2'210 KBE/m³ gemessen (ohne Nutzungssimulation). Dominierend waren hier *Aspergillus*, *Penicillium*/*Talaromyces* und *Trichoderma*. Dabei wurden die höheren Vorkommen im Dezember registriert (dem Monat, wo eigentlich am wenigsten Besucher zu erwarten wären). Die Belastung der Aussenluft in der Nähe vom Nidlenloch im Februar lag deutlich tiefer (<270 KBE/m³). Hier dominierte vor allem *Cladosporium*. Damit fällt die Schimmelpilzzusammensetzung im Nidlenloch, zumindest im Bivouac 3 und möglicherweise auch in der Forsterhalle, gesundheitlich sogar eher problematischer aus als die Aussenluft. Die Belastung im Nidlenloch kann also unter Umständen bei Personen mit Allergien auf Schimmelpilze oder mit geschwächtem Immunsystem zu gesundheitlichen Beschwerden führen.

Kritischer Blick auf die Methode

Es müssten sich weitere Überlegungen zur Inkubationstemperatur gemacht werden. In dieser Studie wurde eine Standardmethode für die Untersuchung von Wohnbereichen gemacht wurde, um eine Aussage über die gesundheitliche Bedeutung machen zu können. Andere Studien zeigten aber, dass bei einer Inkubationstemperatur, die höher ist als die Höhlentemperatur, gewisse kälteliebende und -tolerante Arten unterdrückt werden könnten (Vanderwolf et al., 2013).

Die Durchführung einer Nutzungssimulation müsste ebenfalls vertieft überlegt werden. Es sollte eine Nutzungssimulation gefunden werden, welche üblichen Bewegungen/Arbeiten in der Höhle möglichst nahe kommt. Es werden zum Beispiel auch bei Kontrollen von Asbestsanierungen Nutzungssimulationen vor Luftmessungen durchgeführt. Dazu wird nach der deutschen VDI3492-Norm eine Fläche von mindestens 5 m² mit einem maximalen Abstand von 5 m von der Messstelle mit 4 m/s angeblasen (mittels Haarföhn). So soll sichergestellt werden, dass liegengebliebener Staub in der normalerweise trockenen Umgebung der Sanierungszone mobilisiert wird (FACH, 2022). Gemäss der Norm können auch andere Hilfsmittel zur Aufwirbelung genutzt werden (Fallenlassen von Objekten, Pellen von Bällen). Eine solche Simulation ist für die Höhle natürlich nicht sinngerecht, allerdings könnte in Anlehnung daran, eine Methodik angewendet werden, die der „Höhlennutzung“ gerecht wird. Dabei müsste aber darauf geachtet werden, dass durch die Simulation das Messgebiet nicht kontaminiert wird (z.B. durch auf mitgebrachter Ausrüstung eingeschleppte Sporen).

Fazit

Zusammenfassend können wir hier einige Schlussfolgerungen aus den durchgeführten Untersuchungen ziehen:

- Untersuchungen mittels direkter Beprobung von Pilzen sowie durch Klebefilmproben (mit anschliessender mikroskopischer Bestimmung) scheinen wegen den höhlenspezifischen Wachstumsformen nur bedingt geeignet zu sein. Dagegen können Luftmessungen gut eingesetzt werden, um Informationen bezüglich gesundheitlicher Relevanz zu erhalten.
- Die Luftmessungen stellen eine Momentaufnahme dar, da das Höhlenklima einen Einfluss auf die Menge und Zusammensetzung der KBE in der Luft hat.
- Schimmelpilze in den untersuchten Höhlen wurden visuell hauptsächlich bei Anhäufungen organischer Materie, wie Fledermauskot, Kadavern von Tieren und Insekten sowie bei Nahrungsmittelresten menschlichen Ursprungs festgestellt.
- *Aspergillus*, *Cladosporium* und *Penicillium*/*Talaromyces* bildeten bei den hier beschriebenen Proben oft die dominierenden Gattungen, was

La microbiologie de la grotte de Lascaux

d'après Bastian et al. (2010)

La grotte de Lascaux en France est connue pour ses peintures murales paléolithiques uniques. Après sa découverte en 1940, elle a été très visitée par l'homme, ce qui a eu un impact important sur l'écologie des grottes. Dans les années 1960, la forte croissance d'algues provoquée par l'éclairage a entraîné la première crise microbienne et la fermeture de la grotte en 1963 afin de protéger les peintures. Jusqu'en 1969, plusieurs nettoyages à la streptomycine, à la pénicilline et au formaldéhyde ont été effectués.

En 2001, une épidémie du champignon *Fusarium solani* et de la bactérie *Pseudomonas fluorescens* qui lui est associée a été détectée ; la deuxième crise microbienne avait commencé. Les associations microbiennes se sont développées sous la forme d'une couche blanche et duveteuse. Des traitements au chlorure de benzalkonium (Vitalub QC50), à la streptomycine, à la polymyxine et à l'oxyde de calcium ont été effectués. A partir de 2004, des nettoyages mécaniques et des purifications de l'air ont été effectués.

En 2003, un dépôt noir a été constaté sur des peintures. Mais ce n'est qu'en 2006 qu'une propagation a été décrite à partir de là, ce qui a marqué le début de la troisième crise microbienne. Les genres de champignons *Verticillium* et *Scolecobasidium* ont été détectés dans les revêtements. C'est surtout ce dernier champignon qui produit la mélanine foncée. La lutte a ensuite été menée principalement par nettoyage mécanique et avec des dérivés d'ammonium. On a émis l'hypothèse que l'utilisation de chlorure de benzalkonium à partir de 2001 avait renforcé la propagation de *Scolecobasidium*, car celui-ci peut utiliser cette substance comme source de carbone et d'azote. En outre, on a pu observer que les collemboles se nourrissaient de champignons *Fusarium*, ce qui favorisait d'une part une propagation rapide des champignons sur d'autres surfaces, mais laissait en même temps des traces noires d'excréments, ce qui favorisait encore la formation de taches sombres.

La composition microbienne de la grotte de Lascaux contient aujourd'hui de nombreux pathogènes humains potentiels, ce qui fait d'une visite de la grotte un risque pour la santé. Cette évolution dramatique peut être attribuée à des décennies d'intervention humaine dans l'écologie de la grotte, visant à présenter la grotte aux visiteurs tout en protégeant les peintures rupestres.

grotte a une influence sur la quantité et la composition des UFC dans l'air.

- Les moisissures dans les grottes étudiées ont été observées visuellement principalement dans les accumulations de matière organique, comme les excréments de chauves-souris, les cadavres d'animaux et d'insectes, ainsi que dans les restes de nourriture d'origine humaine.
- *Aspergillus*, *Cladosporium* et *Penicillium*/*Talaromyces* ont souvent constitué les genres dominants dans les échantillons décrits ici, ce qui est également rapporté dans d'autres études, par exemple dans la grotte de Movile en Roumanie (Nováková et al., 2017). Selon Vanderwolf et al. (2013) et Suetrong et al. (2023), les autres genres trouvés sont également plutôt des "habitants des grottes" typiques.
- Au Hölloch, on a mesuré en février une faible contamination de l'air avec <100 UFC/m³. Au Nidlenloch, en revanche, des valeurs >1'000 UFC/m³ ont été trouvées localement (selon la saison). La pollution de l'air par des germes au Nidlenloch peut donc être qualifiée de suspecte d'un point de vue sanitaire.

- auch in anderen Studien so berichtet wird, z.B. aus der Movile-Höhle in Rumänien (Nováková et al., 2017). Auch die anderen vorgefundenen Gattungen sind gemäss Vanderwolf et al. (2013) und Suetrong et al. (2023) eher typische «Höhlenbewohner».
- Im Hölloch wurde im Februar mit <100 KBE/m³ eine tiefe Belastung der Luft gemessen. Im Nidlenloch wurden dagegen (je nach Jahreszeit) lokal Werte >1'000 KBE/m³ vorgefunden. Die Luftbelastung mit Keimen im Nidlenloch kann aus gesundheitlicher Sicht also als auffällig bezeichnet werden.
 - Für zukünftige Luftkeimmessungen sollten sich Gedanken zu Nutzungssimulationen und zu den Kultivierungsbedingungen (Temperatur) der eingefangenen Sporen gemacht werden.

Ausblick

Die hier beschriebenen Probenahmen geben einen Einblick in die wenig untersuchte Pilzwelt in Höhlen der Schweiz. Es wäre wünschenswert, in weiteren Studien die Verbreitung und Verteilungen von Pilzen in Höhlen sowie deren Einfluss auf andere Organismen und Höhlenbesucher genauer zu untersuchen. Ein besseres Verständnis der höhlenbewohnenden Pilze, ihrer Ökologie und Verschleppung kann uns helfen diese fragilen Systeme besser zu schützen und auf allfällige Neobiota richtig zu reagieren, denn ein europäisches Äquivalent zum «white-nose syndrome» kann nicht ausgeschlossen werden.

Genetische Untersuchungen auf Basis von DNA, auch von Höhlensedimenten oder Höhlengewässern, könnten ein umfangreicheres Bild über die Pilzwelt in Höhlen geben, allerdings werden so viele Pilzarten mitbestimmt, welche sich zum Beprobungszeitpunkt in einem inaktiven Zustand befinden können, sei es weil es sich um ruhende Sporen oder um Fragmente abgestorbener Pilze handelt. Auf RNA-basierende Untersuchungen können genutzt werden, um aktive von inaktiven Mikroorganismen zu unterscheiden.

Da die durch Menschen eingetragene organische Substrate zu potenziellen Pilzausbreitungen und danach gesundheitlichen Risiken in Höhlen führen können, ist es wichtig, dass bei Höhlenreinigungen nach Möglichkeit auch durch den Menschen eingetragene biologische Abfälle heraustragen werden. So kann eine zusätzliche Störung und Belastung der Höhlenwelt durch organische Materie verhindert werden.

Danksagung

Die Verwaltung Nidlenloch gab den Ansporn und die Unterstützung, diese Untersuchungen durchzuführen. Hanspeter Jenny machte diese Untersuchungen überhaupt möglich durch seine unermüdliche Pro-Bono-Laborarbeit (Schimmelpilzlabor Jenny GmbH). Andreas von Gunten leistete Fahrdienst und half bei der Logistik. Mitglieder der AGN und AGH unterstützten die Probenahmen mit Material und Manpower. Insbesondere möchte ich hier Marco Faggi, Hansjürg Welti, Urs Sandfuchs, Beat Heeb, Jonny Schönenberger, Magdalena Hubmann, Tinu Reber, Mü Widmer, Tom Hermann et Erwin Tschümperlin. Magdalena Hubmann et Christian Lüthi ont apporté leur soutien en procédant à l'examen critique et à la relecture du manuscrit.

●

●

- Pour les futures mesures de germes dans l'air, il faudrait réfléchir à des simulations d'utilisation et aux conditions de culture (température) plus adaptées des spores capturées.

Perspectives

Les prélèvements décrits ici donnent un aperçu du monde peu étudié des champignons dans les grottes de Suisse. Il serait souhaitable d'étudier plus en détail la distribution et la répartition des champignons dans les grottes, ainsi que leur influence sur les autres organismes et les visiteurs des grottes, dans le cadre d'autres études. Une meilleure compréhension des champignons vivant dans les grottes, de leur écologie et de leur propagation peut nous aider à mieux protéger ces systèmes fragiles et à réagir correctement à d'éventuels néobiotes, car un équivalent européen du "syndrome du nez blanc" ne peut pas être exclu.

Les analyses génétiques basées sur l'ADN, y compris celles des sédiments ou des eaux des grottes, pourraient donner une image plus complète de la vie fongique dans les grottes, mais elles mettent en évidence de nombreuses espèces de champignons qui peuvent être inactives au moment de l'échantillonnage, soit parce qu'il s'agit de spores dormantes, soit parce qu'il s'agit de fragments de champignons morts. Les analyses basées sur l'ARN peuvent être utilisées pour distinguer les microorganismes actifs des microorganismes inactifs.

Étant donné que les substrats organiques apportés par l'homme peuvent entraîner une propagation potentielle de champignons et ensuite des risques pour la santé dans les grottes, il est important que les déchets non inertes soient également évacués dans la mesure du possible lors des nettoyages de grottes. Cela permet d'éviter une perturbation et une pollution supplémentaires du monde des grottes par des matières organiques.

Remerciements

L'administration du Nidlenloch a donné l'impulsion et le soutien nécessaires à la réalisation de ces analyses. Hanspeter Jenny a rendu ces analyses possibles grâce à son infatigable travail de laboratoire pro bono (Schimmelpilzlabor Jenny GmbH). Andreas von Gunten a assuré le service de transport et a aidé à la logistique. Les membres de l'AGN et de l'AGH ont soutenu les prélèvements en fournissant du matériel et de la main-d'œuvre. J'aimerais remercier ici en particulier Marco Faggi, Hansjürg Welti, Urs Sandfuchs, Beat Heeb, Jonny Schönenberger, Magdalena Hubmann, Tinu Reber, Mü Widmer, Tom Hermann et Erwin Tschümperlin. Magdalena Hubmann et Christian Lüthi ont apporté leur soutien en procédant à l'examen critique et à la relecture du manuscrit.

●

Bibliographie

- ALVES, V. C. S., LIRA, R. A., LIMA, J. M. S., BARBOSA, R. N., BENTO, D. M., BARBIER, E., ... & BEZERRA, J. D. P. (2022). Unravelling the fungal darkness in a tropical cave: richness and the description of one new genus and six new species. *Fungal Systematics and Evolution*, 10(1), 139-167.
- AGN. (2024). AGN-Tourendatenbank. URL: <https://touren.agn-solothurn.ch> [besucht Dezember 2024]
- BASTIAN, F., JURADO, V., NOVÁKOVÁ, A., ALABOUVETTE, C., & SÁIZ-JIMÉNEZ, C. (2010). The microbiology of Lascaux cave. *Microbiology*, 156(3), 644-652.
- BLV. (2023). Infektion bei Schwanzlurchen mit Batrachochytrium salamandrivorans. URL: <https://www.blv.admin.ch/blv/de/home/tiere/tierseuchen/uebersicht-seuchen/alle-tierseuchen/infektion-schwanzlurchen.html> [besucht Dezember 2024]
- BORZECKA, J., PIECUCH, A., KOKUREWICZ, T., LAVOIE, K. H., & OGÓREK, R. (2021). Greater mouse-eared bats (*Myotis myotis*) hibernating in the Nietoperek bat Reserve (Poland) as a vector of airborne culturable fungi. *Biology*, 10(7), 593.
- DICKSON, G. W., & KIRK, P. W. (1976). Distribution of heterotrophic microorganisms in relation to detritivores in Virginia caves (with supplemental bibliography on cave mycology and microbiology). The distributional history of the biota of the southern Appalachians. Part IV. Algae and Fungi. University Press of Virginia, 205-226.
- DOMINGUEZ-MOÍNO, I., JURADO, V., ROGERIO-CANDELER, M. A., HERMOSIN, B., & SAIZ-JIMENEZ, C. (2021). Airborne fungi in show caves from Southern Spain. *Applied Sciences*, 11(11), 5027.
- DOMSCH, K.H., GAMS, W. AND ANDERSON, T.H. (1993). Compendium of soil fungi vol.I London: Academic Press.
- DUPONT, J., JACQUET, C., DENNETIERE, B., LACOSTE, S., BOUSTA, F., ORIAL, G., ... & ROQUEBERT, M. F. (2007). Invasion of the French Paleolithic painted cave of Lascaux by members of the *Fusarium solani* species complex. *Mycologia*, 99(4), 526-533.
- FACH (Forum Asbest Schweiz). (2022). Asbestsanierungen: Visuelle Kontrollen und Raumluftmessungen. Ein Leitfaden für Fachpersonen in den Bereichen Fachplanung, Fachbauleitung, Asbestsanierung und Raumluftmessungen. Publikation 2955.d.
- FEUSI, A. (2018). Wie das Hölloch zur Touristenattraktion wurde. *NZZ*, 22.01.2018.
- FINCHER, R. M. E., FISHER, J. F., LOVELL, R. D., NEWMAN, C. L., ESPINEL-INGROFF, A., & SHADOMY, H. J. (1991). Infection due to the fungus *Acremonium* (*Cephalosporium*). *Medicine*, 70(6), 398-409.
- HELD, B. W., SALOMON, C. E., & BLANCHETTE, R. A. (2020). Diverse subterranean fungi of an underground iron ore mine. *PLoS One*, 15(6), e0234208.
- HERMANN, T., & BÄHLER, M. (2013). Der Eggschacht. *Stalactit*, 63(1), 19-24.
- HOYT, J. R., KILPATRICK, A. M., & LANGWIG, K. E. (2021). Ecology and impacts of white-nose syndrome on bats. *Nature Reviews Microbiology*, 19(3), 196-210.
- info fauna (2024). Chytridiomykose - Eine gefährliche Pilzerkrankung der Amphibien. URL: <https://www.infofauna.ch/de/beratungsstellen/amphibien-karch/die-amphibien/krankheiten/chytridiomykose#gsc.tab=0> [besucht Dezember 2024]
- MARTIN-POZAS, T., NOVÁKOVÁ, A., JURADO, V., FERNANDEZ-CORTES, A., CUEZVA, S., SAIZ-JIMENEZ, C., & SANCHEZ-MORAL, S. (2022). Diversity of microfungi in a high radon cave ecosystem. *Frontiers in Microbiology*, 13, 869661.
- MEYER, S. (2020). Der Salamanderfresser im Karst – ein aggressiver Hautpilz erfordert Verhaltensänderungen bei Höhlenforschern. *Mitt. Verb. dt. Höhlen- u. Karstforscher*, 66(4), 119 – 124.
- MUHAMMED, M., CARNEIRO, H., COLEMAN, J., & MYLONAKIS, E. (2011). The challenge of managing fusariosis. *Virulence*, 2(2), 91-96.
- MORRISSEY, C. O., KIM, H. Y., GARNHAM, K., DAO, A., CHAKRABARTI, A., PERFECT, J. R., ... & BEARDSLEY, J. (2024). Mucorales: A systematic review to inform the World Health Organization priority list of fungal pathogens. *Medical Mycology*, 62(6), myad130.
- NOVÁKOVÁ, A., HUBKA, V., VALINOVÁ, Š., KOLAŘÍK, M., & HILLEBRAND-VOICULESCU, A. M. (2018). Cultivable microscopic fungi from an underground chemosynthesis-based ecosystem: a preliminary study. *Folia Microbiologica*, 63, 43-55.
- OGÓREK, R., DYLAŁ, M., KOZAK, B., VIŠŇOVSKÁ, Z., TANČINOVÁ, D., & LEJMAN, A. (2016). Fungi isolated and quantified from bat guano and air in Harmaneccka and Driny caves (Slovakia). *Journal of Cave & Karst Studies*, 78(1).
- ÖZAVCI, V., & KIRKAN, Ş. (2014). The role of *Mortierella* spp. in mycotic infections and using of in different fields. *Anim Heal Prod Hyg*, 3(2), 304-309.
- Robert Koch Institut. (2024). Histoplasmose. URL: <https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/P/Pilzinfektionen/Histoplasmose.html> [besucht Januar 2025]
- SUETRONG, S., PREEDANON, S., KOBMOO, N., SRIHOM, C., SOMRITHIPOL, S., SAENGKAEWSUK, S., ... & BOONYUEN, N. (2023). Unravelling the hidden diversity of cave mycobiota in Thailand's Satun Geopark. *Scientific Reports*, 13(1), 19162.
- VANDERWOLF, K. J., MALLOCH, D., MCALPINE, D. F. F., & GRAHAM, J. (2013). A world review of fungi, yeasts, and slime moldes in caves.
- Vanderwolf, K. J., Malloch, D., & McAlpine, D. F. (2016). Fungi on white-nose infected bats (*Myotis* spp.) in Eastern Canada show no decline in diversity associated with *Pseudogymnoascus destructans* (Ascomycota: Pseudeurotiaceae). *International Journal of Speleology*, 45(1), 5.
- WANG, W., MA, X., MA, Y., MAO, L., WU, F., MA, X., ... & FENG, H. (2010). Seasonal dynamics of airborne fungi in different caves of the Mogao Grottoes, Dunhuang, China. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64(6), 461-466.