AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE
Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires
Ecole doctorale Ressources Procédés Produits Environnement
Laboratoire des Réactions et du Génie des procédés
Oxylane SA

THESE

Préparée par

Françoise LEAL

En vue d'obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Spécialité : Procédés biotechnologiques et Alimentaires

ETUDE DE LA PRODUCTION ET DE L'EMANATION DE COMPOSES VOLATILS MALODORANTS SUR TEXTILE A USAGE SPORTIF

Soutenue à huis clos le 4 novembre 2011 devant la commission d'examen

Rapporteur

Hervé PREVOST	Professeur ENITIAA, Nantes
Laurence SCHACHER	Professeur ENSISA, Mulhouse

Co-directeurs de thèse

M Emmanuel RONDAGS	Maître de conférences, INPL, Nancy
M Vincent VENTENAT	Oxylane SA, Villeneuve d'Ascq

Directeur de thèse

Mme Isabelle CHEVALOT	Professeur, INPL, Nancy

Table des matières

Chapitre 1 : Etude bibliographique 19

1. Histologie cutanée 21
   1.1. L'hypoderme 22
   1.2. Le derme 22
      Mécanismes de régulation thermique 22
      Les glandes exocrines cutanées 22
   1.3. L'épiderme 30
      1.3.1. Les lipides de l'épiderme 31
      1.3.2. Fonction de la couche cornée de l'épiderme 34
   1.4. Caractéristiques de la peau en tant qu'habitat microbien 35
2. La colonisation bactérienne 36
   2.1. Colonisation de la peau 37
   2.2. Colonisation du stratum corneum au niveau de l'aisselle 38
      2.2.1. Variations observées entre les sexes 39
      2.2.2. Variations observées au cours du temps 39
   2.3. Colonisation des follicules pileux 39
   2.4. Mécanismes d'adhésion 40
   2.5. Formation des composés odorants par la flore commensale 41
      2.5.1. Dégradation bactérienne des stéroïdes d'origine apocrine 42
      2.5.2. Production d'acides gras volatils 42
      2.5.3. Dégradation bactérienne des acides gras insaturés et méthylbranchés 43
      2.5.4. Dégradation des acides aminés 44
      2.5.5. Formation de l'acide 3-méthyl-2-hexenoïque 44
      2.5.6. Elimination biologique des odeurs 45
   2.6. Schéma récapitulatif 45
3. Perception des odeurs 47
   3.1. Caractéristiques d'une molécule odorante 47
   3.2. Physiologie de l'olfaction 47
      3.2.1. La muqueuse olfactive 47
      3.2.2. L'organe voméronasal 48
      3.2.3. Intégration du signal olfactif par le cerveau 49

3.2.4. Le seuil de détection 50

4. Interaction des micro-organismes et des molécules odorantes avec le textile 52
4.1. Notion d'odeur primaire et secondaire 53
4.2. Influence de la nature du textile sur les émissions odorantes 53
4.2.1. Rôle de la morphologie de la fibre 54
4.2.2. Impact de la pression de vapeur de la molécule odorante 55

5. Conclusion 57

Introduction aux résultats 58

Chapitre 2 : Matériel et méthodes 61

1. Caractéristiques des composants textiles utilisés dans cette étude 62
1.1. Matières utilisées 62
1.1.1. Le polyéthylène téréphtalate 63
1.1.2. Le polyamide 6,6 63
1.1.3. L'élasthanne 64
1.1.4. Le coton 66
1.2. Calcul de la surface spécifique d'un composant 67
1.3. Energie de surface des fibres utilisées 69
2. Protocoles avec testeurs 70
2.1. Etude de l'impact de la flore sur les odeurs (chapitre 3) 70
2.2. Etude de l'interaction flore-textile et de l'effet textile (chapitres 4 et 5) 71
3. Microbiologie 72
3.1. Matériel de microbiologie 72
3.2. Réactifs pour milieux de culture 73
3.3. Souches pures utilisées durant ces travaux 73
3.4. Méthode de collecte bactérienne sur la peau 73
3.5. Méthode de collecte bactérienne sur textile 74
3.6. Calcul de la concentration bactérienne sur la peau et sur textile 74
4. Biologie moléculaire 76
4.1. Matériel 76
4.2. Réactifs utilisés en biologie moléculaire 77

4.3. Solutions tampon 78
4.4. Méthodes pour la réalisation de la TTGE 79
4.4.1. Principe de la TTGE 79
4.4.2. Protocoles d'extraction d'ADN total 81
4.4.3. Protocoles d'amplification d'ADN 82
4.4.4. Protocoles d'électrophorèses 84
4.4.5. Traitement des résultats 85
4.4.6. Mesure des seuils de détection par TTGE 85

5. Mesure des émissions odorantes 86
5.1. Panel entraîné 86
5.2. Evaluation selon la méthode interne à l'entreprise (panel restreint) 87
5.3. Chromatographie phase gazeuse/spectromètre de masse - port olfactif 87
5.4. Nez électronique 87
5.4.1. Identification par indice de Kovatz 88
5.4.2. Paramètres d'utilisation du nez électronique 89

6. Statistiques 89
6.1. Tests statistiques 89
6.2. L'analyse en composantes principales (ACP) 90

Chapitre 3 : Rôle du transfert de la flore bactérienne cutanée dans l'émission des odeurs sur textile synthétique (PET) 92

1. Etudes préliminaires 95
1.1. Evaluation de la concentration bactérienne initiale du textile 95
1.2. Effet localisation et mode de prélèvement 95
1.3. Conclusions sur l'étude préliminaire 102

2. Quantification de la concentration bactérienne sur PET et sur la peau pour 14 sujets 103
2.1. Evaluation de la concentration bactérienne présente sur la peau 104
2.2. Evaluation de la concentration bactérienne sur textile 105
2.3. Taux de transfert 106

3. Caractérisation des émissions de composés odorants 108
3.1. Mesure des émissions odorantes par chromatographie en phase gazeuse 108

3.2. Mesure des émissions odorantes par panel entraîné 109
3.2.1. Note globale attribuée aux vêtements par le panel entraîné 110
3.2.2. Descripteurs intermédiaires évalués par le panel entraîné 110
3.3. Caractérisation des échantillons par un panel restreint 112
4. Corrélations entre les dénombrements et les mesures d'odeurs 113
5. Discussion sur les dispositifs de mesure 116
6. Conclusion 118

Chapitre 4 : Evaluation de la biodiversité présente sur textile 121

1. Evaluation qualitative de la biomasse 123
1.1. Intérêt de la TTGE 123
1.2. Adaptation de la méthode de TTGE à la flore cutanée 125
1.3. Calibration de la méthode de TTGE 126
2. Etude de l'effet « latéralité » au cours du temps sur la flore bactérienne 128
3. Etude de la flore bactérienne transférée sur les matières testées 132
3.1. Transfert peau/PET 132
3.2. Transfert peau/PA 6,6 135
3.3. Transfert peau/ PA6,6-EA 137
3.4. Transfert peau/coton 138
4. Impact des propriétés de surface des matières testées sur le transfert 139
5. Impact du taux de transfert sur la perception olfactive 140
6. Conclusions 143
7. Perspectives 145

Chapitre 5 : Effet du textile sur les émanations odorantes 146

1. Démarche expérimentale 148
2. Quantification des émissions odorantes 149
2.1. Principe 149
2.2. Résultats 151
2.3. Comparaison avec les mesures olfactives 154

3. Etude qualitative de la désorption sur différents textiles 156
3.1. Exemple d'analyse sur 2 composants..... 156
3.2. Ensemble des composés chimiques détectés sur textile usagé..... 159
3.3. Comparaison avec les mesures olfactives 162
3.4. Choix d'indicateurs de mauvaises odeurs 162
3.5. Rôle du composant dans la perception des odeurs 164
3.5.1. Etude des composants mono-matière 164
3.5.2. Etude des composants bi-matière 165
3.5.3. Etude de l'effet élasthanne 167

4. Conclusions 168

5. Perspectives 170

Conclusions générales Perspectives 174

Références bibliographiques 180

Annexes 192

Table des figures

Figure 1 : Schéma de la peau et des différents organites impliqués dans la thermorégulation (d'après Campbell, 1995 ; Scrivener et Cribier, 2002) 21

Figure 2 : Glandes sébacées associées à un follicule pileux (d'après Catala et al, 2007) 23

Figure 3 : Localisation des glandes apocrines (d'après Scrivener et Cribier, 2002) 25

Figure 4 : Schéma d'une glande apocrine (d'après Catala, 2007) 25

Figure 5 : Répartition des glandes sudoripares eccrines sur le corps humain (d'après Scrivener et Cribier, 2002 ; Arens et Zhang, 2006) 26

Figure 6 : Schéma de coupe d'une glande eccrine, d'après (Campbell, 1995 ; Scrivener et Cribier, 2002) 27

Figure 7 : Rôle des différents micro-organismes dans l'écosystème bactérien (d'après James et al, 2004) 46

Figure 8 : Schéma de la muqueuse olfactive, (Catala et al, 2007) 48

Figure 9 : Position des variations les plus importantes dans la famille des protéines olfactives. Les cylindres représentent les 7 hélices α présumées qui traversent la membrane plasmique d'un cil olfactif. Les parties blanches représentent les séquences peptidiques variables. Les domaines III, IV et V ont montré la plus grande variabilité. (Buck and Axel, 1991) 50

Figure 10 : Quantités moyennes en ppm d'acides carboxyliques relarguées au bout de 24 heures et 7 jours par la laine, le coton et le PET après porter pendant 24 heures, d'après (Mac Queen et al, 2008) 54

Figure 11 : Images obtenues par microscopie électronique à balayage (A ,C , E, G) et rayons X (B, D, F, H) de coupe**s** transversales de composants en coton (1) et en PET (2) traités avec du Rozalva ® après 70 min (A, B, E, F) et 480 min (C, D, G, H) 55

Figure 12 : Quantité résiduelle de molécules volatiles odorantes utilisées dans la formulation des lessives en fonction de la nature du matériau et de la pression de vapeur des composés chimiques considérés 55

Figure 13 : Présentation du système de l'étude 59

Figure 14 : Motif élémentaire du polyéthylène téréphtalate. D'après Carrega (2007) 63

Figure 15 : Photographie au microscope électronique à balayage d'une fibre de PET 63

Figure 16 : Motif élémentaire du polyamide 6,6, connu sous le nome commercial Nylon® 64

Figure 17 : Photographie au microscope électronique à balayage d'une fibre de polyamide 6,6 64

Figure 18 : Motif élémentaire du polyuréthane, copolymère entrant dans la composition du Lycra ® 65

Figure 19 : Motif élémentaire de polyurée, copolymère entrant dans la composition du Lycra ® ... 65

Figure 20 : Photographie au microscope électronique à balayage d'un tricot réalisé en fil d'élasthanne 65

Figure 21 : Formule de la cellulose, molécule constitutive de la matière coton 66

Figure 22 : Photographie au microscope électronique à balayage d'une fibre de coton..... 66

Figure 23 : Principe succinct de la TTGE 80

Figure 24 : Programmes de température de PCR 84

Figure 25 : Représentation aplanie du Champ des Odeurs, d'après Jaubert, 1983..... 86

Figure 26 : Hypothèses sur les mécanismes de production et d'émission des odeurs de transpiration sur composant textile..... 93

Figure 27 : Distribution des dénombrements cutanés obtenus réalisés dans le cadre de l'étude préalable. 99

Figure 28 : Comparaison par sujet des résultats de dénombrement exprimés en base 10 pour la peau et le textile. 104

Figure 29 : Notes olfactives attribuées aux échantillons textiles par le panel entraîné.....110

Figure 30 : Notes olfactives attribuées aux 14 échantillons textiles par le panel restreint.....113

Figure 31 : Méthode de détermination de profils bactériens modifiée pour les échantillons à faible concentration en ADN.....126

Figure 32 : Détection des bandes de TTGE.....129

Figure 33 : Comparaison des profils obtenus entre les aisselles droite et gauche pour un sujet prélevé régulièrement sur une période de 3 mois 130

Figure 34 : Profils de TTGE caractérisant l'écosystème bactérien de l'aisselle et du textile (composant 1) 133

Figure 35 : Profils de TTGE caractérisant l'écosystème bactérien de l'aisselle et du textile (composant 2) 135

Figure 36 : Profils de TTGE caractérisant l'écosystème bactérien de l'aisselle et le textile (composant 3) 137

Figure 37 : Profils de TTGE caractérisant l'écosystème bactérien de l'aisselle et du textile (composant 4) 138

Figure 38 : Carte olfactive du composant 1 (100 % PET) obtenue par traitement en ACP des chromatogrammes réalisés.....150

Figure 39 : Evolution des distances statistiques propre-usagé pour le composant 1 (100 % PET). ...151

Figure 40 : Distances statistiques maximales observées entre les échantillons propres sur l'axe de la composante principale.....152

Figure 41 : Distances statistiques propre-usagé pour les 8 composants testés et traités par ACP...153

Figure 42 : Intensité olfactive au cours du temps évaluée par le panel restreint pour les 8 composants testés 154

Figure 43 : Chromatogrammes obtenus pour le composant 1 (100 % PET) sur les 2 colonnes chromatographiques (1, apolaire, et 2, légèrement polaire). 156

Figure 44 : Chromatogrammes obtenus pour le composant 2 (100 % PA) sur les 2 colonnes chromatographiques 158

Figure 45 : Evolution de l'intensité de l'odeur perçue par le panel restreint au cours du temps pour les 3 composants constitués d'un seul matériau Le PET (composant 1), le PA 6,6 (composant 2) et le coton (Composant 4) 165

Figure 46 : Evolution de l'intensité de l'odeur perçue par le panel restreint au cours du temps sur PET (composant 1), PA 6,6 (composant 2) et mélange PA6,6 /PET (composant 5) 166

Figure 47 : Evolution de l'intensité de l'odeur perçue par le panel restreint pour les composants contenant de l'élasthanne. 167

Figure 48 : Mécanismes possibles pour un textile anti-odeurs 171

Figure 49 : Schématisation des 3 modes d'émissions de composés odorants après la pratique sportive 172

Figure 50 : Chromatogrammes obtenus sur les 2 colonnes chromatographiques (DB 5, apolaire, et DB1701, légèrement polaire). XVII

Figure 51 : Chromatogrammes obtenus pour le composant 2 sur les 2 colonnes chromatographiques XVIII

Figure 52 : Chromatogrammes obtenus pour le composant 3 sur les 2 colonnes chromatographiques XIX

Figure 53 : Chromatogrammes obtenus pour le composant 4 sur les 2 colonnes chromatographiques XX

Figure 54 : Chromatogrammes obtenus pour le composant 5 sur les 2 colonnes chromatographiques XXI

Figure 55 : Chromatogrammes obtenus pour le composant 6 sur les 2 colonnes chromatographiques XXII

Figure 56 : Chromatogrammes obtenus pour le composant 7 sur les 2 colonnes chromatographiques XXIII

Figure 57 Chromatogrammes obtenus pour le composant 8 sur les 2 colonnes chromatographiques XXIV

Table des tableaux

Tableau 1 : Composition des lipides présents sur l'épiderme (d'après Nicolaides, 1974) 24

Tableau 2 : Composition de la sueur eccrine (d'après Agache et al, 2000) 28

Tableau 3 : Teneur en acides aminés de la sueur eccrine sur une étude de 151 sujets (d'après Coltman et al, 1966) 28

Tableau 4 : Composition des lipides présents sur l'épiderme (d'après Nicolaides, 1974) 32

Tableau 5 : Nature des acides gras présents sur la couche cornée de l'épiderme (d'après Nicolaides, 1974) * Acides gras biologiquement disponibles 33

Tableau 6 : Caractéristiques de la peau en tant qu'écosystème 36

Tableau 7 : Seuils de détection de quelques molécules odorantes (d'après Falcy et Malard, 2005 ; Rahmalo, 1999) 51

Tableau 8 : Anosmies spécifiques aux odeurs corporelles (d'après Boelens et al, 1983, cité par Labows et al, 1999) 52

Tableau 9 : Impact du matériau, de la construction de la maille et de l'effet sujet sur la flore bactérienne et les composés volatils émis. Les dénombrements sont réalisés sur gélose et les composés volatils émis sont mesurés par PTR-MS (d'après Mac Queen et al, 2007 et 2008) 53

Tableau 10 : Pressions de vapeur de quelques acides gras à courtes et moyennes chaînes à 20°C .. 56

Tableau 11 : Caractéristiques techniques des matières testées. 62

Tableau 12 : Caractéristiques techniques des matières textiles utilisés 69

Tableau 13 : Energie de surface des 4 matériaux utilisés 69

Tableau 14 : Amorces utilisées pour amplifier l'échantillon d'ADN 83

Tableau 15 : Descripteurs associés aux notes d'intensité olfactive pour une mesure par panel entraîné 87

Tableau 16 : Paramètres d'utilisation du nez électronique Héraclès 89

Tableau 17: Etude conjointe de l'effet "latéralité" et de l'effet "mode de collecte" sur la flore bactérienne revivifiable, résultats de dénombrements réalisés en triplicat à partir de T-shirts en PET portés par un sujet 97

Tableau 18 : Résultats de l'analyse de variance au risque 5 % pour les facteurs latéralité et mode de collecte 99

Tableau 19 : Résultats de dénombrements réalisés sur la peau et sur textile, réalisés en triplicat le même jour sur un même sujet à partir de prélèvements cutanés et de textile mis en contact de l'aisselle 101

Tableau 20 : Estimateurs statistiques des échantillons obtenus à partir des dénombrements réalisés à partir d'écouvillons cutanés et de collectes microbiennes sur textile et valeurs critiques de la table de Student 101

Tableau 21 : Statistiques descriptives de la série de valeurs obtenues lors du dénombrement de la flore cutanée par écouvillonnage des 14 sujets.....105

Tableau 22 : Statistiques descriptives de la série de valeurs obtenues lors du dénombrement de la flore extraite sur textile des 14 sujets 106

Tableau 23 : Taux de transfert bactérien entre la peau et le vêtement après une heure de pratique sportive.....106

Tableau 24 : Extrait de l'aromatogramme obtenu pour le T-shirt du sujet 1. Les identifications en italique sont basées sur la comparaison des temps de rétention avec une base de données.....109

Tableau 25 : Notes olfactives caractéristiques de l'odeur de transpiration et descripteurs fréquemment associés 111

Tableau 26 : Contribution des descripteurs intermédiaires à la note globale pour les 14 sujets 111

Tableau 27 : Coefficients de corrélation entre les dénombrements et les notes d'intensité olfactive mesurées par le panel entraîné 114

Tableau 28 : Coefficients de corrélation entre les notes olfactives évoquées par le panel et les dénombrements bactériens réalisés sur la peau et sur textile 115

Tableau 29 : Calcul des coefficients de corrélation entre les dénombrements et les notes d'intensité olfactive mesurées par le panel restreint 115

Tableau 30 : Comparatif des protocoles de mesure pour le panel entraîné et le panel restreint ...117

Tableau 31 : Séquences des fragments d'ADNr16S attendues pour les 3 souches pures testées 127

Tableau 32 Limites de détection de la TTGE dans le protocole utilisé pour 3 souches pures 128

Tableau 33 : Recensement des bandes d'ADN16s présentes sur les profils obtenus à partir d'échantillons collectés sur une durée de 3 mois.....131

Tableau 34 : Intégration des pics détectés à l'aide du logiciel Image J sur les échantillons cutanés et sur textile PET après pratique sportive.....134

Tableau 35 : Intégration des pics détectés à l'aide du logiciel Image J sur les échantillons cutanés et sur textile PA 6,6 après pratique sportive 136

Tableau 36 : Intégration des pics détectés à l'aide du logiciel Image J sur les échantillons cutanés et sur textile PA 6,6-EA après pratique sportive 137

Tableau 37 : Intégration des pics détectés à l'aide du logiciel Image J sur les échantillons cutanés et sur textile coton après pratique sportive.....139

Tableau 38 : Tableau récapitulatif des propriétés de surface des matières testées et du taux de transfert d'ADN 139

Tableau 39 : Synthèse des taux de transfert et des notes olfactives attribuées aux composants testés dans cette étude.....141

Tableau 40 : Calcul du coefficient de corrélation entre l'intensité des bandes sur gel et l'intensité de l'odeur perçue.....142

Tableau 41 : Rappel de la composition des 8 composants testés 148

Tableau 42 : Vitesses de désorption des molécules volatiles calculées à partir des distances statistiques normalisées, exprimées en unités arbitraires /jour 153

Tableau 43 : Vitesses d'émission des composés odorants en unités arbitraires/j 155

Tableau 44 : Composés chimiques détectés sur le composant 1 identifiés par leurs indices de Kovatz 157

Tableau 45 : Composés chimiques détectés sur le composant 2 identifiés par leurs indices de Kovatz 159

Tableau 46 : Molécules identifiées d'après leur indice de Kovatz sur les textiles portés 160

Tableau 47 : Molécules indicatrices de mauvaise odeur sur textile d'après les résultats croisés du nez électronique Héraclès et les résultats du panel 163

Tableau 48 : Composés chimiques détectés sur le composant 1 identifiés par leurs indices de Kovatz XVII

Tableau 49 : Composés chimiques détectés sur le composant 2 identifiés par leurs indices de Kovatz XVIII

Tableau 50 : Composés chimiques détectés sur le composant 3 identifiés par leurs indices de Kovatz XIX

Tableau 51 : Composés chimiques détectés sur le composant 4 identifiés par leurs indices de Kovatz XX

Tableau 52 : Composés chimiques détectés sur le composant 5 identifiés par leurs indices de Kovatz XXI

Tableau 53 : Composés chimiques détectés sur le composant 6 identifiés par leurs indices de Kovatz XXII

Tableau 54 : Composés chimiques détectés sur le composant 7 identifiés par leurs indices de Kovatz XXIII

Tableau 55 : Composés chimiques détectés sur le composant 8 identifiés par leurs indices de Kovatz XXIV

Introduction générale

La transpiration est un phénomène naturel permettant à l'organisme de maintenir sa température interne malgré l'élévation de température causée par l'intensification du métabolisme durant l'exercice physique. Ce phénomène est indispensable à l'organisme, mais il est souvent lié à l'apparition de composés odorants pouvant générer une odeur désagréable.

Sur la peau, la sueur fraîchement émise est inodore. En effet, les odeurs perçues proviennent du catabolisme des bactéries présentes sur la peau. Le mécanisme d'émission à partir d'un textile, est plus complexe puisqu'il s'agit d'un milieu ouvert soumis à plusieurs entrées, d'origine cutanée et d'origine environnementale, générant une sortie, l'odeur, en relation avec la problématique de l'olfaction et des perceptions sensorielles.

Dans le cadre de travaux sur le confort des usagers lors de la pratique sportive, la société Oxylane a mis en place plusieurs axes de recherche sur les textiles techniques. Outre l'importance d'améliorer le confort thermique et de diminuer la sensation d'humidité, limiter la perception des odeurs corporelles est un axe d'innovation présentant un fort potentiel économique. Peu de solutions pour lutter contre les odeurs existent, et elles sont souvent en contradiction avec les autres propriétés requises pour un textile à usage sportif telles que le séchage rapide ou la résistance au lavage. La compréhension des mécanismes de formation et d'émission des odeurs de transpiration sur textile apparaît donc comme indispensable pour pouvoir, à terme, concevoir des solutions techniques limitant les odeurs tout en conservant les qualités traditionnelles de la matière.

Afin d'améliorer la compréhension des mécanismes d'émission des composés odorants, 3 objectifs scientifiques majeurs ont été définis :

- Quel est le rôle exact de la flore commensale cutanée dans l'odeur de transpiration sur le vêtement ?
- Existe-il un genre ou une espèce bactérienne particulièrement responsable des odeurs de transpiration sur textile ? En d'autres termes, existe-il un transfert spécifique de bactéries, qui justifierait la perception odorante particulièrement forte sur certains textiles ?
- Quel est l'effet de la nature du textile sur les émissions odorantes ?

Par ailleurs, un objectif technologique est également associé à ce travail : mettre au point une méthode adéquate de mesure de l'odeur de transpiration émise par un textile.

Afin de comprendre les mécanismes d'émission d'odeurs à partir de textile, les travaux présentés ici seront articulés de la manière suivante :

Le premier chapitre sera consacré à une étude bibliographique sur la physiologie et les composés chimiques biodisponibles de la peau, la colonisation bactérienne de l'aisselle, la formation des odeurs corporelles, les données disponibles sur le transfert bactérien sur un textile et la perception des odeurs par le nez humain.

Le second chapitre présentera le matériel et les méthodes, et notamment les spécificités techniques des textiles utilisés dans cette étude.

Les principaux résultats seront présentés en 3 parties :

Le troisième chapitre sera consacré à la localisation de la production d'odeurs et à la quantification du transfert bactérien de la peau vers le textile sur 14 sujets. En parallèle seront présentées 3 méthodologies de mesure des odeurs utilisées pour caractériser les échantillons.

Le quatrième chapitre sera focalisé sur l'effet d'interaction entre la flore bactérienne et le textile à l'aide d'un seul sujet pour évaluer le transfert spécifique vers 4 matières aux comportements différents vis-à-vis des odeurs.

Enfin, le cinquième chapitre sera consacré à l'effet du textile sur les émissions odorantes mesurées à l'aide d'une technologie innovante, le nez électronique. Pour cela, 8 échantillons textiles seront testés afin de tenter d'identifier des indicateurs de prédiction du comportement des textiles vis-à-vis des odeurs.

Chapitre 1 : Etude bibliographique

Au XIX^{ième} siècle, les travaux de Louis Pasteur, entre autres, sur les micro-organismes et leur rôle dans les maladies furent le fondement de politiques de santé publique visant à accroître l'espérance de vie de la population, notamment en la sensibilisant à la nécessité de se laver pour limiter les maladies. Les odeurs corporelles furent progressivement considérées comme indicatrices d'un manque d'hygiène, et c'est ainsi que s'est imposée l'idée qu'elles étaient dérangeantes et nauséabondes.

Au cours du XX^{ième} siècle, l'industrie du textile a développé de nombreuses fibres synthétiques qui furent introduites dans la confection de textiles. Dans le secteur de l'habillement, le problème de la persistance des odeurs de transpiration s'est alors posé.

Cependant, les mécanismes d'apparition de ces odeurs sur textile sont complexes. En effet, la perception d'une odeur est la conséquence de la sudation activée par le système nerveux, de la production de composés odorants par la flore commensale à partir de substrats d'origine cutanée, puis de leur volatilisation pouvant alors activer des récepteurs olfactifs.

Pour améliorer la compréhension de ce phénomène, une étude bibliographique a été menée en appréhendant la problématique dans son ensemble, de l'émission de sueur par le corps humain à l'émanation des odeurs sur textile en passant par les mécanismes microbiologiques impliqués.

Cette étude va être présentée dans ce chapitre en exposant tout d'abord des notions de physiologie cutanée et de morphologie des glandes annexes, car elles serviront à définir l'environnement dans lequel évoluent les bactéries de la flore commensale et les substrats disponibles.

Ensuite, l'écosystème bactérien sur la peau et au niveau de l'aisselle sera décrit, et permettra d'aborder les mécanismes microbiens à l'origine des odeurs corporelles. La perception des odeurs par le nez humain sera alors détaillée, et enfin, les propriétés de différents textiles vis-à-vis des odeurs seront abordées.

1. Histologie cutanée

L'étude détaillée de la physiologie de la peau et de ses organites va permettre de comprendre les phénomènes impliqués dans la sudation et d'identifier les composés biochimiques mis à disposition de la flore bactérienne cutanée pouvant mener à des produits volatils malodorants.

Avec une surface de 1,6 m² (Arens et Zhang, 2006) et 2 kg en moyenne chez l'adulte (Campbell, 1995), la peau est l'organe le plus lourd du corps humain. Elle assure 3 fonctions principales : la protection contre le milieu extérieur (l'eau, les contraintes mécaniques, les variations thermiques et les agents pathogènes), la perception tactile (pression, température) et la synthèse de la vitamine D (initiée par les rayons ultraviolets).

La peau est organisée en 3 couches à vocations distinctes, de l'intérieur vers l'extérieur : l'hypoderme, le derme et l'épiderme. La Figure 1 schématise une coupe transversale de la peau avec ses différents organites.

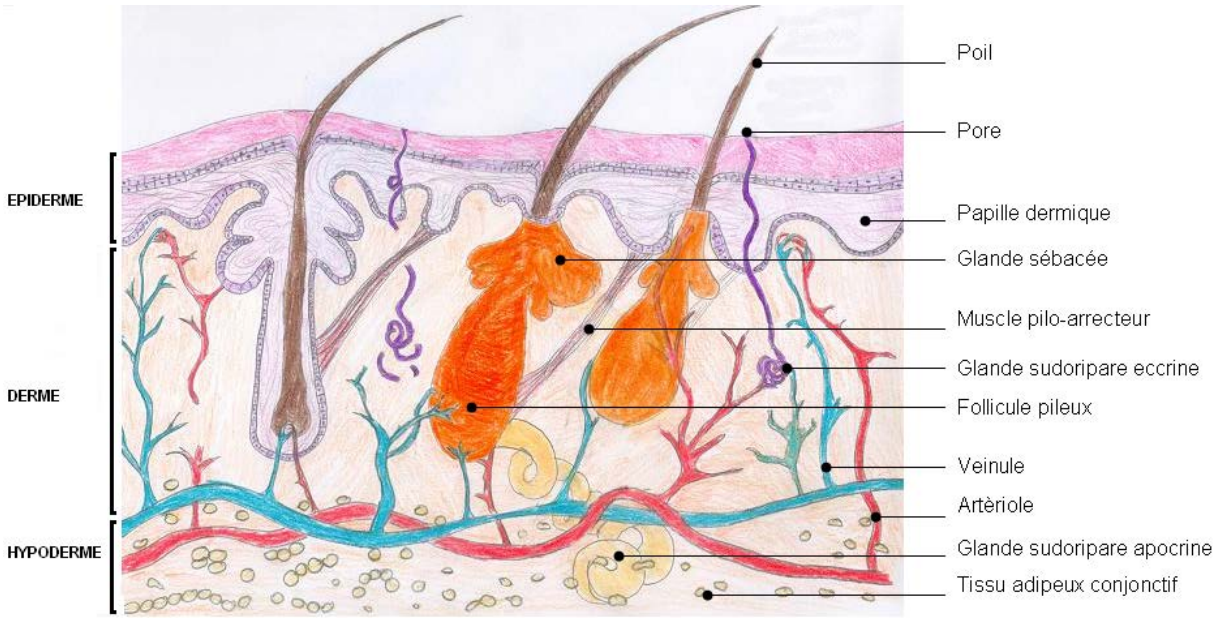


Figure 1 : Schéma de la peau et des différents organites impliqués dans la thermorégulation (d'après Campbell, 1995 ; Scrivener et Cribier, 2002)

1.1. L'hypoderme

L'hypoderme est la partie la plus profonde de la peau. Il s'agit d'un tissu conjonctif lâche et richement vascularisé sur lequel repose le derme. Les cellules de l'hypoderme baignent dans une matrice extracellulaire constituée majoritairement d'eau, de glycoprotéines et de tissu adipeux de manière plus ou moins importante suivant les individus et les régions du corps. Ce tissu adipeux a 2 fonctions : c'est un réservoir énergétique qui peut être mobilisé par l'organisme en cas de besoin, mais suivant son épaisseur, il peut également offrir une couche de protection contre les chocs aux organes internes.

1.2. Le derme

Le derme est également un tissu conjonctif. Il s'agit de la couche la plus fonctionnalisée de la peau, car il contient des vaisseaux sanguins et des vaisseaux lymphatiques impliqués dans la défense immunitaire, des organes de perception tactile, des terminaisons nerveuses libres et corpusculaires, et de nombreuses annexes cutanées, comme les glandes exocrines.

Mécanismes de régulation thermique

Le derme est le lieu privilégié d'échanges thermiques avec le milieu extérieur. La variation de la surface d'échange entre les vaisseaux et le derme assure la régulation de la température interne de l'organisme. Ainsi, une hausse de la température interne va provoquer, via l'hypothalamus, la dilatation des capillaires sanguins et permettre une augmentation de la surface d'échange avec le tissu conjonctif. L'excédent de chaleur est alors transmis au milieu extérieur par conduction au travers des cellules du derme et de l'épiderme et le sang ainsi refroidi circule alors dans le réseau sanguin, ce qui accélère le refroidissement des organes internes. Une baisse de la température interne aura un effet inverse en provoquant une contraction des vaisseaux qui diminuera la surface d'échange entre les vaisseaux et le derme, limitant alors les pertes thermiques.

Les glandes exocrines cutanées

Il existe 3 types de glandes exocrines cutanées qui sont enchâssées dans le derme et excrètent leurs produits à la surface de l'épiderme. Il s'agit des glandes sébacées, des glandes sudoripares

eccrines, des glandes sudoripares apocrines. Des glandes apoeccrines ont également été décrites mais leur existence est soumise à caution.

Les glandes sébacées

Les glandes sébacées produisent de manière continue un liquide cireux, le sébum. La densité de glandes sébacées varie énormément sur la peau, de 900 par cm² sur le visage et le cuir chevelu, à 50 par cm² sur les avant-bras (Nicolaides, 1974).

Comme l'illustre la Figure 2, les glandes sébacées sont généralement associées à un poil, exception faite du visage. Ce sont des glandes exocrines, alvéolaires simples et holocrines. Elles sont constituées de petites bourses appelées sébocytes débouchant sur un canal excréteur. La paroi interne de la glande est constituée de cellules cubiques sécrétrices, puis, vers le centre de la glande, les cellules deviennent polyédriques tout en se chargeant progressivement en lipides, le noyau finissant par disparaître. L'explosion de la cellule libère alors la sécrétion dans le canal excréteur. La sécrétion continue des glandes sébacées est soumise à une stimulation androgène (Pablo et al, 1974).

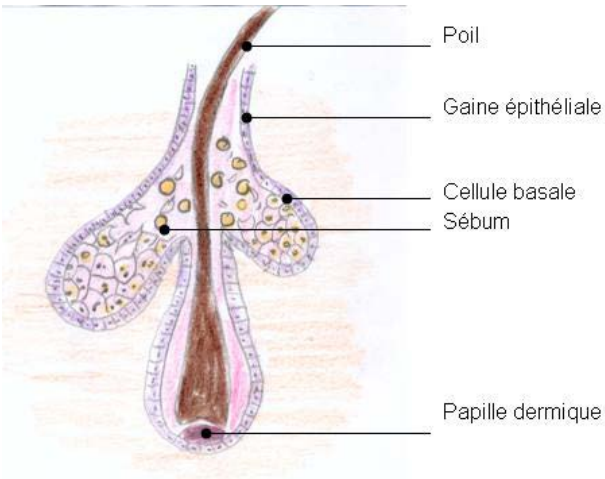


Figure 2 : Glandes sébacées associées à un follicule pileux (d'après Catala et al, 2007)

De nature lipidique, la composition détaillée de la sécrétion sébacée a été remarquablement étudiée dans les travaux de Nicolaides (Nicolaides et Apon, 1977 ; Ansari et al, 1970) d'où proviennent les résultats exposés dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Composition des lipides présents sur l'épiderme (d'après Nicolaides, 1974)

Composé	**Teneur en % dans le sébum**
Squalène	12
Esters de stérol	<1
Stérols non estérifiés	0
Esters de cires	23
Triacylglycérols	60
Di et monoacylglycérols	0
Acides gras non estérifiés	0
Glyco et phospholipides	0
Non identifiés	5

Ce tableau met en évidence la dominance des triacylglycérols (60 %) dans le sébum et la présence relativement importante du squalène (12 %), un intermédiaire de synthèse du cholestérol. Des vertus antimicrobiennes et lubrifiantes sont associées à ce triterpénoïde à 30 carbones (Nicolaides, 1974 ; Nicolaides et Apon, 1977 ; Ansari et al, 1970).

Parmi les constituants du sébum, les acyles des triglycérides sont les seuls éléments métabolisables par les bactéries (Nicolaides, 1974 ; Nicolaides et Apon, 1977 ; Ansari et al, 1970). Cependant, les acides gras estérifiés présents dans le sébum sont d'une grande diversité, tant en terme de longueur de chaîne, de placement des insaturations, que de nombre de branchements méthyle sur la chaîne carbonée principale (Nicolaides, 1974). Leur nature originale les rend difficiles à métaboliser, ce qui aura pour conséquence de sélectionner les espèces bactériennes aptes à les dégrader.

Les glandes sudoripares apocrines (ou épitriches)

Les glandes sudoripares apocrines se situent au niveau du creux axillaire, du pubis, du nombril, du pourtour de l'anus, de l'aréole, des régions inguinales, et plus rarement sur le visage, le cuir chevelu ou le thorax comme l'illustre la Figure 3.

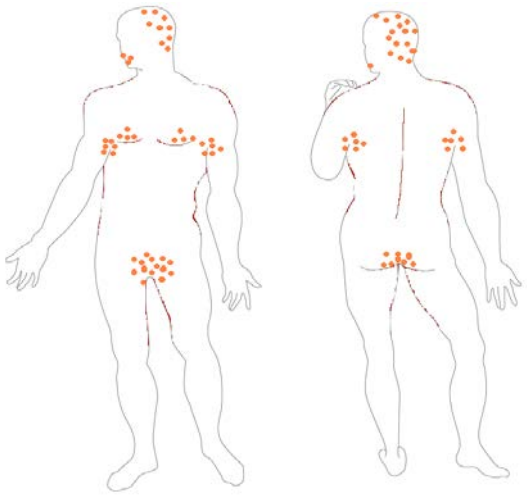


Figure 3 : Localisation des glandes apocrines (d'après Scrivener et Cribier, 2002)

Comme les glandes sébacées, les glandes apocrines sont associées à un poil. Elles deviennent actives à la puberté sous l'influence des hormones. La Figure 4 schématise la physiologie d'une glande apocrine.

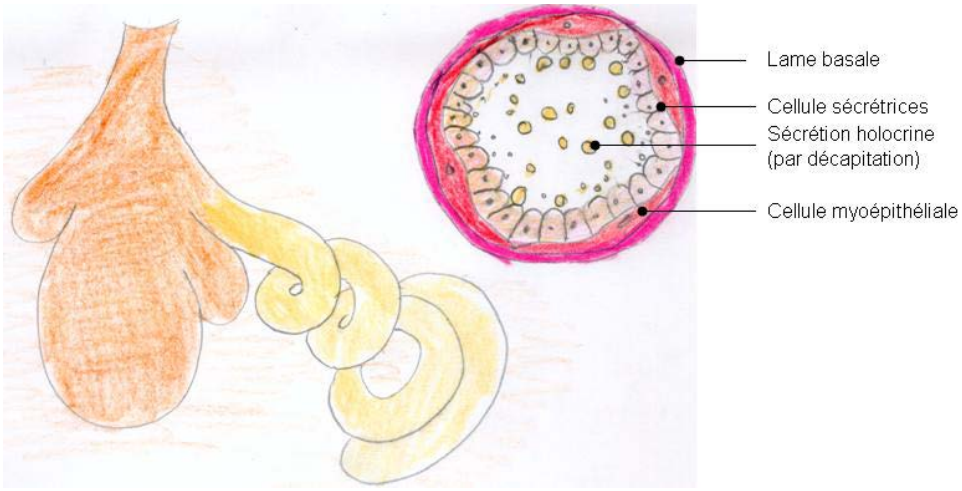


Figure 4 : Schéma d'une glande apocrine (d'après Catala, 2007)

Les glandes sudoripares apocrines sont pelotonnées et contiennent des acini sécrétoires. Elles sont contrôlées par l'innervation adrénergique et par des catécholamines d'origine adrénomédulaire (Robertshaw, 1974 ; Mac Neil et al, 1963).

La composition du produit de sécrétion des glandes apocrines est difficile à décrire du fait de la contamination constante par les produits des glandes sébacées (Scrivener et Cribier, 2002)

La fonction exacte des glandes apocrines chez l'être humain n'est pas parfaitement établie, mais chez d'autres espèces, les glandes apocrines libèrent des substances odoriférantes impliquées dans la communication sexuelle. Par ailleurs, les androstènes sont émises par ces glandes. Les avis des auteurs divergent quant à l'implication des glandes sudoripares apocrines dans la thermorégulation. Si Scrivener et Cribier (2002) l'estiment nulle, Folk et Semken (1991) lui associent un rôle de thermorégulation non négligeable, du fait du fort pouvoir caloporteur des composés lipidiques.

Les glandes sudoripares eccrines (ou épitriches)

L'être humain possède entre 1,6 et 4 millions de glandes eccrines à la surface de la peau (Scrivener et Cribier, 2002), soit environ 150 à 300 par cm², mais leur densité de répartition est hétérogène comme indiqué sur la Figure 5. Elles sont déjà toutes présentes à la naissance, mais ne sont pas toutes actives. L'exposition prolongée d'un sujet à la chaleur, de l'ordre de quelques mois, augmentera la proportion de glandes activées, mais ce mécanisme est réversible. Les glandes sudoripares eccrines sont extrêmement denses sur les surfaces palmaires, permettant l'humidification de ces zones et favorisant la préhension. Le taux de sudation global de ces glandes peut atteindre 3 à 4 L/h, et jusqu'à 12 L/jour en cas d'effort intense dans le désert (Scrivener et Cribier, 2002).

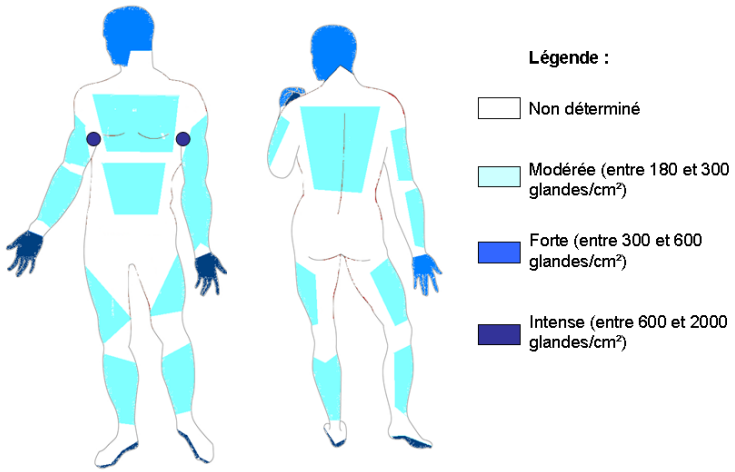


Figure 5 : Répartition des glandes sudoripares eccrines sur le corps humain (d'après Scrivener et Cribier, 2002 ; Arens et Zhang, 2006)

Le schéma présenté dans la Figure 6 illustre la coupe d'une glande sudoripare eccrine.

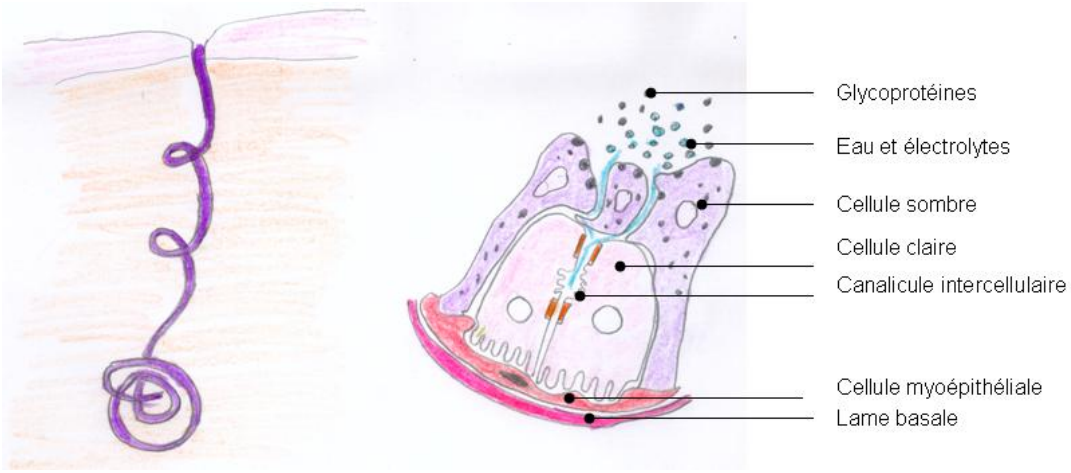


Figure 6 : Schéma de coupe d'une glande eccrine, d'après (Campbell, 1995 ; Scrivener et Cribier, 2002)

Les cellules sombres sont apicales et sécrètent des glycoprotéines par exocytose (sécrétion mérocrine). Elles ne contiennent ni glycogène, ni lipides (Scrivener et Cribier, 2002). La sueur primitive provenant des cellules claires s'ajoute au composant mucineux provenant des cellules sombres. Les glandes eccrines présentent des concentrations en Na^+ et Cl^- plus faibles que le plasma sanguin. Par ailleurs, la concentration en sel dans la sueur diminue avec l'acclimatation à la chaleur.

La portion excrétoire de la glande sudoripare eccrine est bordée d'une double couche de cellules cubiques qui réabsorbent partiellement le NaCl et l'eau sous l'influence de l'aldostérone. La réabsorption du NaCl qui rend la sueur hypotonique est défaillante chez les patients atteints de mucoviscidose. Cette fonction est malheureusement essentielle dans le maintien de l'homéostasie interne durant les périodes de sudation intenses. Enfin, la présence d'immunoglobuline A dans la sueur eccrine assure à ces glandes une certaine activité antibactérienne.

Lorsqu'elle est stimulée de manière artificielle, la sécrétion d'une glande eccrine peut varier de 2 à 20 nL/min/glande (Scrivener et Cribier, 2002). La composition de la sueur eccrine est décrite dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Composition de la sueur eccrine (d'après Agache et al, 2000)

Constituant de la sueur eccrine	**Teneur**
Cl^-	175-2450 mg/L (au-delà de 2100 mg/L : risque de mucoviscidose)
Na^+	115-1610 mg/L
K^+	195-2730 mg/L
$CO(NH_2)_2$	2 à 5 fois le taux plasmatique
NH_4	300-4200 mg/L
$CH_3CHOHCOOH$	450-6300 mg/L
Protéines et acides aminés	200-770 mg/L

Plus spécifiquement, les acides aminés détectés dans la sueur eccrine sont répertoriés dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Teneur en acides aminés de la sueur eccrine sur une étude de 151 sujets (d'après Coltman et al, 1966)

Acide aminé	**% des échantillons**	**Concentration moyenne en mg/L**
Citrulline	100	69,9 +/- 9,1
Sérine	99,3	63,1 +/- 8,9
Acide glutamique	100	54,3 +/- 6,9
Acide aspartique	100	45,8 +/- 7,6
Arginine	37,1	40,5 +/- 22,7
Thréonine	86,8	32,6 +/- 8,7
Alanine	100	32,1 +/- 7,2
Leucine	98	31,4 +/- 8,3
Glycine	100	29,5 +/- 7,4
Histidine	81,5	22,1 +/- 11,4
Ornithine	90,1	20,3 +/- 10,1
Lysine	60,9	19,8 +/- 9,8
Valine	99,3	14,7 +/- 2,5
Phénylalanine	83,4	NQ
Tyrosine	66,2	NQ
Proline	47,7	NQ
Tryptophane	30,5	NQ
Taurine	24,5	NQ
Hydroxyproline	0,1	NQ
Méthionine	0,1	NQ

D'ores et déjà, il est légitime de s'interroger sur l'apport nutritif que peut constituer une telle sécrétion auprès de la flore bactérienne. En effet, si la forte sudation des efforts sportifs est associée à l'émission de composés malodorants, il paraît peu probable que cette sueur eccrine puisse fournir un substrat suffisant aux bactéries, au regard de sa composition, pour produire des composés volatils malodorants.

Les glandes apoeccrines

En 1987, dans le cadre de dissections de tissus provenant d'ablations de glandes sudoripares chez des patients atteints d'hyperhydrose (sudation excessive), Sato et al (1987) ont découvert des structures non décrites jusqu'alors. Leur forme était assimilable à des glandes eccrines, mais de taille beaucoup plus importante. Lorsqu'elles sont stimulées, ces glandes sécrètent une substance séreuse, extrêmement abondante. Il n'a jamais été établi s'il s'agissait de glandes présentes chez tous les sujets ou seulement chez les patients atteints d'hyperhydrose, et leur existence reste soumise à débat (Sato et al, 1987 ; Bechara, 2008).

Les glandes sudoripares au cours de l'évolution

Des similitudes sont observées entre les glandes sudoripares apocrines et les glandes cérumineuses du conduit auditif interne et les glandes de Moll au bord des paupières (Folk et Semken 1991).

Les glandes apocrines sont souvent considérées comme des vestiges d'un système de thermorégulation présent chez les mammifères ne possédant pas d'autre système de dissipation thermique cutané (chiens, vaches, chevaux, chameaux…). Certaines de ces espèces sont originaires de biotopes où les variations journalières de température sont très importantes (de 10 °C la nuit à 60 °C au zénith dans le désert). Au regard des capacités calorifiques de l'eau et des lipides, une régulation thermique exclusivement apocrine peut aussi être considérée comme un mécanisme adaptatif d'économie d'eau.

Les taxonomistes ont émis l'hypothèse que les glandes eccrines étaient dérivées des glandes apocrines mais Folk et Semken (1991) s'élèvent contre cette théorie puisque les glandes eccrines sont présentes chez les vertébrés inférieurs tandis que les glandes apocrines sont uniquement présentes chez les mammifères. Ils supposent plutôt que les glandes eccrines auraient évolué de concert avec l'ibérisme, c'est-à-dire le début des longues chasses dans la

savane (estimées à 2 jours pour une girafe…), d'où la nécessité d'un système de régulation thermique intensif.

L'étude de l'histologie cutanée a montré que le derme était une interface fonctionnelle avec le milieu extérieur. Les mécanismes de dilatation des vaisseaux sanguins assurent la régulation de la température de l'organisme ; les glandes sébacées excrètent du squalène et des triacylglycérols qui lubrifient l'épiderme ; les glandes sudoripares eccrines et apocrines assurent la thermorégulation d'appoint et probablement une partie de la communication sexuelle.

Même si la sueur eccrine est émise de manière abondante lors de la pratique sportive, son apport nutritif ne permet pas l'activité métabolique microbienne, et le sébum, voire les hormones contenues dans les sécrétions apocrines semblent plus à même de fournir un substrat métabolisable, si faible soit-il. Il semble donc plus logique que ce soit l'apport intensif d'eau à la surface de la peau, au moment de la pratique sportive, qui explique l'activation du métabolisme bactérien, menant à une dégradation des autres produits disponibles sur la peau.

Ces phénomènes font de la peau un habitat microbien caractérisé par un apport de nutriments de nature hétérogène (faible, de nature peptidique pour les glandes eccrines, plus riche et principalement lipidique pour les glandes sébacées et apocrines). L'apport d'eau est irrégulier et assuré par les glandes eccrines.

Toutefois, la dernière couche séparant le milieu interne de l'extérieur, à savoir l'épiderme, constitue non seulement un support, mais il est également une source de nutriments pour la flore microbienne présente.

1.3. L'épiderme

Synthétiquement, l'épiderme est assimilable à une superposition de couches cellulaires soumises à un gradient de différentiation. La jonction entre le derme et l'épiderme est particulièrement vascularisée car elle permet l'alimentation de l'épiderme en nutriments par diffusion. Des cellules souches enchâssées sur la membrane basale située au niveau de la jonction entre le derme et l'épiderme approvisionnent celui-ci en cellules qui meurent peu à peu, constituant une première barrière vis-à-vis du milieu l'extérieur. Cette mort cellulaire

contrôlée est concomitante à l'apparition d'une protéine hautement rigide, conférant une rigidité modulable à la peau, la kératine.

De la jonction épidermique vers l'extérieur, l'épiderme est divisé en 4 couches : la couche germinative, la couche épineuse, la couche granuleuse, et la couche cornée. La kératinisation assure le renouvellement cellulaire de l'épiderme toutes les 4 semaines environ (Blanpain et al, 2007). Le renouvellement des kératinocytes est assuré par mitose des cellules de la couche germinative. Certaines cellules restent sur la membrane basale pour alimenter la population de cellules souches, tandis que les autres migrent vers la couche à épines pour initier le processus de différentiation aboutissant à la formation de la couche cornée.

Progressivement, dans la couche à épines puis dans la couche granuleuse, les cellules s'aplatissent, les noyaux et les organites cellulaires disparaissent. Les filaments de kératine sont organisés en faisceaux durs dans le cytoplasme par les enzymes intracellulaires.

De petits organites ovales entourés d'une membrane, d'aspect lamellaires, appelés corps lamellaires ou corps d'Oaland sont présents de manière de plus en plus importante. Ils contiennent une sorte de ciment intercellulaire qui est exocyté dans les espaces intercellulaires de la couche cornée. Le produit d'exocytose entre dans la constitution du film lipidique de la couche supérieure de l'épiderme dont la constitution va être décrite ci-après.

1.3.1. Les lipides de l'épiderme

Dans les années 70, l'apparition des spectromètres de masse a permis aux dermatologues de caractériser la peau d'un point de vue biochimique. L'échantillonnage était toutefois délicat, car la flore microbienne ou les lipides d'origine sébacée pouvaient facilement contaminer les échantillons. Ces prélèvements ont donc été réalisés sur des surfaces palmaires, ces zones étant dépourvues de glandes sébacées et de glandes apocrines (Nicolaides, 1974). Le Tableau 4 présente les lipides détectés dans ces échantillons.

Tableau 4 : Composition des lipides présents sur l'épiderme (d'après Nicolaides, 1974)

Composé	**Teneur en % dans l'épiderme**
Squalène	<0,5
Esters de stérol	10
Stérols non estérifiés	20
Esters de cires	0
Triacylglycérols	10
Di et monoacylglycérols	10
Acides gras non estérifiés	10
Glyco et phospholipides	30
Non identifiés	10

Ce tableau dresse une liste relativement exhaustive des lipides présents au niveau de l'épiderme. Il apparaît ainsi que le squalène, qui était présent en quantité relativement importante dans le sébum (12 %), n'est présent sur l'épiderme qu'à l'état de traces.

Sous forme libre ou estérifiés, les acides gras constituent 70 % des lipides de l'épiderme. Ils présentent une grande diversité.

Les acides gras de l'épiderme sont principalement des C16 et C18 sous forme d'acides gras saturés, de mono-ènes, diènes, de traces de poly-ènes et d'acides gras α-hydroxylés, comme l'illustre le Tableau 5.

Tableau 5 : Nature des acides gras présents sur la couche cornée de l'épiderme (d'après Nicolaides, 1974)
* Acides gras biologiquement disponibles

Nom	Quantité (%)
Acide palmitique*	25,33
Acide cis-hexadéc-6-enoïque	21,70
Acide cis-octadéc-8-enoïque	8 ,75
Acide myristique*	6,88
Acide cis-15-methylpentadec-6-enoïque	3,96
Acide pentadecanoïque	3,95
Acide stéarique*	2,89
Acide cis-octadec-6-enoïque (petroselenique)	1,87
Acide oléique*	1,87
Acide cis heptadec-6-enoïque	1,31
Acide 12-methyltetradecanoïque	1,13
Acide octadeca-5,8-dienoïque (sebaléique)	1,12
Acide cis-tetradec-6-enoïque	1,06
Acide heptadecanoïque	1,06
Acide cis-heptadec-8-enoïque	0,82
Acide cis-14-methylhexadec-6-enoïque	0,81
Acide cis-16methylheptadec-8-enoïque	0,78
Acide 4-methyltetradecanoïque	0,70
Acide linoléique*	0,53
Acide cis-eicos-10-enoïque	0,52
Acide cis-eicos-7,10-dienoïque	0,51
Autres	12,45

Cette liste met en évidence la complexité des acides gras disponibles sur la peau. Si les acides gras à 18 carbones sont les plus courants dans le reste de l'organisme, le tableau ci-dessus montre que les C16 sont majoritaires dans l'épiderme. Toutefois, la concentration de ces 2 acides gras demeure plus faible dans la couche cornée que dans les couches vivantes. De plus, 80 % des acides gras de la couche vivante de l'épiderme sont biologiquement disponibles, tandis qu'ils ne représentent plus que 60 % des acides gras présents sur la couche cornée. Cela laisse penser que les dernières mitochondries actives dans le processus de kératinisation

oxydent préférentiellement les acides gras facilement dégradables des membranes intracellulaires pour produire l'ATP nécessaire à la finalisation du processus de kératinisation.
L'accumulation des acides gras inusuels viendrait donc de la consommation préférentielle de des substrats biologiquement intéressants, l'utilisation des autres acides gras n'entrant en jeu qu'à partir du moment où le palmitate et le stéarate deviennent moins disponibles (Nicolaides, 1974).
A la fin de la différentiation, ces acides gras sont extrudés dans l'espace extracellulaire où ils subissent des mécanismes enzymatiques produisant des esters de céramides et de cholestérol (Wertz, 2000).

1.3.2. Fonction de la couche cornée de l'épiderme

La plupart des lipides catabolisés par les kératinocytes sont accumulés dans les granules lamellaires. A la fin de la différentiation, le granule décharge son contenu par exocytose dans l'espace intercellulaire, ainsi que des enzymes hydrolytiques et protéolytiques. Le produit de l'exocytose est composé principalement de phospholipides, de glycolipides, de cholestérol et d'acylglucosylcéramides. (Wertz, 2000). Les esters de cholestérol insaturés proviennent principalement du transfert de l'acide oléique des phosphoglycérides vers le cholestérol dans les phases finales de la kératinisation.
La kératinisation est un processus qui confère la rigidité à l'épiderme, mais ses résidus apportent également une couche lipidique à la surface de la couche cornée qui lui permet de lutter contre la perte d'eau transépidermique. Cette fonction est facilitée par la présence d'un dérivé de fillagrine converti en facteur naturel d'hydratation lorsque l'activité de l'eau au niveau de la couche cornée passe au dessous de 0.95 (Rawlings et al, 1994).
Au niveau superficiel, les cornéocytes se détachent de l'épiderme, sous l'action d'une enzyme excrétée par les kératinosomes, la stéroïde-sulfatase qui provoque la desquamation, et rend les débris cellulaires disponibles à la flore commensale.
Par l'apport régulier en acides gras, le pH à la surface de la couche cornée d'une peau en bonne santé est acide, compris entre 4,0 et 6,5. (Dikstein et Zlotogorski, 1985). Au niveau de l'aisselle, le pH de la couche cornée pour un homme est de 5,84 (+/- 0,1) (Dikstein et al, 1989) et de 5,99 (+/- 0,11) (Yosupovitch et al, 1993) pour la femme. Cette légère différence explique peut-être les différences qualitatives observées entre les flores commensales des deux genres.
La température mesurée sur la peau est de 30°C sur une peau nue exposée et de 36°C sous l'aisselle (Cornolo, communication personnelle).

La couche cornée de l'épiderme présente donc une diversité remarquable dans la nature des lipides présents. Pour la flore bactérienne résidant à la surface de la peau, cela signifie que seules les espèces bactériennes disposant de l'éventail enzymatique leur permettant de tirer profit de ces déchets métaboliques pourront survivre. Ceci met en évidence la potentielle biodiversité de la microflore chez les mammifères. Suivant l'activité des enzymes impliquées dans la kératinisation, les acides gras initialement disponibles seront plus ou moins dégradés et imposeront une pression de sélection plus ou moins forte à la flore commensale. Le processus de kératinisation et les produits de sécrétion des glandes exocrines jouent donc un rôle majeur dans la sélection des espèces bactériennes qui seront présentes sur l'épiderme.

1.4. Caractéristiques de la peau en tant qu'habitat microbien

Après cette description des différents apports possibles fournis par la peau à la flore commensale, plusieurs commentaires peuvent être émis quant à l'hospitalité du biotope.

La disponibilité de l'eau est variable. A la suite d'un effort physique, de l'eau libre est disponible à la surface de la peau pour les bactéries, mais au repos, celle-ci est retenue par le facteur naturel d'hydratation, soumettant la flore commensale à un stress hydrique constant, sauf dans le cas spécifique étudié ici, la pratique sportive.

Par ailleurs, il n'y a pas de glucose à la surface de la peau. Les bactéries doivent donc s'approvisionner en carbone et en énergie d'une autre manière. La kératine est présente de manière abondante sur la peau, et peut fournir des acides aminés, mais ceci implique une activité protéolytique afin de les rendre disponibles. L'autre source d'apport possible est constituée par les fractions acyles des triglycérides, dont la diversité a été exposée. Toutefois, ceux-ci sont loin de constituer des sources de carbone et d'énergie facilement disponibles : l'oxydation du palmitate et du stéarate pour la synthèse de kératine n'offrent que des substrats résiduels difficilement métabolisables, nécessitant des voies de dégradation enzymatiques spécifiques. Les acides gras à très longues chaînes, méthylbranchés, excrétés par les glandes sébacées sont également des substrats difficilement métabolisables, permettant la survie de micro-organismes tout en limitant leur prolifération. Ceci peut être considéré comme le principal effet de sélection du biotope. La peau est en contact avec l'extérieur, et donc avec de nombreux parasites potentiels. Ils peuvent séjourner à la surface de la peau, mais la multiplication bactérienne implique une adaptation particulière à l'habitat, au stress hydrique et la pauvreté des nutriments en particulier.

Pour décrire la peau en tant que milieu accueillant la flore commensale, les différentes données présentées dans la première partie peuvent être synthétisées dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Caractéristiques de la peau en tant qu'écosystème

Apport	**Glandes eccrines**	**Glandes apocrines**	**Glandes sébacées**	**Epiderme**
Stimulation	Sympathique cholinergique	Sympathique adrénergique	Androgène	Homéostasie
Composants majoritaires	Eau Sels minéraux Urée Acides aminés à faible concentration	Lipides (triglycérides) Glycogène Mucine Hormones sexuelles	Squalène Triglycérides Acides gras inusuels	Kératine Esters de glycérol, de céramides et de cholestérol
Oxygénation	Anaérobie	Anaérobie	Anaérobie	Aérobie
pH	Surface de la couche cornée : entre 4,0 et 6,5 Aisselle : 5,84 pour les hommes et 5,99 pour les femmes			
Température	30°C sur peau nue exposée 36°C sous l'aisselle			

2. La colonisation bactérienne

Le paragraphe précédent a montré que la peau est un biotope peu hospitalier pour les bactéries. Pourtant, de nombreuses espèces cohabitent sur la peau, parfois dans l'intérêt commun, parfois en pillant les ressources de l'hôte.

La flore commensale est l'ensemble des bactéries résidant en équilibre avec son hôte. Elle est ainsi nommée car l'équilibre établi entre les individus en question est bénéfique à tous. Par leur unique présence, des bactéries inoffensives ou peu dangereuses protègent l'hôte d'agressions microbiennes plus graves, et en contrepartie, ces bactéries puisent des substrats chez l'hôte. Ainsi, le corps de chaque être humain peut être considéré comme un écosystème, voire comme un ensemble d'écosystèmes. La peau, le tube digestif, les muqueuses, sont des habitats aux caractéristiques distinctes, et la migration d'une espèce inoffensive de l'un de ces habitats vers un autre peut s'avérer critique, comme l'illustrent certaines épidémies de gastro-entérites.

La flore passagère (notamment les levures et les moisissures) ne sera pas abordée ici, même si la présence de la levure *Malassezia* a parfois été rapportée dans les follicules pileux (Marples et

Williamson, 1969). En effet, elles sont responsables d'irritations comme les dermatites atopiques et les mycoses (Révuz, 2003), mais ne sont pas directement impliquées dans la production de molécules odorantes.

La colonisation bactérienne de la peau va à présent être abordée d'un point de vue général, puis la colonisation au niveau de l'épiderme de l'aisselle, la colonisation des follicules pileux et les mécanismes d'adhésion et la formation des odeurs seront présentés plus en détail.

2.1. Colonisation de la peau

Sur peau sèche, comme sur le front ou dans le dos, la colonisation de la peau par la population bactérienne est estimée à 10^3 à 10^4 UFC/cm² (Kazmierczak et Szewczyk, 2004). La plupart des bactéries présentes à la surface de la peau vivent en colonies sur les squames, principalement dans les sillons de la surface cutanée, et dans les follicules pileux (Korting et al, 1988 ; Leyden et al, 1996 ; Bandis et al, 1994 ; Rennie et al, 1991 ; Haustein, 1989 ; Leyden et al, 1987 ; Schröder, 2003). Très peu de bactéries sont présentes sur les poils axillaires (Leyden et al, 1981).

Dans une étude sur la peau de 10 sujets, Grice et al (2009) ont détecté 19 phyla, mais seulement 4 prédominent : les Actinobactéries (52 %), les Firmicutes (24 %) ; les Proteobactéries (17 %) et les Bacteroidetes (6 %).

Trois genres bactériens représentent 63 % des l'ensemble des espèces : les corynébactéries (23 %), les propionibactéries (23 %) et les staphylocoques (17 %). Les variations inter-personnes sont supérieures aux variations suivant les différents sites d'une même personne (Grice et al, 2009).

Au niveau de l'avant bras, une étude sur 6 personnes (Gao et al, 2007) a montré que 182 SLOTUs provenant de 8 genres et 3 phyla (Actinobacteria, Firmicutes, et Proteobacteria) décrivaient 95 % des séquences clonées. Seulement 4 des 119 genres étaient présents chez tous les sujets, mais ces 4 genres *(Propionibacterium, Corynebacterium, Staphylococcus*, et *Streptococcus*) représentaient 54 % de l'ensemble des clones. Sur les avant-bras, à l'échelle du phylum, les différences entre la droite et la gauche étaient faibles et variaient peu au cours du temps. Néanmoins, les SLOTUs présents sur les 2 avant-bras d'une même personne ne représentaient que 50 à 70 % de tous les clones chez les sujets.

Fierer et al (2008) ont réalisé une étude sur les mains de 51 sujets, et plus de 150 phylotypes par sujet en moyenne ont été dénombrés. Seulement 5 phylotypes étaient présents sur les 102 échantillons mais les genres les plus abondants, considérés comme la flore résidente représentent 65 % de la flore totale (*Propionibacterium*, 31,6 % ; *Streptococcus*, 17,2 % ; *Staphylococcus*, 8,3 % ; *Corynebacterium*, 4,3 % ; et *Lactobacillus*, 3,1 %). Après un lavage récent, les genres *Staphylococcus*, *Streptococcacae*, et *Lactobacillacae* sont majoritaires, mais au fil du temps, l'abondance des *Propionibacteria*, *Neisseriales*, *Burkholderiales*, *Pasteurellacae* augmente.

2.2. Colonisation du stratum corneum au niveau de l'aisselle

Au niveau de l'aisselle, la taille de la population est de l'ordre de 5.10^5 à 10^7 UFC/cm² de peau (Leyden et al, 1981 ; Korting et al, 1988). D'un point de vue qualitatif, plusieurs études ont montré la prévalence de 2 types de flore au niveau axillaire.

Marples et Williamson (1969), dans une étude impliquant 20 sujets, ont observé deux types distincts de flores axillaires : une flore lipophile à majorité de diphtéroïdes lipophiles dans 85 % des cas (bactéries corynéformes, comprenant les genres *Brevibacter* et *Corynebacterium*), et une flore dominée par des coques à coagulase négative (micrococques et staphylocoques) dans 15 % des cas.

Kloos et Musselwhite (1975) ont également mis en évidence la prévalence des bactéries corynéformes à 70 % chez les 20 sujets testés, ces corynéformes appartenant principalement au genre *Corynebacterium*. Enfin, Aly et Maibach (1977) ont montré que parmi les bactéries corynéformes prédominantes sous l'aisselle, la majorité (78 %) n'était pas lipophile. Cette dernière assertion est néanmoins soumise à débat (James et al, 2003 ; Leyden et al, 1981).

Leyden et al (1981) se sont plus précisément intéressés aux Micrococcaceae, et ont montré que cette famille, même si elle était rarement majoritaire, était présente sous l'aisselle de tous les sujets. Parmi eux, l'espèce la plus présente était *S.epidermidis* (51 %), puis *S.saprophyticus* (29 %) ; *S.aureus* était présent dans 10 % des cas. Chez tous leurs sujets, les corynéformes présents appartenaient principalement au genre *Corynebacterium*.

Grice et al (2009) ont également montré que dans les zones humides comme l'aisselle, les corynébactéries prédominent, en cohabitant avec les staphylocoques.

2.2.1. Variations observées entre les sexes

Dans une étude réalisée sur 163 hommes et 122 femmes, Jackman et Noble (1983) ont aussi remarqué que la flore commensale axillaire était prédominée par des coques à coagulase négative ou des corynébactéries. Dans cette étude, 64 % des hommes avaient la peau principalement colonisée par des corynébactéries, et 27 % par des coques. Chez les femmes, le ratio était inversé. Là encore, parmi les corynéformes identifiées, le genre le plus représenté était *Corynebacterium* à 83 %, *Brevibacterium* à 5 % et 12 % d'autres corynéformes non identifiés plus précisément.

Leyden et al (1981) ont également mis en évidence des différences significatives entre les flores présentes chez les hommes et les femmes. Des corynébactéries lipophiles ont été observées chez 82 % des hommes et 66 % des femmes. Par contre, lorsqu'ils sont présents, la taille moyenne de la population de corynébactéries est la même quel que soit le sexe du sujet.

2.2.2. Variations observées au cours du temps

Si la quantité et la qualité de la flore sont variables d'un individu à l'autre, peu de différences sont observées entre la flore d'un individu à t = 0, t = 6 semaines et t = 12 semaines sur un échantillon de 5 hommes de 24 à 26 ans au niveau du dos et du front (Kazmierczak et Szewczyk, 2004). Si ces parties du corps soumises à des contaminations de passage du fait de leur exposition présentent de faibles variations de flore, il paraît probable qu'il en soit de même pour les aisselles.

2.3. Colonisation des follicules pileux

Protégés des contraintes mécaniques auxquelles le stratum corneum est soumis, richement alimentés en sébum et sécrétions apocrines, les follicules pileux sont des lieux propices à la colonisation. Ils sont enchâssés à quelques millimètres de la surface, et déjà, l'apport en oxygène par le milieu extérieur y est limité. Ainsi le conduit du follicule pileux est colonisé par des espèces microaérophiles et même anaérobies. Le genre majoritaire est *Propionibacterium*, plus particulièrement *P.acnes* (autrefois connu sous le nom de *Corynebacterium acnes*) mais la présence de microcoques à coagulase négative y est également observée (Marples et Williamson, 1969).

2.4. Mécanismes d'adhésion

Qu'il s'agisse de mécanismes non spécifiques ou spécifiques, des liaisons de faible énergie confèrent aux bactéries de la flore commensale une adhésion à son support, la peau. Par conséquent, le transfert sur le vêtement implique la rupture de ces liaisons, et pour qu'une bactérie soit extraite de la peau par frottement et demeure sur le vêtement, il faudra que les forces engendrées par la friction du vêtement sur la peau soient supérieures à celles qui maintiennent la bactérie sur la peau.

Si les bactéries présentes à l'intérieur des follicules pileux sont confinées dans un environnement les protégeant de l'érosion, celles qui résident dans les sillons du stratum corneum doivent être capables d'adhérer à la surface pour rester sur la peau. Les mécanismes d'adhésion peuvent être non spécifiques ou spécifiques. Les mécanismes d'adhésion non spécifiques sont régis par des liaisons hydrogènes, des liaisons électrostatiques de surface et des interactions hydrophobes.

Les bactéries adhèrent de manière non spécifique grâce à des récepteurs stéréospécifiques, comme les lectines, sur un épitope du substrat, comme les glucides (Mirelman et Ofek, 1986 ; Ofek et Beachey, 1978 ; Karlsson et al, 1986 ; Karlsson et al, 1987). Les récepteurs spécifiques, les adhésines, sont principalement des protéines présentes sur les fibrilles, fibrines et flagelles des bactéries (Schröder, 2002). Allison et al (1993) ont montré que l'adhésion était amorcée par des liaisons électrostatiques et des forces de Van der Waals, de manière non spécifique, et que l'adhésion spécifique irréversible avait lieu dans un deuxième temps.

Chez *Staphylococcus*, la digestion enzymatique des molécules de surface de *S.epidermidis* et *S.aureus* a montré une inhibition de l'adhésion aux cornéocytes (Delekat, 1999 ; Bünger, 1996). Sur la cellule hôte, l'adhésion de *S.epidermidis* et *S.aureus* a lieu sur le cholestérol-3-sulfate.
Les corynébactéries ont également une forte affinité pour les glycolipides mais ceux-ci sont présents en faible quantité sur la peau. Comme les staphylocoques, ils présentent aussi une affinité pour le cholestérol-3-sulfate ainsi que sur les esters de cholestérol, qui augmente avec la longueur du radical acyle (Schröder, 2002).

D'un point de vue général, les études de la flore cutanée ont donc montré que celle-ci est présente à hauteur de 5.10^5 à 10^7 UFC/cm² sous l'aisselle. Les genres majoritaires sont *Corynebacterium* et *Staphylococcus* dans les sillons de l'épiderme, et *Propionibacterium* dans les follicules pileux, représentant les 2/3 des espèces détectées, le reste étant constitué par des espèces de passage. Ces bactéries résident sur la peau en puisant les substrats difficilement métabolisables fournis par les cornéocytes et les glandes exocrines. Les produits de dégradation de ces substrats génèrent des molécules malodorantes dont les voies de synthèse et la nature sont présentées ci-après.

2.5. Formation des composés odorants par la flore commensale

La peau, et plus particulièrement l'aisselle, est le lieu de résidence de 3 genres bactériens principalement : les corynébactéries, les staphylocoques et les propionibactéries. Elles assurent la protection de l'hôte contre des pathogènes opportunistes, mais elles sont également impliquées dans la formation des odeurs de transpiration.

Une étude effectuée sur 36 volontaires a mis en relation le dénombrement de la flore présente sous l'aisselle et une analyse sensorielle par un panel des sujets experts. Cette étude fait apparaître une corrélation nette entre le dénombrement de la flore microbienne aérobie totale et l'intensité de l'odeur des aisselles (Taylor et al, 2003).

Rennie et al (1990) ont pu associer de façon significative le nombre de bactéries corynéformes aérobies à l'intensité de l'odeur axillaire. En revanche, aucune relation n'a pu être établie entre la densité des staphylocoques, micrococques ou propionibactéries et l'intensité de l'odeur axillaire.

Dans une étude in vivo sur une population européenne, tous les corynéformes impliqués dans la formation d'odeurs appartenaient à l'espèce *C.xerosis* (Rennie et al, 1990 et 1991).

Le genre *Corynebacterium* apparaît donc comme un acteur prépondérant dans la production des composés volatils malodorants sous l'aisselle.

Devant la complexité et la lourdeur des expérimentations avec sujets, plusieurs équipes ont cherché à reproduire *in vitro* les phénomènes ayant lieu sur la peau à partir des composés longuement décrits dans la première partie. Les essais réalisés ont porté sur l'utilisation des dérivés du cholestérol tels que les hormones stéroïdes, le squalène, les triglycérides et les acides aminés.

2.5.1. Dégradation bactérienne des stéroïdes d'origine apocrine

Historiquement, Prelog et al (1945) ont décrit l'odeur des cétones d'androst-16ène, et plus particulièrement la 5α-androst-16-ène-3-one (androsténone) comme apparentée fortement à l'urine et à la transpiration, ce qui a provoqué de nombreuses recherches sur la dégradation des stéroïdes d'origine apocrine par la flore commensale. Toutefois, les difficultés à analyser ces molécules ont fortement ralenti l'avancée des travaux.

En 1991, un modèle de mesure de la formation de l'odeur axillaire in vitro a été développé, et utilisé pour tester individuellement les bactéries isolées. Seules les bactéries corynéformes aérobies étaient capables de produire une odeur axillaire in vitro, principalement *Corynebacterium xerosis*. De nombreuses bactéries corynéformes aérobies ont montré une capacité à transformer la testostérone, les principaux métabolites étant la 5-dihydrotestostérone, l'androstènedione et le 5-androstanedione. Les microcoques ont également montré cette faculté dans une proportion moindre, ce qui n'était pas le cas des staphylocoques et des propionibactéries (Rennie et al, 1990). Les modifications des stéroïdes par voie bactérienne sont des oxydations exclusivement, ayant lieu en majorité sur le carbone 3. (Decréau et al, 2003).

Ces dégradations sont extrêmement lentes, de l'ordre de plusieurs jours, et le taux de conversion varie suivant la composition du milieu. Par ailleurs 50% de la population souffre d'anosmie envers ces composés (Labows et al, 1991), ce qui a mené progressivement à la recherche d'autres molécules responsables de l'odeur de transpiration.

2.5.2. Production d'acides gras volatils

Rennie et al (1990 et 1991) ont prélevé des échantillons de sueur apocrine sur des sujets présentant une faible odeur corporelle et les ont été incubés en présence de corynébactéries. Une forte odeur s'est dégagée à l'issue de l'expérience. Ceci tend à prouver que ce n'est pas tant la nature des émissions par le corps mais bien la présence spécifique des corynébactéries qui serait la cause de la formation des odeurs.

Cependant, in vitro, des isolats de *Propionibacterium* ont démontré leur faculté à produire de l'acide acétique et de l'acide propionique à partir d'acide lactique et de glycérol (James et al, 2004). De même, les staphylocoques ont la capacité de produire de l'acide isobutyrique et de l'acide isovalérique à partir d'acides aminés aliphatiques branchés, la L-valine et la L-leucine

(James et al, 2004). La relation entre l'intensité de l'odeur et la présence des genres *Staphylococcus* et *Propionibacterium* devrait donc pouvoir être mise en évidence.

En réalité, si les genres *Staphylococcus* et *Propionibacterium* sont capables de produire des acides gras volatils, leurs vitesses spécifiques de production sont de l'ordre de 7 à 10 fois inférieures à la vitesse spécifique de production de ces mêmes composés à partir d'acides gras à longues chaînes branchées par le genre *Corynebacterium* (James et al, 2003 ; James et al, 2004). De même, les vitesses de production de l'acide propionique et de l'acide acétique par *Propionibacterium avidum* et *P.acnes* varient de 0 à 11,3 $\mu g.10^{-9}$ $UFC.h^{-1}$ dans les mêmes conditions en présence de glycérol ou d'acide lactique comme substrat (James et al, 2004). Ces vitesses de production de composés volatils malodorants sont au moins 10 fois inférieures à celles de *Corynebacterium* en présence d'acides gras à longues chaînes branchées.
Ceci explique donc la forte corrélation entre la présence de *Corynebacterium* sur la peau et l'intensité de l'odeur axillaire, malgré le fait que les autres genres bactériens en soient également capables, et qu'ils sont impliqués dans les premières phases de dégradation des substrats pouvant être à l'origine des composés malodorants.
Ainsi, la biodégradation des substrats présents sur la peau par la flore commensale va provoquer la formation de composés volatils, principalement des acides gras à courtes chaînes (acide butyrique, isobutyrique, valérique, isovalérique) ainsi que des thioalcools, présents en plus grande quantité et avec des seuils de détection plus bas (Labows et al, 1999) que les androst-16-ènes.

2.5.3. Dégradation bactérienne des acides gras insaturés et méthylbranchés

Les acides gras insaturés ou branchés proviennent principalement de la dégradation de la fraction triacylglycérol du sébum par action des lipases bactériennes, mais probablement aussi des sécrétions apocrines (James et al, 2004). Ces lipases bactériennes sont présentes chez *Propionibacterium*, *Staphylococcus* et les corynébactéries du groupe A principalement (Marples et Williamson, 1969 ; James et al, 2004). Les acides gras libérés peuvent alors être dégradés par les corynébactéries à une vitesse de 49 $\mu g.10^{-9}$ $UFC^{-1}.h^{-1}$ (James et al, 2003).
La capacité à cataboliser des acides gras à longues chaînes présentant des doubles liaisons ou des branchements méthyles sur la chaîne carbonée est le reflet de l'action d'une 2,4-diénoyl-CoA réductase.

Les travaux de séquençage de *C.jeikeium*, montrent que la bactérie possède cette enzyme, mais les travaux de James et al (2004) en milieu synthétique n'ont pu mettre en évidence que l'oxydation des chaînes insaturées, et non des chaînes méthylbranchées. Sans cette activité, l'acide isobutyrique, isovalérique et les autres acides gras méthylbranchés s'accumulent dans le milieu et causent des mauvaises odeurs.

2.5.4. Dégradation des acides aminés

Les acides aminés présents à l'état de traces dans les sueurs eccrines et apocrines peuvent également mener à la formation de molécules volatiles malodorantes. Ainsi, James et al (2003) ont mis en évidence la biotransformation de valine en acide isobutyrique, et de leucine en acide isovalérique chez plusieurs espèces de staphylocoques, dont *S.epidermidis* et *S.aureus*, avec des vitesses de production de 4,4 et 7,0 $\mu g.10^{-9}$ $UFC^{-1}.h^{-1}$ en milieu synthétique et en présence de glycérol.

2.5.5. Formation de l'acide 3-méthyl-2-hexenoïque

Durant les années 70, la détection d'acide (E)-3-méthyl-2-hexenoïque dans la sueur a été associée au diagnostic de la schizophrénie jusqu'à ce qu'il soit détecté chez des patients sains (Yao et al, 2005).

Plusieurs travaux ont été publiés récemment et ciblent principalement les chaînes carbonées moyennes (C6-C10), en particulier l'acide (E)-3-méthyl-2-hexènoïque (3M2H) comme principaux composés responsables de l'odeur de transpiration. Cependant, la production de cette molécule n'avait pu être mise en évidence qu'in vivo et aucun précurseur n'avait pu être identifié jusqu'alors.

En réalité, le 3M2H n'est pas un réel produit du métabolisme bactérien, il est émis par l'organisme hôte, lié à une autre molécule « porteuse ».

Il n'y a pas de consensus sur la façon dont est relarguée cette molécule sur la peau. Zeng et al (1996) soutiennent que cet acide gras volatil branché insaturé est transporté vers la surface de la peau par 2 protéines, ASOB1 et ASOB2, liées de manière non covalente. Ce sont des lipocalines, et plus particulièrement des apolipoprotéines D, spécialisées dans le transport de petites molécules hydrophobes dans l'organisme (Yao et al, 2005). Elles sont également impliquées dans le transport de l'acide arachidonique.

Plus récemment, Natsch et al (2003) ont démontré que les acides 3-méthyl-2-hexènoïque et 3-hydroxy-3-méthylhexènoïque étaient au contraire liés de manière covalente à des résidus de L-glutamine dans la sueur apocrine, et qu'ils étaient relargués par une enzyme Zn^{2+}-dépendante de *Corynebacterium*, la Nα acylglutamine aminoacylase.

De même, des thioalcools également incriminés dans l'odeur axillaire, le 3-méthyl-3-mercaptobutan-1-ol, le 3-mercaptohexan-1-ol, et le 2-méthyl-3-mercaptobutan-1-ol. seraient relargués de cette manière. Natsch et al (2006) ont pu proposer des conjugués de la S-hydroxy-alkyl-L-cystéine comme précurseurs de ces composés soufrés, qui sont clivés sur la peau par des enzymes bactériennes, les C-S-β- lyases. Cette équipe est parvenue à cloner le gène codant pour cette enzyme. Une autre équipe avait également repéré l'activité de cette enzyme dans des isolats de staphylocoques (James et al, 2003).

Une alternative est proposée par Starkenmann et al, (Starckenmann et al, 2005) qui ont fourni la preuve que les précurseurs directs des thioalcools sont des conjugués de S-hydroxy-alkyl-cystéine-glycine, clivés en particulier par *Staphylococcus haemolyticus*.

La mise en évidence de ces enzymes bactériennes capables de cliver spécifiquement la liaison entre ces composés aminés et ces acides gras branchés illustre l'adaptation des espèces de la flore commensale humaine au cours de l'évolution.

2.5.6. Elimination biologique des odeurs

Les paragraphes précédents ont montré la production de molécules volatiles à courtes chaînes par la flore commensale. Il n'est pourtant pas certain que ces composés soient inutilisables par les bactéries commensales. Il a été montré que *Micrococcus luteus* par exemple est capable d'utiliser bon nombre de résidus du métabolisme de *C.jeikeium* (James et al, 2004), mais leur vitesse de dégradation par *Micrococcus* est inférieure à leur vitesse de production par *Corynebacterium*, d'autant que *Micrococcus* est présent en plus faible quantité sur l'épiderme que *Corynebacterium*.

2.6. Schéma récapitulatif

Il n'existe pas une, mais un ensemble de molécules produites par les bactéries et qui génèrent des mauvaises odeurs. La dégradation des stéroïdes produit des composés faiblement odorants, mais c'est surtout la dégradation des triglycérides du sébum et des sécrétions apocrines par les

staphylocoques et les propionibactéries, puis leur β-oxydation par les corynébactéries qui produit des acides gras volatils à courtes et moyennes chaînes. Le genre *Corynebacterium* n'est donc pas seul responsable de la formation des odeurs, mais plutôt l'ensemble de la flore commensale en interaction. L'aisselle est donc un écosystème complexe comme le résume le schéma présenté dans la Figure 7.

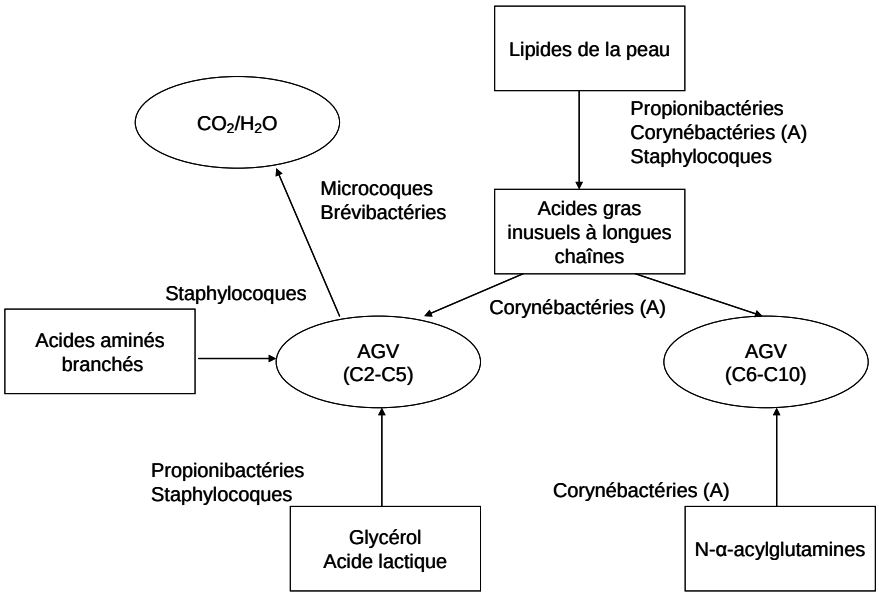


Figure 7 : Rôle des différents micro-organismes dans l'écosystème bactérien (d'après James et al, 2004)

Ce schéma fait apparaître clairement le rôle de chaque genre dans la production des molécules volatiles. Ainsi, l'ensemble de l'écosystème agit, mais le groupe des corynébactéries de type A, les corynébactéries lipophiles, est le dernier maillon dans la production de molécules volatiles malodorantes sous les aisselles, et c'est la raison pour laquelle il est accusé de produire des mauvaises odeurs.

En conclusion, il est intéressant de noter que les vitesses spécifiques de production des molécules volatiles malodorantes soulèvent la question de la production d'odeurs de transpiration spécifiques à la pratique sportive. En théorie, même avec un apport soudain d'eau du fait de la sudation, les vitesses spécifiques de production de molécules volatiles observées permettraient difficilement aux bactéries du stratum corneum de produire des quantités suffisantes de molécules odorantes, surtout en considérant la faible quantité de substrat disponible.

L'hypothèse suivante peut donc être émise : l'importante quantité de molécules odorantes émises durant la pratique sportive serait déjà produite, et l'expulsion sur le stratum corneum du contenu des glandes sudoripares consécutive à l'activation des glandes sudoripares apporterait à la surface de la peau des molécules déjà produites, qui serait alors plus susceptibles de se volatiliser.

3. Perception des odeurs

La physiologie cutanée, la colonisation bactérienne et la production de molécules odorantes ont été décrites. Toutefois, la perception des odeurs est le fruit de l'évaporation partielle de ces molécules jusqu'à la muqueuse nasale où un signal est perçu par le cerveau. Les mécanismes régissant ces phénomènes sont présentés ci-après.

3.1. Caractéristiques d'une molécule odorante

Une molécule odorante doit pouvoir provoquer un stimulus électrique vers le cerveau. Pour cela, 2 conditions sont nécessaires. Elle doit pouvoir se volatiliser, car la quantité présente dans l'air doit être au moins égale au seuil de détection, et elle doit être amphiphile pour passer les barrières du mucus et de l'épithélium nasal. Toutefois, certaines molécules volatiles ne sont pas odorantes (ex : l'eau).

La volatilisation d'une molécule odorante à partir d'une phase liquide vers une phase gazeuse dépend de phénomènes décrits par la thermodynamique. Quantitativement, la volatilité est définie comme la capacité d'un composé à exercer une pression de vapeur supérieure ou égale à 10 Pascals à 20°C mais cette donnée n'est pas forcément accessible. Plus simplement, il est communément admis qu'une molécule de masse molaire inférieure à 300 g/mol est volatile.

3.2. Physiologie de l'olfaction

3.2.1. La muqueuse olfactive

L'olfaction est la perception des substances odorantes. Elle est sollicitée par voie directe (flairage) ou par voie rétro-nasale quand les arômes des aliments se dégagent dans la bouche.

Cette fonction est assurée par la muqueuse olfactive (ou muqueuse jaune) qui recouvre environ 10 cm^2 de la surface dans la partie supérieure de la muqueuse nasale. Des cellules glandulaires, présentes dans la muqueuse et dans la sous-muqueuse, sécrètent continuellement un mucus qui assure l'interface entre le milieu extérieur et la muqueuse olfactive.

La muqueuse olfactive contient des neurones bipolaires qui présentent des cils (entre 20 et 30) à leur extrémité afférente (voir Figure 8). Ces cils baignent dans la couche de mucus tapissant la cavité nasale. Les molécules odorantes se fixent sur le cil par diffusion au travers du mucus ou par l'intermédiaire d'une protéine de transport appelée OBP (odor binding protein). Le corps cellulaire du neurone se situe dans le premier tiers de la muqueuse, et l'axone aboutit dans l'épithélium olfactif, où il se regroupe par faisceaux de 10 à 100 avec d'autres axones. Chaque glomérule du bulbe olfactif reçoit plusieurs milliers de connexions.

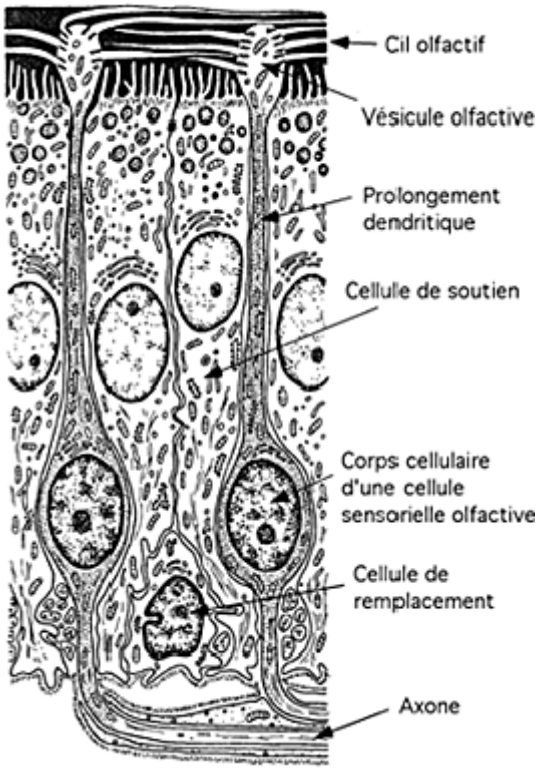


Figure 8 : Schéma de la muqueuse olfactive, (Catala et al, 2007)

3.2.2. L'organe voméronasal

Chez les animaux, il existe des récepteurs sensoriels pour les phéromones situés à l'entrée de la cavité nasale. L'ensemble de ces récepteurs sensoriels est appelé organe voméronasal (VMO).

Chez l'homme, il serait situé à environ 1 cm de l'ouverture de la cavité nasale. Des sujets soumis à une stimulation par des hormones stéroïdes ne perçoivent pas forcément d'odeur, mais la transmission d'un signal électrique vers le cerveau est néanmoins détectée (Berliner et al, 1994 ; Monti-Bloss et Grosser, 1991). Ces hormones stéroïdes seraient potentiellement impliquées dans les comportements sexuels chez l'homme, mais la fascination exercée par cet organe présumé occulte la faiblesse des preuves apportées à son existence.

3.2.3. Intégration du signal olfactif par le cerveau

Plusieurs modèles ont été proposés, comme la théorie vibrationnelle par analogie à l'audition et la vision ou l'effet de polarisation de la membrane neuronale par les molécules odorantes. Le modèle clé-serrure s'est imposé suite à la mise en évidence de l'activation d'un second messager par une protéine G à l'intérieur du neurone olfactif.

La nature protéique exacte des récepteurs portés par les cils de neurones olfactifs n'avait pas été établie avant les travaux d'Axel et Buck en 1991, qui leur a valu le prix Nobel de médecine en 2004. Ils ont mis en évidence l'existence de 339 gènes et 297 pseudo-gènes codant pour des récepteurs différents dans le génome humain, classés en 172 sous-groupes. Le site de reconnaissance du récepteur est constitué d'une séquence d'acides aminés comme le montre la Figure 9. Chaque neurone olfactif n'exprime qu'un seul type de récepteur, mais une molécule odorante peut se lier sur plusieurs récepteurs, ce qui génère un nombre colossal de signaux globaux que peut percevoir le bulbe olfactif.

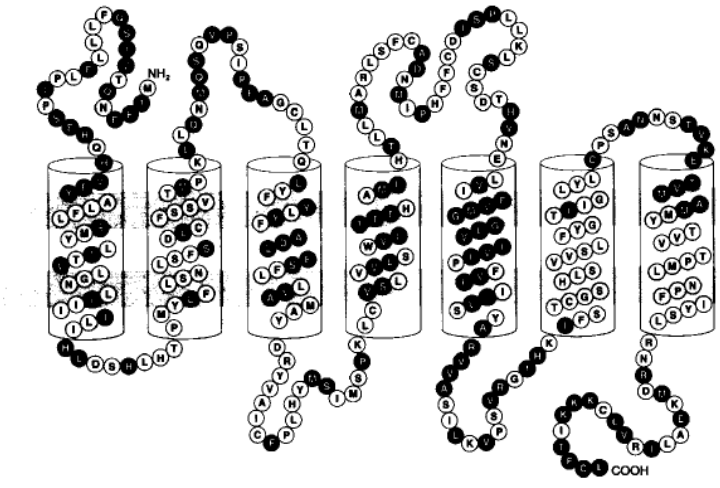


Figure 9 : Position des variations les plus importantes dans la famille des protéines olfactives. Les cylindres représentent les 7 hélices α présumées qui traversent la membrane plasmique d'un cil olfactif. Les parties blanches représentent les séquences peptidiques variables. Les domaines III, IV et V ont montré la plus grande variabilité. (Buck and Axel, 1991)

La théorie des modèles stériques, qui fut avancée par Moncrieff en 1949 puis développée plus tard par Amoore en 1963 et enfin prouvée par Axel et Buck en 1991 prévaut donc aujourd'hui. Toutefois, certaines questions restent en suspens, comme la similitude de perception entre des molécules de conformations spatiales complètement différentes. La similitude de perception la plus communément citée est le cas du musc et des composés macrocycliques ou nitriques (Meierhenrich et al, 2005).

3.2.4. Le seuil de détection

Les animaux comme le chien peuvent percevoir des odeurs de très faibles intensités, mais le nez humain présente également une sensibilité forte, souvent supérieure aux dispositifs analytiques existants, comme les détecteurs à ionisation de flamme ou les spectromètres de masse.

Le seuil de détection d'une molécule est la concentration de cette molécule à laquelle 50% des sujets parviennent à déceler sa présence, généralement exprimée en ppm. Ces seuils de détection sont très variables suivant les molécules comme l'illustre le Tableau 7.

Tableau 7 : Seuils de détection de quelques molécules odorantes (d'après Falcy et Malard, 2005 ; Rahmalo, 1999)

Molécule	**Seuil de détection en ppm à 25°C**
Acide propanoïque	0,16
Benzothiazole	0,08
Acide acétique	0,48
Acide valérique	0,21
Triméthylamine	0,0002
Pyrazine	60
Acide dodécanoïque	10
Acide octanoïque	3
Toluène	2,5
1-3 octénol	0,001
Ethanol	84
Diacetyl	0,002

A titre d'exemple, le seuil de détection de l'éthanol qui a une odeur caractéristique d'alcool a un seuil de perception environ 200 fois supérieur à l'acide acétique (vinaigre) qui est lui-même environ 200 fois supérieur au seuil de détection de la triméthylamine, caractéristique de l'odeur de poisson avarié.

En outre, une odeur est le résultat de la perception de plusieurs molécules odorantes, et le seuil de détection varie selon la température et le dispositif analytique mais une quantification fiable peut être réalisée dans de bonnes conditions opératoires par un jury entraîné.

Ces seuils de détection font apparaître toute la difficulté de la caractérisation des molécules impliquées dans une odeur. En effet, peu de dispositifs analytiques peuvent atteindre ces seuils de détection, ce qui doit mener à une certaine prudence vis-à-vis de l'interprétation des résultats obtenus par chromatographie par exemple, puisqu'une molécule non détectée n'est pas forcément absente du bouquet odorant. Ceci met en évidence la différence entre une molécule odorante et une odeur qui est la résultante de la perception du bouquet olfactif constitué parfois de centaines de molécules odorantes perçues par un nez humain.

Pour pallier cela, plusieurs artifices ont été introduits par les chromatographistes, comme le chauffage des échantillons et/ou le balayage de l'espace de tête suivis d'une pré-concentration sur filtre afin d'améliorer la sensibilité des dispositifs analytiques.

Pour la majorité des molécules olfactives, la distribution des seuils de détection individuels suit une répartition gaussienne. Pour plusieurs molécules associées aux odeurs corporelles, la distribution des seuils de détection est bimodale, mettant en évidence un phénomène appelé « anosmie spécifique » , qui est la non perception de certaines odeurs corporelles par un certain pourcentage de la population (voir Tableau 8).

Tableau 8 : Anosmies spécifiques aux odeurs corporelles
(d'après Boelens et al, 1983, cité par Labows et al, 1999)

Source	**Molécule**	**Odeur associée**	**% d'anosmie**	**Seuil de détection**
Aisselle	Androsténone	Urine	46-50	0,00018 ppm
	Androstenol	Musquée	12	0,0062 ppm
	(E)3M2H	Fruitée	11	0,014 ppm
	Acide 4-hethylheptanoïque	Bouc	16	0,0018 ppm
Aisselle/pied	Acide isovalérique	Fruitée	3	1 ppm
Haleine urémique	Triméthylamine	Poisson	6	
Sperme	1-pyroline	Sperme	16	

Ceci illustre donc que la perception d'une odeur par une personne est en partie liée à des caractéristiques physiologiques, rendant le ressenti propre à chaque individu, et justifie donc l'utilisation de panel impliquant plusieurs juges afin de lisser ces écarts.

4. Interaction des micro-organismes et des molécules odorantes avec le textile

En 1963, Mac Neil et al réalisent une expérience sur l'impact du dépôt d'un agent antimicrobien déposé sur les T-shirts en coton de 13 hommes, 2 femmes, et 15 adolescents (environ 350 mg d'ammonium quaternaire pour 30 g de composant). Une différence significative est observée entre la flore bactérienne présente sur les T-shirts en coton traité et en coton non traité, sans que le panel sensoriel ne perçoive de réduction significative de l'intensité de l'odeur sur les T-shirts. Le fait de conférer un pouvoir anti-microbien au coton n'améliore donc pas la perception des odeurs. Toutefois, le coton est un matériau traditionnellement considéré comme performant en termes de lutte contre les odeurs.

4.1. Notion d'odeur primaire et secondaire

En 1968, Dravniecks a cherché à mettre en évidence l'impact d'un savon anti-bactérien (0,75 % d'hexachlorophène et 0,75 % de 3,4,4'-trichlorocarbamide) sur les molécules volatiles présentes sur les vêtements et sur l'intensité de l'odeur perçue par un panel. Il introduit alors les notions d'odeur primaire, émise par la peau, et d'odeur secondaire, émise par le vêtement. La méthode chromatographique utilisée n'a pas mis d'effet en évidence sur l'intensité de l'odeur, tandis que le panel a perçu une nette diminution de celle-ci. Ceci illustre là encore la difficulté à apposer un dispositif analytique sur la perception olfactive. Par ailleurs, Dravniecks a montré que le savon anti-bactérien diminuait la quantité de bactéries présentes sur la peau mais aussi le débit de sudation.

4.2. Influence de la nature du textile sur les émissions odorantes

Dans 2 études publiées en 2007 et 2008, Mac Queen et al ont cherché à étudier l'impact du matériau, de la construction de la maille et de l'effet sujet sur la flore totale, les corynébactéries, et les corynébactéries lipophiles dénombrées, ainsi que sur les composés volatils émis. Les résultats sont présentés dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Impact du matériau, de la construction de la maille et de l'effet sujet sur la flore bactérienne et les composés volatils émis. Les dénombrements sont réalisés sur gélose et les composés volatils émis sont mesurés par PTR-MS (d'après Mac Queen et al, 2007 et 2008)

Facteurs testés / **Paramètres mesurés**	**Matériau**	**Construction de la maille**	**Effet sujet**
	Laine, PET, Coton	Interlock, jersey, 1x1 rib	4 sujets
Flore totale	+	0	+++
Corynébactéries	+	0	+++
Corynébactéries lipophiles	+	0	+++
Composés volatils relargués	+++	+ (effet sur PET uniquement)	++

Ce tableau met en évidence la prévalence de l'effet sujet sur les dénombrements bactériens, et la prévalence de l'effet matériau sur la quantité de composés volatils relargués.
De plus, seul le PET présente une augmentation de la quantité de molécules volatiles relarguées au bout de 7 jours, comme l'illustre la Figure 10.

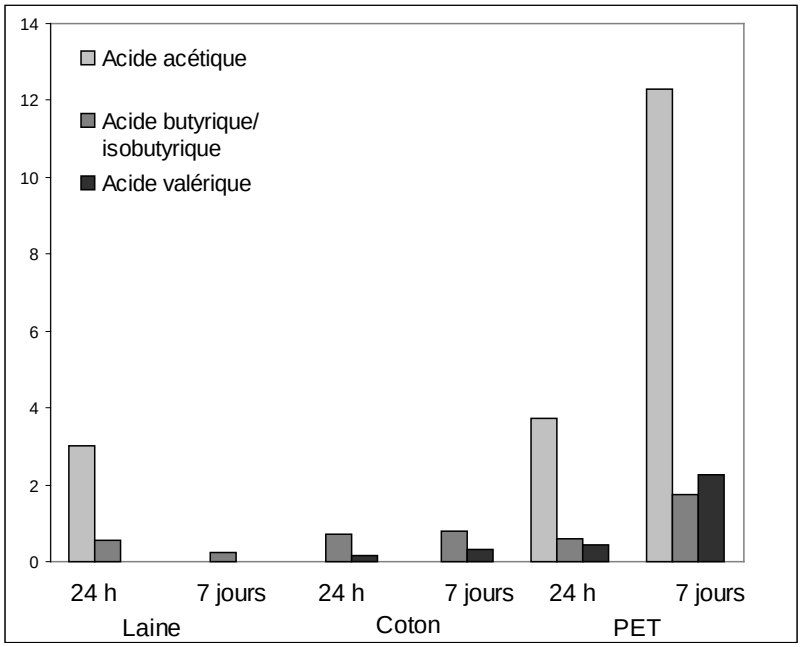


Figure 10 : Quantités moyennes en ppm d'acides carboxyliques relarguées au bout de 24 heures et 7 jours par la laine, le coton et le PET après porter pendant 24 heures, d'après (Mac Queen et al, 2008)

Ces résultats remettent donc clairement en question le lien entre la concentration bactérienne sur textile et l'émission de composés odorants.

4.2.1. Rôle de la morphologie de la fibre

S'il semble possible de quantifier les molécules volatiles relarguées par un textile, la localisation microscopique des composés odorants demeure inconnue. Pour résoudre cette question, Obendorf et al (2006) ont cherché à visualiser la présence de molécules odorantes en déposant 200 µL d'une solution de 9-decen-1-ol à 1g/L en éthanol, vendu par IFF sous le nom de Rozalva® et utilisé dans la formulation des lessives. La précipitation du 9-decen-1-ol en présence de tetraoxyde d'osmium permet sa révélation par microscopie électronique à balayage et par rayon X. Les résultats sont présentés dans la Figure 11.

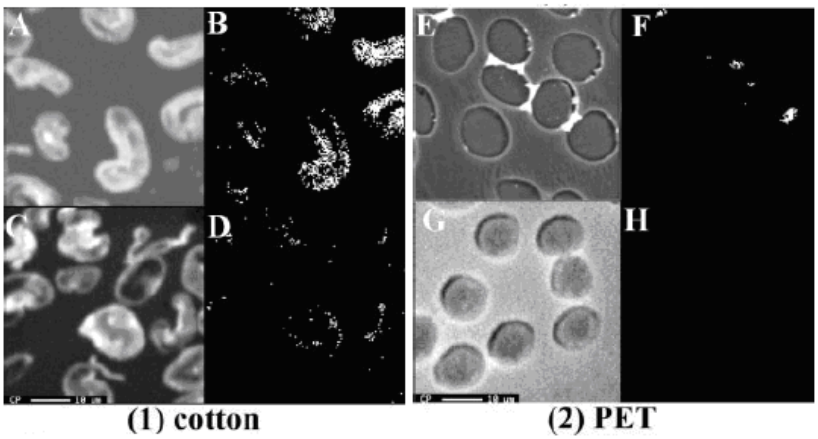


Figure 11 : Images obtenues par microscopie électronique à balayage (A ,C , E, G) et rayons X (B, D, F, H) de coupes transversales de composants en coton (1) et en PET (2) traités avec du Rozalva ® après 70 min (A, B, E, F) et 480 min (C, D, G, H)

Sur les clichés à 70 minutes, il apparaît que le 9-decèn-1-ol pénètre au cœur des filaments de coton, tandis qu'il reste dans les espaces capillaires entre les filaments de PET. Après 480 minutes, le 9-decèn-1-ol est présent en quantité plus importante sur le coton que sur le PET. Ce constat va à l'encontre de l'idée communément admise selon laquelle le coton ne retiendrait pas les molécules volatiles odorantes. Au contraire, au vu de ces résultats, le coton semble retenir le 9-decèn-1-ol en quantité plus importante.

4.2.2. Impact de la pression de vapeur de la molécule odorante

La perception des odeurs étant basée sur la volatilisation de molécules odorantes, Obendorf et al ont cherché à mettre en évidence le lien entre la pression de vapeur et la quantité résiduelle de molécules odorantes à 2 temps de conditionnement différents (voir Figure 12).

Aroma Chemical Properties and Cotton Fabric Retention Data

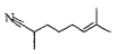
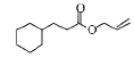
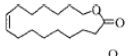
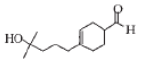
Aroma chemical	Structure	Vapor pressure at 295 K, 760 mmHg mPa	Retention on fabric (%)			
			Cotton		PET	
			70 (min)	480 (min)	70 (min)	480 (min)
Agrunitrile		7460	43	5	35	0
Allyl cyclohexyl propionate		1036	78	20	70	0
Rosalva		790	80	26	77	10
Ambrettolide		30	97	94	96	94
Lyral		10	92	75	91	70

Figure 12 : Quantité résiduelle de molécules volatiles odorantes utilisées dans la formulation des lessives en fonction de la nature du matériau et de la pression de vapeur des composés chimiques considérés

Ceci montre tout d'abord qu'une pression de vapeur élevée favorise l'évaporation et donc l'émission de composés volatils. D'autre part, à même pression de vapeur, un composé chimique aura tendance à se volatiliser un peu plus facilement à partir d'un support en PET qu'à partir d'un support coton, même si ces différences ne sont pas forcément significatives.

Ceci indique donc que la nature chimique des interactions entre la fibre et le composé chimique est un élément crucial dans la capacité de rétention des molécules odorantes par le vêtement.

Toutefois, comme l'illustre le Tableau 10, les molécules responsables des odeurs de transpiration ont des pressions de vapeurs bien plus élevées. Les phénomènes observés par Obendorf sur des composés introduits dans la formulation des lessives sont donc à extrapoler avec précaution pour les odeurs de transpiration.

Tableau 10 : Pressions de vapeur de quelques acides gras à courtes et moyennes chaînes à 20°C

Composé chimique	Pression de vapeur à 20°C en mPa	Pression de vapeur à 20 °C en mm Hg
Acide valérique	19 950	150 000
Acide octanoïque	133 000	1 000 000
Acide nonanoïque	13 300	100 000
Acide décanoïque	Non mesurable	

5. Conclusion

Cette revue bibliographique avait pour but de délimiter le contexte scientifique dans lequel s'inscrit l'émanation des odeurs de transpiration sur les textiles. Avant de définir la problématique de ce travail, plusieurs éléments importants doivent être soulignés.

Tout d'abord, si l'effort physique est associé à une forte sudation eccrine, celle-ci a une valeur énergétique beaucoup trop faible pour pourvoir aux besoins de la flore commensale. Ceux-ci sont nécessairement assurés par la sécrétion apocrine et sébacée, qui sont principalement lipidiques, et dont l'activation n'est pas conditionnée par un effort physique.

Ensuite, quelle que soit la méthode utilisée, les auteurs s'accordent sur le fait que les principaux genres bactériens présents sur la peau sont *Corynebacterium*, *Staphylococcus* et *Propionibacterium* dans les follicules pileux. Les genres *Micrococcus* et *Streptococcus* interviennent dans une moindre mesure.

Exception faite des pieds où la couche cornée peut être source de substrat protéique, et des produits de dégradation des phéromones qui ne sont perçus que par 50 % de la population, c'est principalement le métabolisme lipidique qui sera sollicité chez la flore commensale. Par conséquent, la résultante du métabolisme de la flore commensale sera principalement des acides gras à courtes chaînes dont les insaturations et les branchements sur la chaîne principale empêcheront l'oxydation par la flore commensale.

Enfin, le matériau constitutif du vêtement apparaît être un élément majeur dans la perception de l'odeur de transpiration. Ainsi, les résultats de Mac Queen et al (2008) montrent que le PET est un matériau qui relargue des molécules odorantes en plus forte quantité que le coton, tandis que Obendorf et al (2006) ont montré qu'une molécule se volatilisera de manière plus importante à partir d'un textile en PET qu'à partir d'un textile en coton. Cette question sera traitée dans le dernier chapitre de ce travail.

Introduction aux résultats

Le premier chapitre consacré à la revue bibliographique a montré que la peau était colonisée principalement par les genres *Corynebacterium, Staphylococcus* et *Propionibacterium* dont la présence est associée aux odeurs de transpiration. Les substrats disponibles sur la peau proviennent des produits d'excrétion de l'individu hôte ou de cellules mortes, sous forme de lipides à faible valeur énergétique. Le produit du catabolisme microbien est constitué de composés chimiques dont certains sont odorants, tels que l'acide acétique, l'acide butyrique, l'acide valérique, l'acide isovalérique ou l'acide 3-méthyl-2-hexènoïque.

A conditions opératoires équivalentes, suivant la matière du vêtement portée par un sujet donné, celui-ci sera plus ou moins odorant, mais la raison de ces différences n'est pas bien connue.

Ces éléments permettent d'établir un schéma qui présente la succession des mécanismes aboutissant à la perception d'une odeur (Figure 13).

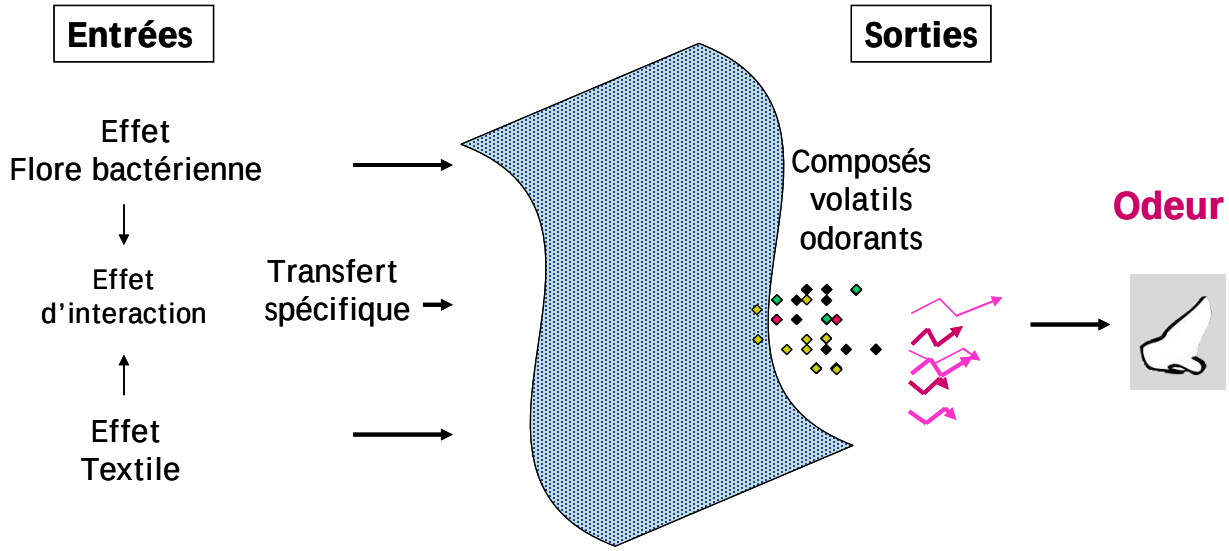


Figure 13 : Présentation du système de l'étude

La mise en contact du textile avec la peau du sujet provoque l'émission de composés volatils malodorants par le textile. Deux effets majoritaires ont été identifiés suite à l'étude bibliographique : l'effet flore bactérienne, et l'effet textile. Un possible effet d'interaction flore bactérienne-textile est à prendre à compte, notamment le cas d'un transfert spécifique d'une souche bactérienne vers une matière donnée.

Dans ces conditions, le travail présenté ici s'attachera à déterminer l'importance de chacun de ces paramètres dans la perception de composés volatils odorants.

En préalable, le matériel et les méthodes utilisés dans le cadre de cette étude seront présentés dans le prochain chapitre (chapitre 2).

Le premier chapitre de résultats (chapitre 3) sera consacré à l'effet de la flore bactérienne sur les émissions odorantes d'après l'étude de la flore commensale de 14 sujets. Pour cela, l'effet textile sera fixé, c'est-à-dire que l'étude ne portera que sur une matière, le polyéthylène téréphtalate. Le but sera d'évaluer la concentration bactérienne sur la peau et sur textile après l'effort et de quantifier le taux de transfert. Les émissions odorantes seront mesurées en parallèle à l'aide de 3 méthodes différentes. L'impact de la concentration bactérienne sur les émissions odorantes sera alors évalué.

L'effet d'interaction flore bactérienne-textile sur les émissions odorantes sera étudié dans le chapitre 4 en élargissant le panel de textiles. En effet, la flore commensale n'est pas une entité homogène, mais un ensemble de cellules microbiennes de genre, espèces et souches différentes en quantités différentes pouvant interagir avec leur environnement. Pour cette raison, la flore commensale d'un seul sujet sera caractérisée en détail à l'aide d'une méthode dont le développement sera exposé. Le transfert spécifique de chacune des espèces bactériennes vers 4 matières différentes et le lien entre le transfert bactérien spécifique seront alors évalués.

Enfin, le cinquième et dernier chapitre sera dédié à l'effet textile en fixant l'effet flore bactérienne. Les émanations odorantes de 8 textiles différents seront évaluées à l'aide d'une quatrième méthode de mesure d'odeurs, le nez électronique, en parallèle avec une mesure par panel. Ceci permettra d'identifier des indicateurs de prédiction du comportement des textiles vis-à-vis des odeurs.

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

Ce chapitre est consacré à la présentation des matières textiles utilisées, aux protocoles mis en place avec les testeurs, aux techniques de microbiologie classique puis de biologie moléculaire mises en place et enfin, aux différentes méthodologies de mesures d'odeurs utilisées dans cette étude.

1. Caractéristiques des composants textiles utilisés dans cette étude

Les expériences présentées dans ce travail utilisent 8 matières constituées de 4 matériaux : le polyéthylène téréphtalate (PET), le polyamide 6,6 (PA 6,6), l'élasthanne (EA) et le coton. Tous les échantillons de textile ont été fournis par l'atelier de prototypage textile de Oxylane, Villeneuve d'Ascq.

1.1. Matières utilisées

Le Tableau 11 présente les caractéristiques des matières utilisées (composants) dans les expérimentations présentées dans les chapitres suivants.

Tableau 11 : Caractéristiques techniques des matières testées.

Composant	**Masse surfacique (g/m²)**	**Composition**	**Titre de fil (g/10000m)**	**Nombre de filaments**
Composant 1	125	42 % PET 40 % PET 18 % PET	78 83 33	68 36 24
Composant 2	92	100 % PA 6,6	44	34
Composant 3	150	77 % PA 6,6 23 % EA	44 44	34 4
Composant 4	145	100 %CO	200	120
Composant 5	130	45 % PET 55 % PA	83 90	72 68
Composant 6	155	85 % PET 15 % EA	83 44	72 2, 3 ou 4
Composant 7	265	37 % PET 44 % PA 22 % EA	167 78 44	Inconnu 68 2, 3 ou 4
Composant 8	130	78 % PET 22 % EA	50 44	72 2, 3 ou 4

PET : Polyéthylène téréphtalate, PA 6,6 : Polyamide 6,6, EA : Elasthanne, CO :Coton. En italique : données communiquées par le fournisseur mais non vérifiées.

1.1.1. Le polyéthylène téréphtalate

Le polyéthylène téréphtalate (PET), communément appelée PET, est un polymère thermoplastique obtenu par polycondensation de l'acide téréphtalique et de l'éthylène glycol. Le motif élémentaire est présenté dans la Figure 14.

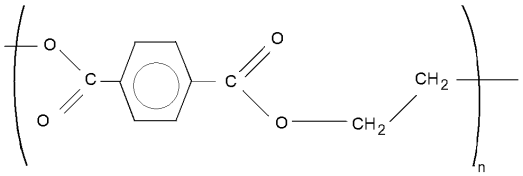


Figure 14 : Motif élémentaire du polyéthylène téréphtalate. D'après Carrega (2007)

Il est utilisé dans le textile pour sa légèreté, son séchage rapide, son faible coût de revient et sa bonne disponibilité dans les zones de production asiatiques.
La Figure 15 montre une fibre de polyéthylène téréphtalate (PET) provenant du composant 1 (voir p. 69) grossie 1000 fois au microscope électronique à balayage.

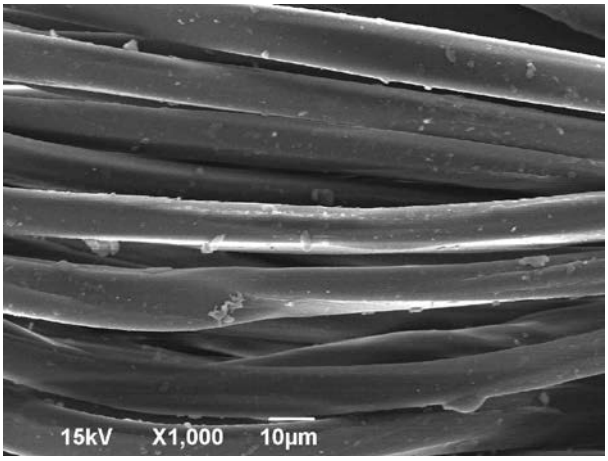


Figure 15 : Photographie au microscope électronique à balayage d'une fibre de PET

1.1.2. Le polyamide 6,6

Les polyamides sont plus connus sous leur nom commercial, le Nylon ®. Le polyamide utilisé ici est un polyamide 6,6 est obtenu par polycondensation de l'hexaméthylène diamine (NH_2-$(CH_2)_6$-NH_2) et l'acide adipique (COOH-$(CH_2)_4$-COOH). Ce dernier est conditionné sous forme de sel de chlorure d'adipoyle. Il est nommé polyamide 6,6 pour le différencier du

polyamide 6 de formule brute $H[NH-(CH_2)_5-CO]_nOH$ qui a été développé pour contourner l'exclusivité du brevet déposé par Dupont.

La Figure 16 présente le motif élémentaire du PA6,6.

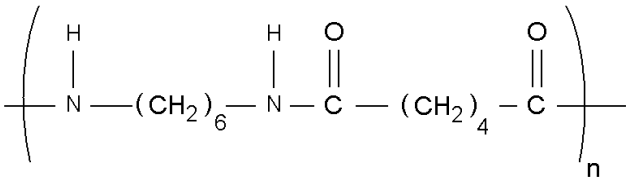


Figure 16 : Motif élémentaire du polyamide 6,6, connu sous le nome commercial Nylon®
D'après Carrega (2007)

La Figure 17 montre une fibre de polyamide 6,6 provenant du composant 3 grossie 1000 fois au microscope électronique à balayage.

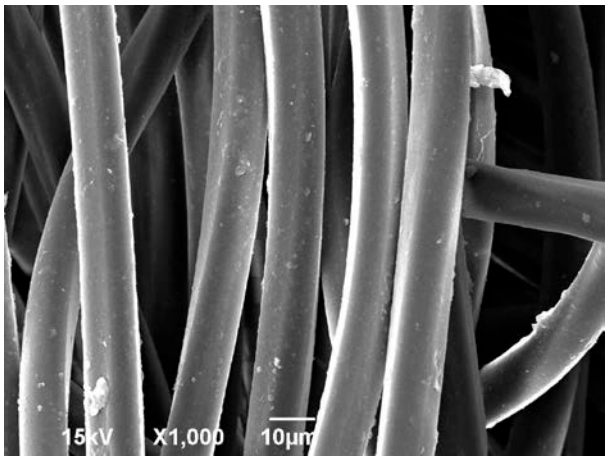


Figure 17 : Photographie au microscope électronique à balayage d'une fibre de polyamide 6,6

1.1.3. L'élasthanne

Ici, le terme élasthanne sera utilisé pour le Lycra®, un copolymère de polyurée et de polyuréthane.

Le polyuréthane dont la formule développée est présentée dans la figure ci-après est obtenu par polyaddition de polyisocyanate sur des polyols. Le motif élémentaire du polyuréthane est présenté dans la Figure 18.

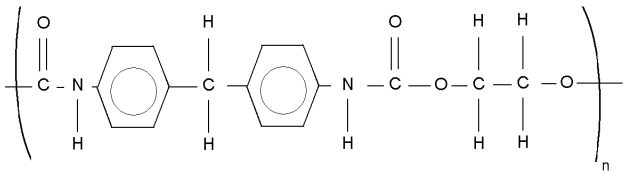


Figure 18 : Motif élémentaire du polyuréthane, copolymère entrant dans la composition du Lycra ®
D'après Carrega (2007)

Les polyurées, dont la formule semi –développée est exposée dans la figure suivante sont obtenues par polyaddition d'un polyisocyanate et d'une polyamine. Le motif élémentaire d'une polyurée est présenté dans la Figure 19.

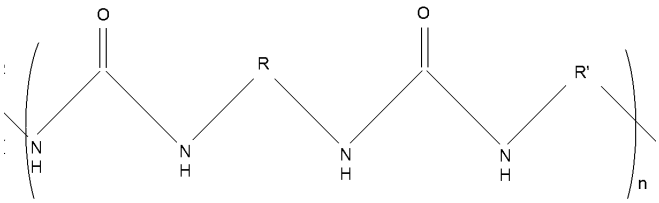


Figure 19 : Motif élémentaire de polyurée, copolymère entrant dans la composition du Lycra ®
D'après Carrega (2007)

L'élasthanne est utilisé pour apporter du maintien à l'usager ou tout simplement pour rendre un composant plus souple et améliorer son confort. Son équivalent d'origine naturelle est le polyisoprène, constituant majoritaire du caoutchouc, mais celui-ci peut causer des allergies.
Dans le composant 3, l'élasthanne est localisé au cœur du tricot, il n'a donc pas été possible de le visualiser directement au microscope électronique à balayage. En revanche, la photographie présenté dans la Figure 20 illustre la structure microscopique d'un tricot réalisé en fil d'élasthanne à partir du même fil que celui utilisé dans la confection du composant 3 grossi 1000 fois.

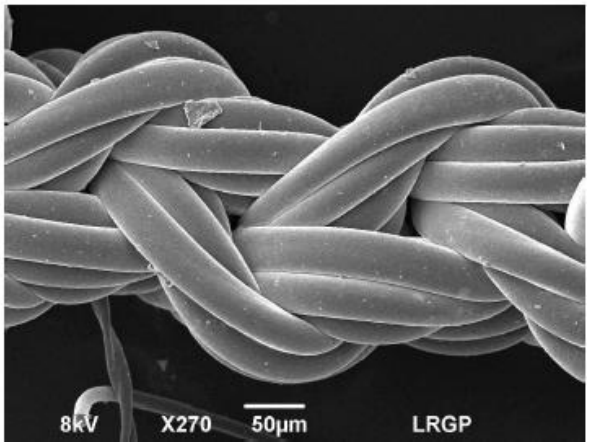


Figure 20 : Photographie au microscope électronique à balayage d'un tricot réalisé en fil d'élasthanne

1.1.4. Le coton

Le coton est ainsi nommé car il est issu de la transformation des fleurs de coton, mais à l'échelle moléculaire, la fibre de coton est constituée à 90 % de cellulose, un polymère d'unité de glucoses reliées entre elles par des liaisons β 1-4. Le motif élémentaire est présenté Figure 21.

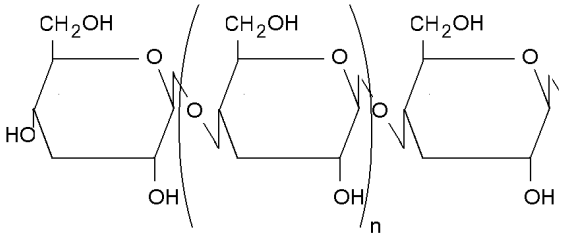


Figure 21 : Formule de la cellulose, molécule constitutive de la matière coton

Le coton est largement utilisé, mais lourd au porter et long à sécher, ce qui le rend peu propice à la pratique sportive.

La Figure 22 montre une fibre de coton provenant du composant 4 grossie 1000 fois au microscope électronique à balayage.

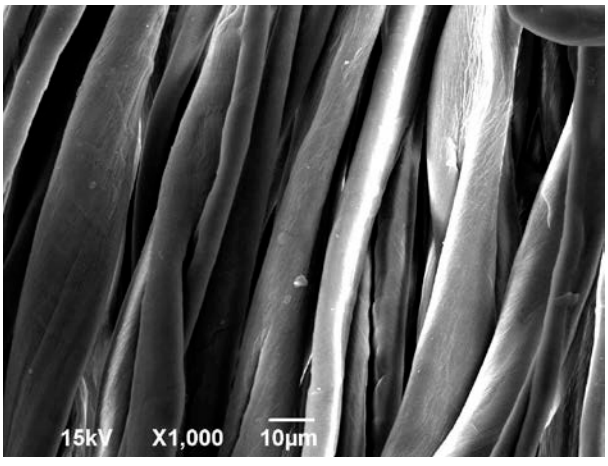


Figure 22 : Photographie au microscope électronique à balayage d'une fibre de coton

1.2. Calcul de la surface spécifique d'un composant

La mesure de l'adsorption d'azote est une méthode qui permet d'évaluer la surface spécifique d'un matériau. Cette méthode est utilisée pour des matières dont les surfaces spécifiques sont très importantes, de l'ordre d'1 m² par gramme, comme les poudres de charbon actif, mais pour des textiles, les surfaces spécifiques à déterminer étaient au dessous du seuil de détection et n'ont pas fourni de résultats. Par défaut, il est néanmoins possible de calculer la surface spécifique d'un filament en l'assimilant à un cylindre.

Les photographies au microscope électronique à balayage ont montré l'absence de pores sur les fibres utilisées. A partir de la masse surfacique du composant, de sa composition, du titre et du nombre de filaments des fils utilisés, il est possible de calculer la surface spécifique du composant entier.

Pour calculer la surface spécifique d'un fil, le calcul du rayon des filaments est nécessaire. Pour obtenir le rayon en m d'un filament, le filament est assimilé à un cylindre, puis, à partir de la masse en grammes du filament et de la densité du polymère utilisé, il est possible de calculer son volume. A partir de la formule du volume d'un cylindre, le rayon du filament est accessible.

Le titre est la masse du fil pour 10 000 m. En divisant le titre par 10 000 pour le rapporter à un mètre, puis par le nombre de filament, apparaît la masse de polymère consommée pour produire un mètre de filament, soit

$$A = \frac{titre \times 10^{-4}}{nb\ filaments}$$

A partir de la densité du polymère, exprimée en $g.cm^{-3}$, la masse en gramme d'un mètre de filament peut être convertie en volume exprimé en m^3.
Il vient ainsi v', le volume d'un mètre de filament.

$$v' = \frac{titre \times 10^{-4}}{nb\ filaments \times d \times 10^{6}} = \frac{titre \times 10^{-10}}{nb\ filaments \times d}$$

La formule du volume d'un cylindre ($V = \pi r^2 h$) permet d'accéder au rayon du filament. Puisque le raisonnement est posé sur un mètre de filament, h=1, donc le rayon peut être calculé par la formule suivante :

$$r = \sqrt{\frac{v'}{\pi \times h}} = \sqrt{\frac{titre \times 10^{-10}}{\pi \times nb\ \ filaments \times d}}$$

Pour déterminer la surface totale offerte par les filaments d'un fil pour un m² d'étoffe, il faut connaître la consommation en fil ou en filament pour un m² d'étoffe.

A partir de la masse surfacique de l'étoffe en g/m², et du pourcentage massique de chacun des fils constitutifs, la masse de fil consommé pour un m² d'étoffe apparaît. Il suffit ensuite de la diviser par A, la masse pour un mètre de filament pour obtenir la longueur totale de filaments consommés pour un m² d'étoffe. Soit

$$l = \frac{masse\ surfacique \times \%\ \ fil}{A} = \frac{masse\ surfacique \times \%\ \ fil \times nb\ \ filaments}{titre \times 10^{-4}}$$

A partir du rayon d'un filament, et de la longueur de filaments consommés sur un m² d'étoffe, la surface d'échange spécifique à une matière donnée pour un m² d'étoffe apparaît aisément grâce à la surface d'un cylindre, soit $S = 2\pi rl$, soit

$$S_{spé} = 2\pi \times \sqrt{\frac{titre \times 10^{-10}}{\pi \times nb\ \ filaments \times d}} \times \frac{masse\ \ surfacique \times \%\ \ fil \times nb\ \ filaments}{titre \times 10^{-4}}$$

A partir des caractéristiques présentées dans le Tableau 11, p. 62, les surfaces spécifiques des composants utilisés dans les chapitres 3 et 4 sont calculées. Elles sont présentées dans le Tableau 12.

Tableau 12 : Caractéristiques techniques des matières textiles utilisés

Composant	Composition	Titre (g/10000m)	Nombre de filaments	Densité (g/cm^3)	Rayon du filament (µm)	Surface spécifique (m^2)
Composant 1	42 % PET 40 % PET 18 % PET	78 83 33	68 36 24	1,34 1,34 1,34	5 7 5	15,6 10,5 4,8 = 30,9
Composant 2	100 % PA6,6	44	34	1,15	6	26,9
Composant 3	77 % PA6,6 23 % EA	44 44	34 4	1,15 1,15	6 17	33,6 3,4 =37,0
Composant 4	100 % coton	200	120	1,55	6	32

La composition, le titre, et le nombre de filaments sont des données obtenues auprès du fabricant. Densité du PET, du coton, de l'EA et du PA 6,6 d'après (Carrega, 2007)

Ce calcul montre que pour un m^2 d'étoffe, la surface spécifique est comprise entre 26,9 et 37 m^2, ce qui offre un espace colonisable considérable pour la flore bactérienne. C'est pourquoi il est nécessaire d'étudier plus précisément les caractéristiques intrinsèques de ces surfaces pour déterminer leur rôle dans l'affinité bactérienne pour ces composants.

1.3. Energie de surface des fibres utilisées

L'énergie de surface d'un composant en $J.m^{-2}$ est l'énergie libre disponible à la surface d'un corps donné. L'énergie de surface est la résultante de 2 composantes, une composante dispersive, appelée dispersion de London, et une composante non dispersive, liée aux interactions dipolaires, aux liaisons hydrogènes, et aux acides/bases de Lewis. Une faible énergie de surface signifie que le matériau est hydrophobe, une forte énergie de surface signifie que le matériau est hydrophile. Le Tableau 13 fournit les énergies de surface de matières utilisées ici.

Tableau 13 : Energie de surface des 4 matériaux utilisés

Matériau	Energie de surface (mJ/m^2) à 20°C
Elasthanne	30[1]
Cellulose (coton)	36[2]
Polyéthylène téréphtalate	43[2]
Polyamide 6,6	46[2]

D'après 1 : Sugura et al (2005) et 2 : Lamure (2007).

Des 4 matières testées, l'élasthanne est la matière la plus hydrophobe, et le polyamide 6,6 est la matière la plus hydrophile.

Il faut noter ici que les composants textiles subissent des traitements de surface en fin de fabrication pour augmenter leur hydrophilie, mais il s'agit de données confidentielles que les fabricants n'ont pas souhaité communiquer.

2. Protocoles avec testeurs

2.1. Etude de l'impact de la flore sur les odeurs (chapitre 3)

Quatorze testeurs parmi le personnel masculin entre 30 et 55 ans de l'entreprise Oxylane ont été sélectionnés pour participer à cette étude. Une annexe à leur contrat de travail attestant de leur consentement éclairé a été signée par chaque participant avant le début de l'étude.

Le test est réalisé à midi. Il leur a été demandé de prendre leur douche le soir précédent et de ne pas porter de déodorant pendant les 2 jours précédant le test, mais cette consigne n'a pas été respecté par les testeurs, par oubli ou par souci d'hygiène car ils devaient passer une matinée sur leur lieu de travail. La durée entre la dernière douche et la pratique sportive est donc approximée à 4 h.

Pour chacun des testeurs, un t-shirt a été réalisé à l'atelier de prototypage industriel du textile à Décathlon Campus, Villeneuve d'Ascq. Ces T-shirts présentent une fermeture à glissière au milieu à l'avant et à l'arrière afin de pouvoir séparer le vêtement en 2 : une partie est destinée à l'extraction bactérienne, l'autre à la mesure de l'odeur.

Trois testeurs sont sollicités par semaine. L'exercice physique auquel sont soumis les sujets est une course sur tapis de 35 minutes à 10 km/h maximum à la salle de sport Océa, Villeneuve d'Ascq à une température ambiante d'environ 19 °C. Après l'exercice, ils sont écouvillonnés sur une surface de 10 cm^2 sous l'aisselle gauche délimitée par un cache de 2 x 5 cm.

La partie droite du T-shirt est stockée au laboratoire Soft (Décathlon Campus, Villeneuve d'Ascq) pendant 24 heures à 20 °C et 65 % d'humidité relative ; puis envoyés à l'institut français du textile et de l'habillement, (IFTH, Villeneuve d'Ascq) pour mesure de l'odeur (voir p.86 et p.87).
La partie gauche du T-shirt et l'écouvillon de chacun des participants sont expédiés à 4 °C par Chronopost® au Laboratoire des Réactions et du Génie des Procédés (LRGP, Nancy) pour dénombrement bactérien.

2.2. Etude de l'interaction flore-textile et de l'effet textile (chapitres 4 et 5)

En raison du coût des analyses et pour ne pas multiplier les facteurs à mesurer, un seul testeur a été recruté. Il lui a été demandé de ne pas boire d'alcool ni de fumer durant la durée de l'étude et de ne pas porter de déodorant. La durée entre la dernière douche et le test est d'environ 24 heures. Ces conditions ont été respectées.

Des T-shirts de taille L (6) ont été réalisés à l'Atelier de Prototypage Industriel (Décathlon Campus, Villeneuve d'Ascq) et lavés avant utilisation. Ils présentaient sous les aisselles les empiècements suivants :
- 3 T-shirts empiècements composant 1 et 4
- 3 T-shirts empiècements composants 2 et 3

La pratique sportive est une marche à 6 km/h environ d'une heure par beau temps. Les empiècements sont découpés et placés à sécher dans une étude à 25 °C aux 3 temps de séchage fixés (20 minutes, 24 heures et 7 jours).
La même opération a été réitérée pour mesurer l'effet textile sur les 8 composants testés du chapitre 5.

Le séchage est réalisé dans une étuve afin de standardiser le biais introduit par les polluants éventuels, et à chaque fois qu'un composant est placé dans l'étuve pour sécher après usage, un composant propre provenant du même lot y est placé simultanément. A chaque échantillon obtenu après usage pour un temps de séchage donné correspond donc un échantillon propre.

Pour bloquer les phénomènes d'évaporation au temps de séchage souhaité, les échantillons seront congelés après séchage. Ceci sera répété pour les 3 temps de séchage (20 minutes, 24 heures et 7 jours). L'émission des composés odorants sera mesurée par nez électronique (voir p.87) pour les textiles propres et les textiles usagés.

3. Microbiologie

3.1. Matériel de microbiologie

Désignation	**Fournisseur**	
Hôte à flux laminaire	SIBM Plastec	Ivry-sur-Seine, France
Bec Bunsen	Camping Gaz	Saint-Genis-Laval, France
Etaleur	Socimed	Stains, France
Autoclave (100 L)	Science Medecine Industrie	Montpellier
Etuve	Heraeus SA	Yverdon les bains, Suisse
Spectrophotomètre	Hitachi Ltd	Tokyo, Japon
Ecouvillons secs	Copan diagnostic Inc.	Murrieta, USA
Gants en latex	Techline	Austin, USA
Boite de Petri	VWR	West Chester, USA
Antiseptique pour gants	Anios	Hellemmes, France
Fiole d'Erlenmeyer	Duran	Mains, Allemagne
Agitateur magnétique	Ika-Works Inc.	Wilmington, USA
Barreaux aimantés 3,5 cm	VWR	West Chester, USA
Centrifugeuse	Beckman Coulter	Brea, USA

3.2. Réactifs pour milieux de culture

Désignation	**Fournisseur**	
Bouillon Cœur Cervelle	Solabia, Biokar Diagnostic	Pantin, France
Agar	Sigma Aldrich	Saint-Louis, USA
NaCl	Carlo Erba Reagenti SPA	Rodano, Italy
Glucose	Sigma Aldrich	Saint-Louis, USA
Tween 80	VWR	West Chester, USA
Eau MilliQ	Millipore	Billerica, USA

3.3. Souches pures utilisées durant ces travaux

Nom	**Code**	**Collection**
Corynebacterium jeikeium	DSMZ 7171	DSMZ
Corynebacterium minutissimum	CM	Interne au laboratoire
Staphylococcus aureus	CIP 7625	Institut Pasteur
Staphylococcus epidermidis	SE	Interne au laboratoire
Streptococcus equii	S1	Interne au laboratoire
Streptococcus equii	S6580	Interne au laboratoire

3.4. Méthode de collecte bactérienne sur la peau

Le manipulateur chargé de la collecte bactérienne porte des gants préalablement désinfectés à l'aide de la solution antiseptique Anios. Deux millilitres d'eau physiologique stérile sont versés dans le tube d'un écouvillon stérile. Celui-ci est alors frotté sous l'aisselle du sujet sur une surface évidée de 2 x 5 cm (10 cm^2) dans un cache en polypropylène. L'écouvillon est vigoureusement frotté 3 x 20 s sur la zone à prélever. Entre chaque période de 20 s, l'écouvillon est agité dans l'eau physiologique.

Une fois la collecte terminée, le tube contenant l'écouvillon est soumis à une agitation par vortex durant 1 min.

3.5. Méthode de collecte bactérienne sur textile

Pour prélever un échantillon sur le T-shirt, une zone d'environ 80 cm² (grossièrement équivalente à un cercle de 10 cm de diamètre) est découpée sous la hôte à flux laminaire à l'aide d'une pince et d'une paire de ciseaux flambés à l'alcool. Cet échantillon est placé dans une fiole d'Erlenmeyer de 250 mL à col large préalablement stérilisée à l'autoclave puis pesée. La masse de l'échantillon est obtenue par soustraction et la surface exacte est calculée à l'aide de la masse surfacique du textile.

$$S_{tissu} = \frac{m_{Erlen\ avec\ tissu} - m_{Erlen\ vide}}{masse \quad surfacique} \times 10^4$$

Où $m_{Erlen\ avec\ tissu}$ et $m_{Erlen\ vide}$ sont exprimées en g et la masse surfacique en g/cm².

Pour extraire les bactéries de l'échantillon textile, il aurait été judicieux d'utiliser un tensioactif, mais le polysorbate 80 (Tween 80) favorise la culture de *C.jeikeium*, ce qui aurait pu causer un problème de représentativité. Par conséquent, 2 méthodes mécaniques ont été utilisées dans cette étude. La première consiste à introduire l'échantillon dans une fiole d'Erlenmeyer stérile contenant un barreau aimanté préalablement stérilisée à l'autoclave. Dans cette fiole sont versés 100 mL d'eau physiologique stérile. Durant 30 minutes, les échantillons sont soumis à une agitation de 300 tours par minute. La suspension d'extraction est alors centrifugée à 10 000g pendant 2 x 20 min et reprise dans 5mL d'eau physiologique.
La deuxième possibilité est de placer l'Erlenmeyer dans un bain à ultrasons et de soumettre l'échantillon à 30 minutes d'ultrasons.

3.6. Calcul de la concentration bactérienne sur la peau et sur textile

La suspension bactérienne obtenue par les méthodes de collecte précédemment décrites est diluée en cascades. Cent microlitres de la suspension C^{d+1}sont versés dans des tubes Eppendorfs contenant 0,9 mL d'eau physiologique (NaCl à 9 g/L) constituant alors la suspension de concentration bactérienne C^d. La manipulation est réitérée jusqu'à obtention de la dilution 10^{-7}. Cent microlitres de la suspension C^d sont déposés sur gélose et étalés à l'aide d'un étaleur stérile jetable. Ceci est réalisé en 3 exemplaires pour chacune des dilutions. Les boîtes gélosées inoculées ainsi obtenues sont incubées à 30 °C pendant 7 jours. Les colonies

sont alors comptées sur les boîtes en excluant celles contenant plus de 300 colonies et celles qui en contiennent moins de 30.

Le dénombrement cutané est basé sur le fait que les bactéries extractibles de 10 cm² du stratum corneum sont collectées dans 2 mL de suspension mère. Pour chaque boîte répondant aux critères précédemment énoncés, le dénombrement de la flore commensale présente par cm² de peau est donc C_i :

$$C_i = \frac{n_i \times V_{écouvillon}}{d \times v_{déposé} \times S}$$

Où n_i est le nombre de colonies détectées sur la boîte, *d* la dilution de la suspension bactérienne, $v_{déposé}$ est le volume en mL de la suspension à la dilution d déposée (soit 0,1 mL), $V_{écouvillon}$ est le volume d'eau physiologique dans lequel est repris l'écouvillon (soit 2 mL) et S est la surface écouvillonnée en cm² (soit 10 cm²). Ces facteurs permettent d'obtenir N_i, le comptage bactérien en UFC/cm² de peau pour une répétition.

Le dénombrement moyen est obtenu par

$$C_m = \frac{\sum_1^n C_i}{n}$$

Où n est le nombre de répétions, soit 3.

L'écart-type est obtenu par le calcul suivant :

$$s = \sqrt{\frac{\sum_1^n (C_i - C_m)^2}{n-1}}$$

Sachant que les boîtes contenant un nombre de colonies inférieur à 30 et supérieur à 300 sont exclues, les limites de détection de cette méthode sont :

- limite de détection basse

$$L_B = \frac{C_m \times V_{écouvillon}}{d \times v_{déposé} \times S} = \frac{30 \times 2}{10^0 \times 0{,}1 \times 10} = 6 \times 10^1 \quad UFC / cm^2$$

- limite de détection haute :

$$L_H = \frac{C_m \times V_{écouvillon}}{d \times v_{déposé} \times S} = \frac{300 \times 2}{10^{-7} \times 0{,}1 \times 10} = 6 \times 10^9 \quad UFC / cm^2$$

Sachant que les travaux exposés dans la littérature font état de dénombrements variant entre 10^3 et 10^7 UFC/cm² de peau, ces limites de détection semblent convenir à l'étude présentée ici.

Sur le même principe que le dénombrement cutané, la numération bactérienne est effectuée et Ci, la concentration bactérienne sur le textile, est alors calculée de la manière suivante :

$$C_i = \frac{n_i \times V_{mère}}{d \times v_{déposé} \times S_{tissu}}$$

Où C_i est le comptage de bactéries par cm² de textile, $V_{mère}$ est le volume d'eau physiologique dans lequel est reprise la flore totale (5 mL), d est la dilution de la suspension, $v_{déposé}$ est le volume déposé sur la gélose (0,1 mL) et S_{tissu} la surface exacte de textile en cm² calculée selon l'expression précédente.

Le dénombrement moyen et l'écart-type sont calculés suivant le même principe. Les limites de détection sont :

- limite de détection basse

$$L_B = \frac{n_i \times V_{mère}}{d \times v_{déposé} \times S_{tissu}} = \frac{30 \times 5}{10^0 \times 0{,}1 \times 100} = 1{,}5 \times 10^1 \quad UFC/cm^2$$

- limite de détection haute :

$$L_H = \frac{n_i \times V_{mère}}{d \times v_{déposé} \times S_{tissu}} = \frac{300 \times 5}{10^{-5} \times 0{,}1 \times 100} = 1.5 \times 10^7 \quad UFC/cm^2$$

Trop peu de données chiffrées sont disponibles dans la littérature pour évaluer la pertinence de ces bornes.

4. Biologie moléculaire

4.1. Matériel

Désignation	**Marque**	
Thermocycleur	Applied Biosystems	Carlsbad, USA
Cuve TTGE DCode	BioRad	Hercules, USA
Cuve electrophorèse	BioRad	Hercules, USA
Générateur de tension constante	BioRad	Hercules, USA
Gel Doc	Vilber Lourmat	Marne-la-Vallée, France

Hotte à flux laminaire	Telstar	Terrassa, Espagne
Four à mico-ondes	LG Electronics	Séoul, Corée du Sud
Balance	Precisa Gravimetrics AG	Dietikon, Suisse
Balance de précision	Mettler	Zurich, France
Propipettes	Gilson	Middletown, USA
Cônes jetables	VWR	West Chester, USA
Seringue	Terumo	Somerset, USA
Aiguilles	Terumo	Somerset, USA
Filtres seringues 0,2 µm	Millipore	Billerica, USA
Tubes stériles 50 mL	Falcon	Franklin Lakes, USA
Pipettes jetables	Greiner Bio-one	Monroe, USA
Petite plaque de verre TTGE	Biorad	Hercules, USA
Gants Nitrile	Techline	Austin, USA

4.2. Réactifs utilisés en biologie moléculaire

Désignation	**Fournisseur**	
Eau miliQ	Millipore	Billerica, USA
Base Tris	Fluka	Saint-Louis, USA
Sodium EDTA	Sigma Aldrich	Saint-Louis, USA
Triton X-100	VWR	West Chester, USA
Acide acétique glacial	VWR	West Chester, USA
Acide borique	Sigma Aldrich	Saint-Louis, USA
Glycérol	VWR	West Chester, USA
Phénol/chloroforme	Sigma Aldrich	Saint Louis, USA
Phénol/chloroforme/acide isoamylique	Amresco	Solon, USA
Kit DNAeasy	Qiagen	Venlo, Pays-Bas
Kit Investigator	Qiagen	Venlo, Pays-Bas
Kit purification Extract II	Macherey-Nagel	Düren, Allemagne
Taq Polymérase	MP Bio	Santa Ana, USA
Tampon MgCl2	MP Biomedicals	Santa Ana, USA
dNTP 2,5 mM	In Vitrogen	Carlsbad, USA
Eau UP filtrée et stérilisée	Millipore	Billerica, USA

Amorces	EurogenTec	Liège, Belgique
Agarose pureté biologie moléculaire	Sigma Aldrich	Saint-Louis, USA
SybrSafe 10 000 X en DMSO	Invitrogen	Carlsbad, USA
SybrGreen 10 000 X en DMSO	InVitrogen	Carlsbad, USA
Urée	Biorad	Hercules, USA
Glycérol	VWR	West Chester, USA
Acrylamide/bisacrylamide 30 %	Euromedex	Souffelweyersheim, France
TEMED	Sigma Aldrich	Saint-Louis, USA
Ammonium persulfate	Euromedex	Souffelweyersheim, France
Marqueur de taille 50 pb	Sigma Aldrich	Saint-Louis, USA
Marqueur de taille 50 bp Track-it	Sigma Aldrich	Saint-Louis, USA
Bleu de bromophénol	Fluka	Saint-Louis, USA
Lysosyme	Sigma Aldrich	Saint-Louis, USA
Protéinase K	Sigma Aldrich	Saint-Louis, USA
SDS (sodium dodécyl sulfate)	Sigma Aldrich	Saint-Louis, USA
Chloroforme	Sigma Aldrich	Saint-Louis, USA
Isopropanol	Sigma Aldrich	Saint-Louis, USA
Ethanol	Sigma Aldrich	Saint-Louis, USA

4.3. Solutions tampon

Tampon de lyse enzymatique 1 X	**Concentration**
20 mM Tris-HCl pH 8,0	20 mM
Sodium EDTA	2 mM
Triton X-100	1,2 %
Qsp H_2O miliQ	
Lysosyme	20 mg/ mL

Tampon EDTA 0,5 M pH 8,0	**Concentration**
Sodium EDTA	0,5 M
H_2O miliQ	
NaOH	Env 20g
Stériliser par autoclave	

Tampon TAE 50X	**Concentration**
Base Tris	2 M
Acide acétique glacial	1 M
EDTA 0,5 M pH 8,0 (NaOH)	50 mM
Qsp H_2O miliQ	

Tampon TBE 10 X	**Concentration**
Base Tris	890 mM
Sodium EDTA	20 mM
Acide borique	890 mM
Qsp H_2O miliQ	

Tampon de charge pour gel de TTGE	**Concentration**
Bleu de bromophénol	0,05 %
Glycérol	75 %
Eau MiliQ	25 %

4.4. Méthodes pour la réalisation de la TTGE

4.4.1. Principe de la TTGE

La finalité des techniques présentées ici est de réaliser un gel de TTGE (Thermal Temporal Gel Electrophoresis). Cette technique de caractérisation de l'écosystème bactérien peut être schématisée de la manière suivante (voir Figure 23).

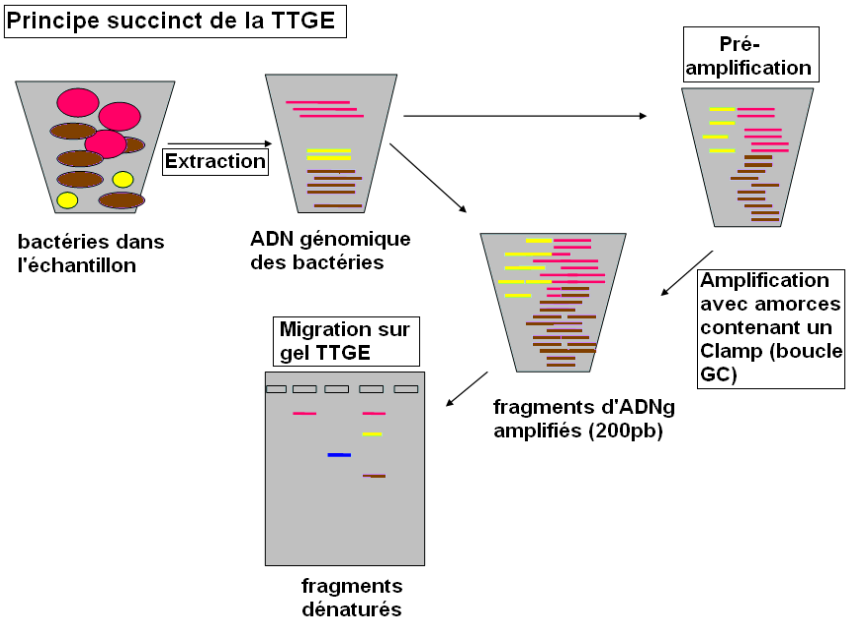


Figure 23 : Principe succinct de la TTGE

La Temporal Temperature Gel Electrophoresis (TTGE) consiste à déposer sur un gel de polyacrylamide des produits de PCR issus directement d'échantillons complexes (comportant plusieurs espèces). L'ADN total extrait est amplifié à l'aide d'amorces universelles, dont l'une est hybridée à une boucle GC d'une quinzaine de bases permettant de ralentir la migration sur le gel. Ce gel est soumis à une certaine différence de potentiel, simultanément à un gradient de température. La région ADNr16sV3 est la plus à même de représenter la biodiversité. Cette région sera donc prise pour cible dans le but d'identifier les espèces présentes dans les échantillons. Sur le gel, les fragments migrent jusqu'à ce qu'ils subissent une dénaturation, d'autant plus tardive que leur taux de GC sera élevé. Les espèces sont caractérisées par leur distance de migration dans des conditions données. Cette technique ne permet qu'une analyse semi-quantitative de résultats, mais elle offre un suivi « aisé » de variations subies par l'écosystème selon différents paramètres donnés.

4.4.2. Protocoles d'extraction d'ADN total

Trois différents protocoles ont été testés pour obtenir un rendement d'extraction maximal.

Protocole au phénol/chloroforme

Les bactéries sont centrifugées dans un microtube pendant 10 min à 10 000 g. Après élimination du surnageant, 1 mL d'eau UP stérile, 100 µL de tampon EDTA 0,5 M pH 8,0, 250 µL de Tampon RNAse, sont ajoutés ainsi que 50 000 U de lysosyme et 100 U de protéinase K à l'aide d'une petite spatule pour hydrolyser le peptidoglycane. Le tube est agité à l'aide d'un vortex et laissé incuber 2 heures à température ambiante. 100 µL de SDS à 10% sont ajoutés. Ce tensioactif permet d'améliorer la lyse cellulaire. La suspension est homogénéisée par inversion et répartie dans 2 microtubes qui sont centrifugés à 10 000 g pendant 15 minutes. Le surnageant est récupéré dans un nouveau tube dans lequel sont versés 600 µL de phénol/chloroforme/acide amylique. Le mélange est homogénéisé puis centrifugé à 10 000 g pendant 15 minutes. La phase supérieure est prélevée délicatement et déposée dans un nouveau microtube en prenant garde à ne pas prendre de protéines qui sont précipitées à l'interface. L'ADN est rincé 2 fois au chloroforme (V :V =1), et à chaque fois, la phase supérieure est récupérée. Après les 2 rinçages, 1 volume d'isopropanol est ajouté et mélangé délicatement en tenant le tube horizontalement jusqu'à ce qu'un filament blanchâtre se forme. L'ADN est stocké à – 80 °C pendant une heure puis décongelé à température ambiante. Le tube subit alors une centrifugation à 10 000 g pendant 10 minutes. Après élimination du surnageant, le culot est lavée à l'éthanol 96% et stocké à – 80 °C. Le lavage à l'éthanol est réitéré, et après un retrait délicat du surnageant, le culot est laissé à sécher à température ambiante, puis stocké à – 20 °C.

Protocole modifié à partir du kit DNAEasy Blood and Tissues, Qiagen

L'échantillon est centrifugé à 8 000 g pendant 10 minutes. Le culot bactérien est resuspendu dans 180 µL de tampon de lyse enzymatique, et placé à incuber à 37 °C pendant 30 minutes. Dans ce tube sont ajoutés 25 µL de protéinase K et 200 µL de tampon AL. Le mélange est homogénéisé par vortex. Après incubation à 56 °C pendant 30 minutes, 200µL d'éthanol à 96 % sont ajoutés et le mélange est homogénéisé par vortex. La solution est récupérée et déposée sur une colonne fournie dans le kit. Après dépôt de 500 µL de tampon AW1 sur la

colonne, le tube est centrifugé à 10 000 g pendant 1 minute. Après dépôt de 500 µL de tampon AW2 sur la colonne, le tube est centrifugé à 10 000 g pendant 3 minutes pour sécher la membrane. La colonne est alors placée dans un tube neuf, puis 100 µL de tampon AE sont déposés sur la membrane. La membrane est laissée à incuber pendant 1 minute à température ambiante puis le tube est placé à centrifuger à 8 000 g 1 min. Cette étape est réitérée, puis l'ADN contenu dans les 200 µL de tampon AE est congelé.

Protocole modifié à partir du kit DNA Investigator, Qiagen

Ce kit est conçu pour l'extraction d'ADN en faible quantité à partir de différents supports. Dans le tube contenant l'échantillon sont ajoutés 600 µL de tampon ATL et 30 µL de protéinase K. Cette suspension est placée à incuber 3 heures à 56 °C, et homogénéisée par vortex toutes les 20 minutes. Dans le tube sont alors versés 600 µL de tampon AL et 1 µL de DNA Carrier, puis le tube est incubé à 70 °C pendant 20 minutes, et homogénéisé toutes les 5 minutes. Dans le tube sont alors ajoutés 400 µL d'éthanol à 96 %, puis le mélange est homogénéisé au vortex pendant 15 s. La fraction liquide est déposée en 2 fois sur la colonne fournie dans le kit. Le tube est alors centrifugé à 6 000 g pendant 1 minute. En cas de colmatage par des fibres par exemple, la fraction retenue par la membrane est mélangée doucement en aspirant avec la micropipette et le tube est recentrifugé brièvement. Sur la membrane sont déposés 500 µL de tampon AW1, puis le tube est centrifugé à 6 000 g pendant 1 minute. Sont ensuite déposés 700 µL de tampon AW2 sur la membrane, et le tube est centrifugé à 6 000 g pendant 1 minute. Sur la membrane sont déposés 700 µL d'éthanol à 96 % et le tube est centrifugé à 6 000 g pendant 1 minute. Le tube est recentrifugé à 10 000 g pendant 3 minutes pour bien sécher la membrane. Enfin, 20 µL de tampon ATE sont déposés sur la membrane, qui est incubée 30 min à température ambiante. L'ADN est récupéré dans un nouveau tube après centrifugation à 10 000 g pendant 1 minute. Cette opération est réitérée en ajoutant 15 µL de tampon ATE sur la membrane, en incubant 30 min et en centrifugeant à 10 00 g pendant 1 minute.

4.4.3. Protocoles d'amplification d'ADN

L'amplification d'ADN à partir de l'échantillon complexe provenant de la peau ou du textile est réalisée par réaction en chaîne par polymérase (PCR) sous hôte à flux laminaire.

Préparation du mix PCR

A partir des extraits d'ADN, 2µL de matériel génétique sont prélevés et déposés dans un microtube stérile, puis 5 µL de Tampon $MgCl_2$ 10X, 0,5 µL de chacune des 2 amorces à 100 pmol/µL, 0,4 µL de dNTP à 2,5 mM, ,25 µL de Taq Polymérase 250 U sont versés dans le tube. Le volume final est ajusté à 50 µL H_2O UP.

Les échantillons subissent une première amplification à l'aide des amorces HDA-1 et HDA-2 (voir Tableau 14).

Afin d'obtenir un fragment de 200 paires de bases, le produit de PCR1 est soumis à une migration en gel d'agarose à 2 %. La bande correspondant à 200 paires de bases est extraite au scalpel puis purifiée à l'aide du kit Extract II. 2 µL de cet extrait sont soumis à une 2ème PCR en utilisant les amorces HDA-1-GC et HDA-2 (voir Tableau 14).

Tableau 14 : Amorces utilisées pour amplifier l'échantillon d'ADN

Amorce	**Séquence de nucléotides (5'-3')**
WO1	AGAGTTTGATC [AC]TGGCTC
WO12	TACGCATTTCACC[GT]CTACA
HDA1	ACTCCTACGGGAGGCAGCAGT
HDA1-GC	(CGCCCGGGGCGCGCCCCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGG) ACTCCTACGGGAGGCAGCAGT
HDA2	GTATTACCGCGGCTGCTGGCA.

Programmes de température de PCR

Les PCR sont réalisées dans un thermocycleur programmé pour effectuer les cycles présentés dans la Figure 24.

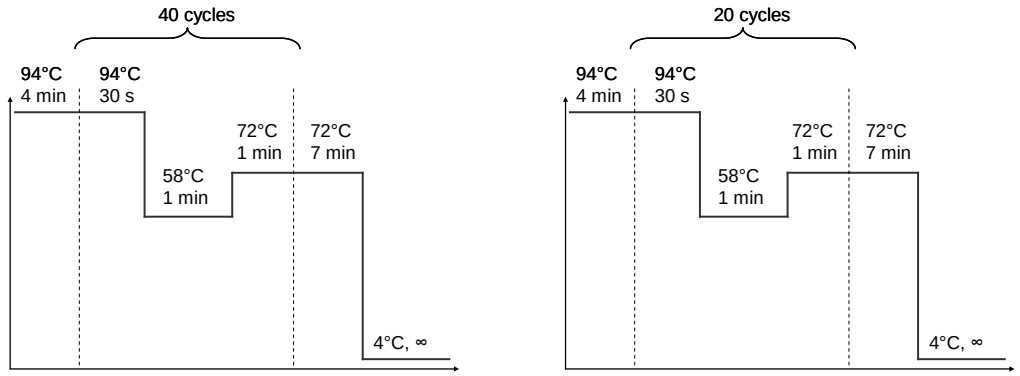


Figure 24 : Programmes de température de PCR

4.4.4. Protocoles d'électrophorèses

Migration en gel d'agarose

Les gels pour vérifier la présence d'ADN extrait contiennent 0,6 % d'agarose dans du tampon TAE 1X et du SybrSafe 1 X. Ils sont placés dans une cuve d'électrophorèse soumise à un voltage constant de 80 V durant 2 heures.

Les gels pour vérifier la présence de fragments amplifiés d'environ 200 paires de base contiennent 2 % d'agarose dans du tampon TAE 1X et du SybrSafe 1 X. Ils sont placés dans une cuve d'électrophorèse soumise à un voltage constant de 80 V durant 2 heures.

Migration en gel de TTGE

Pour réaliser le gel de polyacrylamide utilisé pour la migration dénaturante, 12,6 g d'urée sont pesés dans un tube stérile de 50 mL. En parallèle, environ 100 mL d'eau sont chauffés au four à micro-ondes. L'urée est complétée avec de l'eau UP jusqu'à la gradation 20 mL et le tube est placé dans l'eau chaude jusqu'à dissolution de l'urée. Dans ce tube sont ajoutés 600 µL de glycérol, 600 µL de TAE 50 X, et 8 mL d'acrylamide/bisacrylamide. La solution est complétée à la graduation 30 mL avec de l'eau UP, puis le tube est laisser à refroidir. Au dessus d'un nouveau tube de 50 mL stérile, la solution est filtrée à l'aide d'une seringue de 20 mL et d'un filtre seringue 0,2 µm.

Environ exactement 0,1 g d'ammonium persulfate sont pesés et dissous dans 1 mL d'eau UP pour obtenir une solution à 10% exactement.

Aux 30 mL de la solution sont ajoutés 15 µL de TEMED et 150 µL de la solution d'ammonium persulfate fraîchement préparée.

La solution est alors coulée rapidement entre 2 plaques de verre serrées de manière hermétique à l'aide du dispositif Biorad fourni avec le matériel du DCode. Le gel obtenu est laissé à reposer 1 heure. Les puits sont rincés au moins 5 fois au tampon TAE 1 X avec une seringue munie d'une aiguille de manière à ne laisser aucune trace de polyacrylamide ou d'urée.

Les gels de TTGE sont placés dans la cuve DCode soumise à un voltage constant de 40 Volts. Le gradient de température est une migration de 62,8 °C à 68 °C à 0,2 °C/heure, soit une durée de migration de 26 heures.

4.4.5. Traitement des résultats

Les gels sont scannés sous U.V. et sont retraités à l'aide du logiciel Image J.
Le traitement des gels d'électrophorèse est réalisé à l'aide du logiciel libre de traitement d'images Image J développé par le National Institute of Health. Il est disponible sur le site web http://rsbweb.nih.gov/ij/. Les gels photographiés sont traités par Image J, en soustrayant le fond (5,0 pixels), et en augmentant le contraste (0,1 pixel saturé).

4.4.6. Mesure des seuils de détection par TTGE

Des inoculums de *Corynebacterium jeikeium*, CIP 7171, *Corynebacterium minutissimum* et *Staphylococcus epidermidis* sont mis en culture dans 50 mL de bouillon cœur cervelle supplémenté à 1 % de Tween 80 pour *Corynebacterium jeikeium* en fioles d'Erlenmeyer pendant une nuit à 33 °C et 200 tpm.
Chacune de ces suspensions bactériennes est diluée de 10^{-1} à 10^{-7} dans de l'eau physiologique stérile. Ces dilutions sont étalées sur boîte pour effectuer un dénombrement, et en parallèle, 50 µL de chacune des dilutions sont déposés sur un écouvillon, qui est soumis au protocole de TTGE. Ainsi, il est possible de déterminer la limite de détection de la méthode d'extraction et amplification d'ADN en UFC.

5. Mesure des émissions odorantes

5.1. Panel entraîné

Sur la partie axillaire du textile sont découpés 0,4g d'échantillon qui sont placés dans un flacon de 60 mL, 2 heures à 80°C en étuve Les mesures par panel entraîné sont réalisées à l'IFTH (Institut Français du Textile et de l'Habillement) sur un panel de 7 juges.

Il est demandé aux juges d'évaluer les échantillons selon la méthodologie du « champs des odeurs® ». Le « champs des odeurs® » regroupe 45 molécules placées dans l'espace autour de 6 pôles olfactifs principaux (soufré, aminé, pyrazine, citral, α-pinène et vanilline). Ces molécules sont représentatives de tout l'espace odorant (voir Figure 25). L'odeur d'un échantillon est évaluée qualitativement par les panélistes en référence à ces molécules. Si un des référents est cité, cela signifie que l'odeur perçue s'en rapproche ou peut être décrite par ce référent. La citation d'une molécule n'implique pas nécessairement la présence de cette molécule dans l'échantillon.

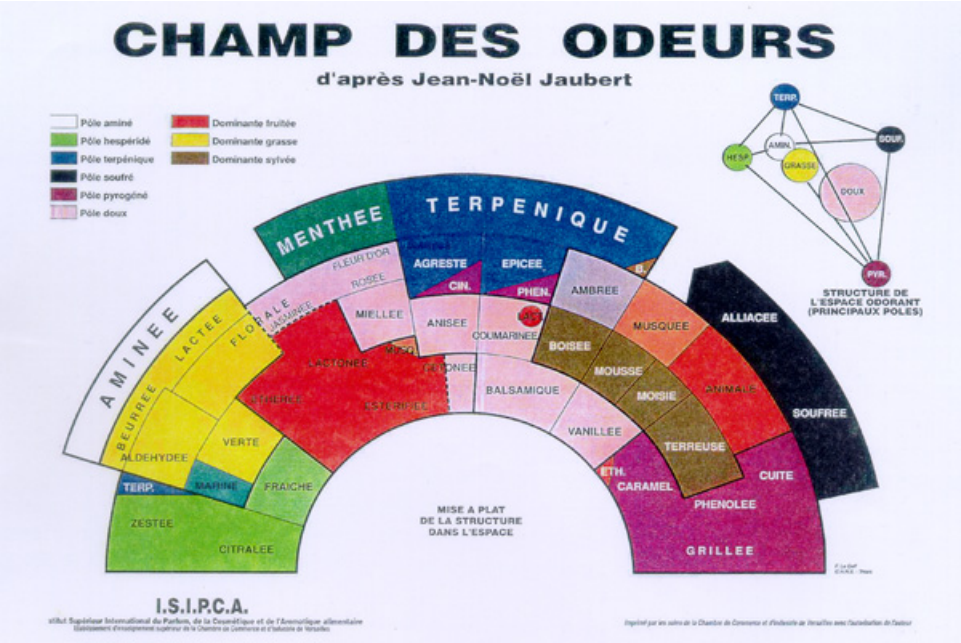


Figure 25 : Représentation aplanie du Champ des Odeurs, d'après Jaubert, 1983

L'intensité odorante est mesurée par les juges à l'aide du Tableau 15.

Tableau 15 : Descripteurs associés aux notes d'intensité olfactive pour une mesure par panel entraîné

Note	**Equivalent**
1	Imperceptible
2	Perceptible, non dérangeante
3	Clairement perceptible mais non dérangeante
4	Dérangeante
5	Très dérangeante
6	Insupportable

5.2. Evaluation selon la méthode interne à l'entreprise (panel restreint)

L'entreprise Oxylane a développé une méthode interne simplifiée dont le coût de revient est moins élevé que le panel utilisant la méthode du Champ des Odeurs. L'odeur est uniquement jugée en intensité et non en qualité. Les T-shirts sont portés par un testeur et placés à sécher à température ambiante pendant 24 h. Le lendemain, 3 juges internes hument la zone axillaire du vêtement et donnent une note au textile allant de 0 à 10. Les repères sont 0 : odeur imperceptible, 10 : odeur insupportable pour un vêtement.

5.3. Chromatographie phase gazeuse/spectromètre de masse - port olfactif

Un prélèvement de 120 mg est effectué sur l'échantillon et placé dans un tube en INOX vide et chauffé à 100 °C pendant 30 minutes. 1 mL de l'espace de tête est injecté dans la colonne chromatographique qui sépare les composés chimiques. Chaque composé est identifié par spectrométrie de masse. En parallèle est associé un port olfactif pour permettre une identification olfactive des composés séparés. L'opération est répétée 3 fois pour permettre à 3 juges de réaliser un aromatogramme. Chacun des juges doit associer un référent à chaque odeur détectée en sortie de colonne et lui donner une intensité sur une échelle de 0 à 5.

5.4. Nez électronique

Plusieurs dispositifs analytiques reposant sur des technologies différentes sont appelés nez électronique. Historiquement, le nez électronique était constitué d'un ensemble de 6, 9 ou 12 capteurs à oxydes de métaux (MOS : metal oxide sensor) mis en contact avec l'échantillon à traiter. L'adsorption des molécules volatiles sur les capteurs provoque une variation de l'impédance des capteurs. L'ensemble des données est traité statistiquement par analyse en composantes principales (voir p.90). Par extension, le terme nez électronique a été utilisé pour décrire tout appareil mesurant des composés volatils et pour lequel le traitement des données

est réalisé par analyse en composante principale. Ainsi, la technologie Heraclès utilisée dans le chapitre 5 est un microchromatographe à ionisation de flamme comportant 2 colonnes en parallèle. Ces deux colonnes de 2 m de longueur et de 100 µm de diamètre ont des polarités différentes (DB5 apolaire, DB1701 légèrement polaire) pour pallier les éventuelles coélutions. Toutefois, chaque pic est considéré comme un capteur indépendant, et le traitement de données est réalisé par analyse en composantes principales à l'aide du logiciel Alphasoft V12.37.

5.4.1. Identification par indice de Kovatz

La détection par spectrométrie de masse est une technique courante d'identification de composés chimiques. Ce détecteur est cependant moins sensible que le détecteur à ionisation de flamme, et la limite inférieure de détection est justement un facteur limitant pour le spectromètre de masse dans la mesure des odeurs. De plus, si le détecteur à ionisation de flamme ne permet pas d'identifier formellement une molécule, le calcul de l'indice de Kovatz basé sur le temps de rétention relatif d'un composé permet d'obtenir des indications très précises quant à la nature de ce composé organique.

L'indice de Kovatz est une valeur calculée pour un composé organique pur permettant de déterminer son temps de rétention relativement aux temps de rétention d'autres corps purs connus, en s'affranchissant des caractéristiques du programme de température. Il est calculé à l'aide de la formule suivante.

$$I_K = 100\left(n + (N-n)\frac{\log(t_R'X) - \log(t_R'n)}{\log(t_R'N) - \log(t_R'n)}\right)$$

Où Ik est l'indice de Kovatz, n est le nombre de carbones d'un alcane de taille inférieure à celle du composé organique considéré, N est le nombre de carbones d'un alcane de taille supérieure à celle du composé organique considéré et tr' est le temps de rétention.

Réciproquement, des tables sont disponibles permettant l'identification de molécules à partir de leur indice de Kovatz. Les temps de rétention observés sur les 2 colonnes (DB5 et DB1701) permettent de déterminer l'indice de Kovatz des pics détectés, qui sont comparés à

des valeurs présentes dans une table répertoriant de nombreux composés organiques. Ceci permet de proposer l'identification des molécules ayant engendré un signal sur l'appareil.

5.4.2. Paramètres d'utilisation du nez électronique

Les paramètres d'utilisation sont présentés dans le Tableau 16.

Tableau 16 : Paramètres d'utilisation du nez électronique Héraclès

Paramètre	Valeur
Type de flacon	20 mL
Quantité d'échantillon	0,5 ± 0,005 g
Température du four	60 °C
Durée d'incubation	20 min
Température seringue	70 °C
Volume injecté	5 mL
Température de l'injecteur	200 °C
Température d'adsorption du piège	40 °C
Température de désorption du piège	250 °C
Programmation des colonnes	40 °C (10s) à 270 °C (4s) à 5 °C/s
Durée d'acquisition	60 s

6. Statistiques

Sauf dans le cas de l'analyse en composante principale présentée dans le chapitre 5, les statistiques présentées ici proviennent des valeurs obtenues par Excel.

6.1. Tests statistiques

Le coefficient de corrélation est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$r = \frac{\mathrm{cov}(X,Y)}{\sigma_x \cdot \sigma_y}:$$

Le test de Student, basé sur l'étude de la variance, vérifie l'égalité des moyennes des 2 échantillons en comparant la valeur de l'estimateur t suivant à une valeur seuil fournie dans la table de Student.

$$t = \frac{(\bar{x} - \mu_0)}{s/\sqrt{n-1}}$$

6.2. L'analyse en composantes principales (ACP)

Le principe de l'ACP est de considérer un ensemble de nombreux indicateurs pour quantifier un phénomène connu et de chercher à établir des corrélations multiples. L'objectif est de diminuer le nombre d'indicateurs tout en gardant une bonne représentativité des données.

Dans le cas présenté ici, l'ensemble des pics détectés sur l'ensemble des chromatogrammes des échantillons constitue l'ensemble d'indicateurs (30 molécules identifiées et 16 molécules détectées, soit 46 indicateurs). A chaque indicateur est attribuée une dimension. Soit p le nombre de tous les pics détectés sur tous les chromatogrammes, les données de l'étude constituent un nuage N de points dans un espace à p dimensions (ici, p = 46). La coordonnée d'un échantillon sur l'axe i est l'aire sous le pic i.

Les données sont présentées sous forme de matrice :

$$X = individus \begin{bmatrix} x_1^1 & \dots & x_p^1 \\ \dots & \dots & \dots \\ x_1^n & \dots & x_p^n \end{bmatrix}$$

Si un des pics a la même aire sur tous les chromatogrammes, la dimension associée à cette mesure est de faible importance dans la description de l'étendue des données et son importance sera amoindrie dans le traitement statistique des données. Le point représentant un échantillon sera donc projeté dans un espace à p-1 dimensions, et ce jusqu'à atteindre un espace à 2 dimensions dans la majorité des cas (et dans l'étude présentée ici).

A la fin de l'ACP, les données peuvent donc être représentées dans un plan. Il ne s'agit pas des 2 dimensions les plus caractéristiques, mais des axes définissant les données transformées pour pouvoir être représentées suivant des coordonnées x et y qui fournissent le maximum d'information possible sur la diversité des points. Ces axes ne sont donc pas les valeurs mesurées pour les 2 pics ayant fourni les résultats les plus variables sur les chromatogrammes traités mais bien les projections permettant de conserver le maximum d'information sur les données.

Le principe est donc de minimiser les écarts entre les points du nuage N et leur projection, c'est-à-dire de perdre le moins d'information possible sur un point, tout en éliminant les dimensions les moins pertinentes qui définissaient sa position. En langage mathématique, il faut maximiser l'inertie du nuage. L'inertie est la somme des carrés des distances par rapport au centre de gravité du nuage de point. Dans le cas présenté ici, tous les points ont la même pondération. L'inertie est donc un indicateur de dispersion.

Cela signifie qu'il faut trouver le sous-espace Ek de dimension k (k<p, et ici k=2) tel que I^E_k, l'inertie du nuage N par rapport à l'espace Ek soit minimum. I^E_k est exprimée de la manière suivante :

$$I_k^E = \sum p_i d_M^2 \left(x^i, E_k\right)$$

Où ρi est la pondération sur les individus, mais ici ρ =1 pour tout i. d_M est la distance définie par la métrique M, c'est-à-dire la distance entre la coordonnée du point et l'inertie du nuage.

Chaque pic détecté sur chaque chromatogramme est donc assimilé à une mesure indépendante et traité par ACP avec le logiciel Alphasoft V12.37. Ce logiciel intégré au nez électronique permet d'obtenir des cartes olfactives de chacun des tissus présentant en abscisse la principale composante de la variabilité et en ordonnée la composante secondaire de cette variation à partir des chromatogrammes.

Chapitre 3 :
Rôle du transfert de la flore bactérienne cutanée dans l'émission des odeurs sur textile synthétique (PET)

La revue bibliographique a montré le rôle des bactéries de la flore commensale dans la formation des odeurs de transpiration sur la peau. Toutefois, en présence de textile, le phénomène devient plus complexe. En effet, le textile émet des odeurs, mais le lieu de production des molécules responsables n'est pas connu.

Le schéma présenté dans la Figure 26 illustre les différentes possibilités :

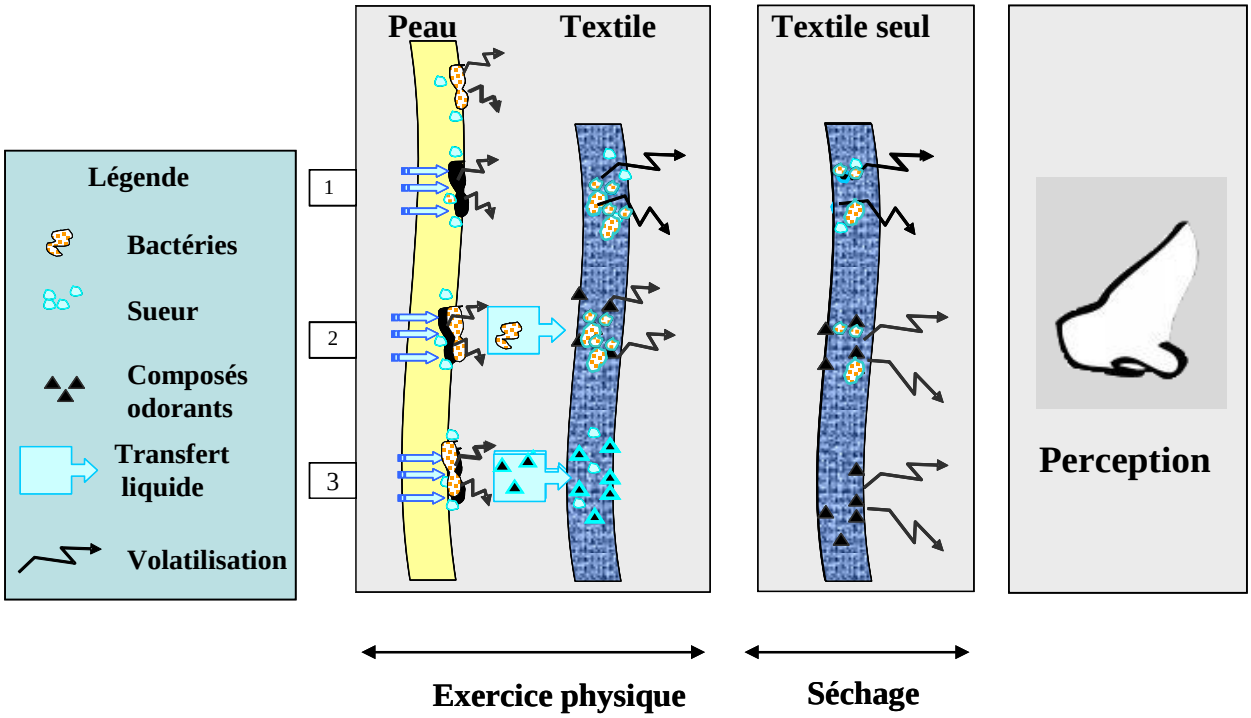


Figure 26 : Hypothèses sur les mécanismes de production et d'émission des odeurs de transpiration sur composant textile

En tant que première approche, déterminer le lieu de production des molécules odorantes permettrait de mieux comprendre les phénomènes d'émission d'odeurs.

Les hypothèses sur la localisation de la production des molécules odorantes sont les suivantes :

1. La flore initialement présente sur le textile produit des molécules odorantes. Le transfert de la flore cutanée et des molécules volatiles produites sur la peau vers le vêtement sont

négligeables. Les bactéries initialement présentes sur le vêtement produisent les émanations malodorantes à partir de substrats d'origine cutanée.

2. La flore commensale cutanée est transférée sur le textile, où elle produit des molécules odorantes. La quantité transférée de molécules malodorantes transférées est négligeable. L'émission de molécules volatiles par le vêtement est principalement fonction des substrats et de la flore transférés.

3. La flore commensale n'est pas transférée sur le textile. L'émission de molécules volatiles malodorantes est principalement fonction des molécules volatiles malodorantes transférées de la peau vers le vêtement.

Pour déterminer cela, il convient donc de mesurer en parallèle la concentration bactérienne cutanée, la concentration bactérienne sur textile, et l'odeur émise par le textile.

Parmi les différentes matières utilisées dans la conception de vêtements de sport, le polyéthylène téréphtalate est associé à l'odeur des matières synthétiques et reconnu par les usagers comme particulièrement odorant. Par conséquent, ce premier chapitre présentera l'étude des odeurs de transpiration émises par cette matière uniquement et les essais seront faits sur un textile réalisé en composant 1 (voir Tableau 11, p.62).

Ceci nécessitera tout d'abord de cadrer l'étude d'un point de vue microbiologique et de déterminer la façon de collecter la flore bactérienne. Les essais préliminaires permettront également de cibler la gamme de concentration bactérienne attendue sur le textile et sur la peau.
Ensuite, le dispositif étant validé, il sera mis en place pour un échantillon plus large de 14 sujets volontaires afin de quantifier la flore bactérienne sur la peau et sur textile. En parallèle, les émissions odorantes seront mesurées par 3 méthodes (spectromètre de masse, panel entraîné, panel restreint).
La corrélation entre les émissions d'odeurs sur PET et la concentration bactérienne sur la peau et sur le textile sera ensuite discutée et une conclusion sur la localisation de la production des molécules odorantes dans le cas étudié sera proposée.

1. Etudes préliminaires

1.1. Evaluation de la concentration bactérienne initiale du textile

L'ensemble des testeurs est situé à Villeneuve d'Ascq, mais les échantillons sont envoyés par Chronopost à Vandoeuvre-les-Nancy pour le dénombrement bactérien. Afin de se placer dans les mêmes conditions, un coupon neuf de textile en PET est envoyé par courrier puis stocké pendant une durée supérieure à un mois en armoire fermée. Sur ce coupon sont prélevés deux échantillons de 150 cm² qui sont soumis à une extraction bactérienne par agitation magnétique pendant 30 minutes en eau physiologique stérile.

Après incubation à 30 °C pendant 5 jours sur milieu BHI et sur milieu BHI +Tween 80 0,1 %, aucune colonie n'est détectée dans 100 µL de la solution d'extraction.
La concentration bactérienne initiale sur textile en PET est donc assimilée à 0 UFC/cm² de textile dans les conditions opératoires.

Peu d'informations sur la concentration bactérienne moyenne sur un textile propre sont disponibles dans la littérature. Toutefois, Mac Queen et (2007) ont mis en évidence une diminution de la population bactérienne sur PET, d'un facteur 100 en 3 semaines.

Le temps de stockage des échantillons en PET étant de l'ordre de quelques mois, pour la suite de ce travail, la concentration bactérienne initiale sur un textile propre sera donc considérée comme négligeable, pour le composant 1, comme pour les autres composants.

Par conséquent, l'hypothèse 1 selon laquelle la flore initialement présente sur le textile produit des composés odorants est écartée.

1.2. Effet localisation et mode de prélèvement

La mise en place d'un test impliquant 14 sujets étant lourde, il convient de cadrer précisément l'étude en réalisant les expérimentations à plus petite échelle, sur un sujet.
Plusieurs points doivent être déterminés au préalable : le mode de prélèvement de la flore cutanée (écouvillon, biopsie), le mode de prélèvement de la flore sur textile (agitation, ultrasons) et l'effet de la latéralité (égalité de la concentration bactérienne sous l'aisselle

droite et gauche). Enfin, l'effet lieu de collecte (peau ou vêtement) est testé au préalable pour déterminer la gamme de concentration bactérienne attendue sur un plus grand échantillon.

La flore cutanée peut être collectée de deux manières, par biopsie ou par écouvillonnage. Chevalier et al (1987) ont montré que les biopsies et les écouvillonnages effectués sur sujets généraient des différences significatives en termes quantitatifs, mais pas en termes qualitatifs; la proportion de chaque genre bactérien restait la même. Par ailleurs, cette dernière technique est largement privilégiée pour des raisons évidentes d'acceptation du test par les sujets. Les prélèvements de flore cutanée seront donc effectués par écouvillonnage, et aucune étude sur la pertinence de la technique de collecte ne sera présentée ici.

En revanche, il existe plusieurs méthodes de prélèvement de la flore sur textile, et le principal facteur influençant le taux de récupération est la force d'adhésion des cellules bactériennes sur le textile. Si ces forces d'adhésion sont faibles, un simple bain du textile en eau physiologique sous agitation magnétique suffit, tandis qu'une extraction par ultrasons est plus adéquate si les forces d'adhésion sont plus importantes. Ceci affectant profondément les résultats, il est nécessaire de statuer a priori sur le choix du meilleur mode d'extraction des bactéries sur textile et l'étude de ce facteur sera présentée dans la première partie de ce chapitre.

Par ailleurs, pour étudier le rôle de la flore bactérienne dans la formation des odeurs de transpiration sur textile, il serait intéressant pour l'expérimentateur de pouvoir considérer l'aisselle droite et l'aisselle gauche d'un même sujet comme deux répétitions d'un même échantillon. Toutefois, rien ne le prouve. A ce titre, la pratique de sports latéralisés au cours desquels la main forte est plus sollicitée, comme les sports de raquettes ou les sports nécessitant un drible ne seront pas considérés dans le cadre de cette étude, mais l'étude de l'impact de la latéralité sur le dénombrement bactérien est un pré-requis important pour la suite.

Les 2 paramètres testés au préalable sont donc la variabilité latérale intra-sujet et l'effet mode de collecte sur textile. Une deuxième étude préalable vérifiera l'égalité du dénombrement bactérien entre la peau et le textile (ou effet lieu de collecte).

Afin de statuer conjointement sur l'effet « latéralité » et sur l'effet « mode de collecte sur textile », un sujet est sollicité pour effectuer une activité physique. Son T-shirt en PET est ensuite découpé sous l'aisselle droite et l'aisselle gauche puis chaque fragment de textile est redécoupé en deux pour être soumis aux 2 protocoles d'extraction (ultrasons et agitation magnétique). Les données sont ensuite traitées par une analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs.
Les données brutes sont présentées en annexe 1. Le Tableau 17 présente les résultats obtenus.

Tableau 17: Etude conjointe de l'effet "latéralité" et de l'effet "mode de collecte" sur la flore bactérienne revivifiable, résultats de dénombrements réalisés en triplicat à partir de T-shirts en PET portés par un sujet.

	Mode de collecte			
Coté	Agitation		Ultrasons	
	Mesures	Valeurs moyennes	Mesures	Valeurs moyennes
Gauche	5000	7, 0 ± 1,8 . 10^3 UFC/cm²	12000	1,1 ± 0,1 . 10^4 UFC/cm²
	7667		11667	
	8333		10000	
Droite	10000	1, 3 ± 0,3 . 10^4 UFC/cm²	1333	7, 4 ± 8,6 . 10^3 UFC/cm²
	13000		17333	
	15000		3667	

.

Le facteur «mode de collecte sur textile » comporte deux niveaux : agitation magnétique ou ultrasons. Pour déterminer s'il existe une différence entre les 2 modes de collecte, deux hypothèses complémentaires sont posées :

- H_0 : Les séries de données obtenues par agitation magnétique et par ultrasons proviennent de la même population statistique. Il n'y a pas d'effet mode de collecte.

- H_1 : Statistiquement, les 2 séries de données proviennent de 2 populations différentes. Il y a donc une différence non nulle entre les 2 modes de collecte.

De même, le facteur latéralité comporte 2 niveaux : collecte sur la partie droite du textile et collecte sur la partie gauche du T-shirt. Pour déterminer s'il existe une différence entre les 2 cotés du T-shirt du sujet, deux hypothèses complémentaires sont posées :

- H'_0 : Les séries de données obtenues par le dénombrement de la flore présente sur la partie droite du textile et sur la partie gauche du textile proviennent de la même population statistique. Il n'y a pas d'effet latéralité.
- H'_1 : Statistiquement, les 2 séries de données proviennent de 2 populations différentes. Il y a une différence non nulle entre les 2 cotés.

L'analyse de la variance permet de déterminer si le niveau de chacun des facteurs a un impact sur la valeur du dénombrement du dénombrement obtenu. Pour cela, la contribution des variances (ou sommes de carrés des écarts, SCE) expliquées par chacun des facteurs sont comparées à la variance résiduelle, expliquée par le hasard.

Ceci s'exprime de la manière suivante :

$$SCE_{total} = SCE_{facteurs} + SCE_{résiduelle}$$

En pratique, la variance totale et la variance des échantillons de chacun des facteurs est aisée à obtenir. La variance résiduelle (due au hasard) est donc obtenue par soustraction.
Dans le cadre de cette ANOVA, l'éventuel effet d'interaction «latéralité » et « mode de collecte sur textile » est négligé, car il n'a pas sens.

Ce test reposant sur l'hypothèse fondamentale de la normalité des résidus, l'observation de la distribution des valeurs permet de visualiser le bien-fondé de cette hypothèse dans le cadre des résultats obtenus. Les dénombrements réalisés dans le cadre de cette étude préalable sont tous reportés sur le graphique présenté dans la Figure 27.

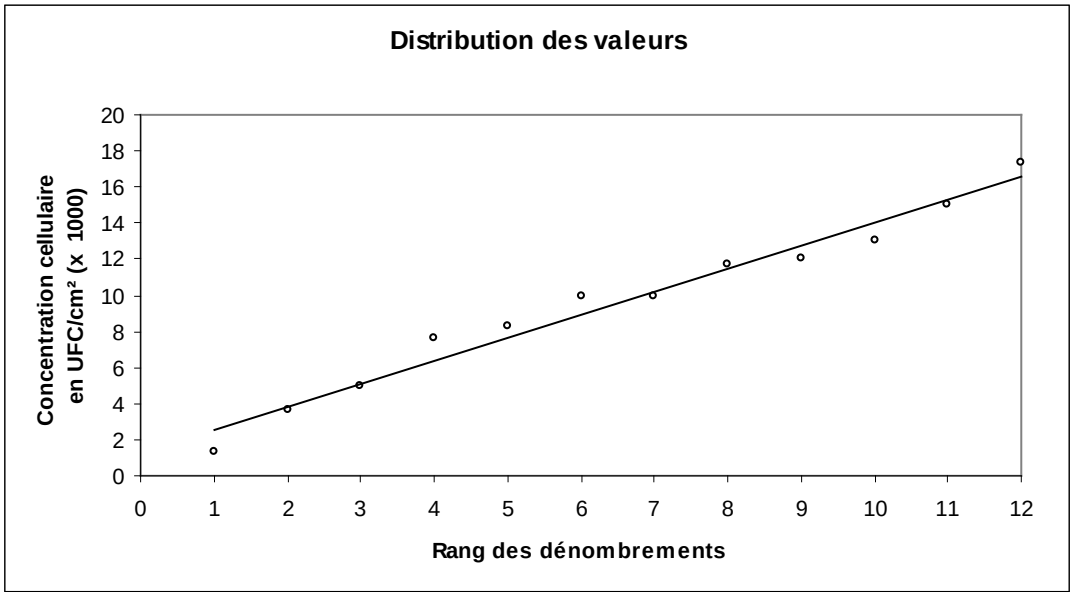


Figure 27 : Distribution des dénombrements cutanés obtenus réalisés dans le cadre de l'étude préalable. Les résultats sont classés par ordre croissant et exprimés en UFC (x 1000) /cm² de peau.

Devant la relativement bonne distribution graphique des valeurs autour de la droite de régression linéaire, l'hypothèse de la normalité des résidus est acceptée. Ceci permet de tester les hypothèses précédemment énoncées par analyse de la variance.

Pour chacun des facteurs, la somme des carrés des écarts de chaque valeur à la moyenne de chaque facteur est calculée (SCE) et rapportée aux degrés de liberté (ddl) du facteur. La valeur F est obtenue en divisant le rapport SCE / ddl de chacun des facteurs par celui obtenu pour la variance interne. Cette valeur est comparée à la valeur $F_{critique}$, limite maximale d'acceptation de l'hypothèse H_0 au risque 5 %. Les résultats sont présentés dans le Tableau 18.

Tableau 18 : Résultats de l'analyse de variance au risque 5 % pour les facteurs latéralité et mode de collecte

Source de variation	SCE	ddl	F calculé	Valeur P	F critique
Latéralité	2675296	1	0,12548849	0,73231214	5,31765506
Mode de collecte	750000	1	0,03517152	0,85590601	5,31765506
Variation interne	237488704	8			

Ici, la valeur p est la probabilité que l'hypothèse H_0 soit vraie. Les valeurs F critiques sont obtenues dans une table de Fisher, au risque 5 % et pour les degrés de liberté 1 (pour chacun des facteurs) et 8 (pour la variance résiduelle).

Au risque 5%, pour l'effet « latéralité », $F_{calculé}$ (0,125) est inférieur à $F_{critique}$ (5,318). Par conséquent, l'hypothèse H_0 est acceptée, il n'y a donc pas d'effet latéralité influant sur le dénombrement de la flore présente sur la zone axillaire d'un T-shirt en PET après porter dans les conditions de l'étude.

De même, au risque 5%, pour l'effet « mode de collecte », $F_{calculé}$ (0,035) est inférieur à $F_{critique}$ (5,318). Par conséquent, l'hypothèse H_0 est acceptée, il n'y a pas d'effet « mode de collecte ».

Cette première expérimentation permet donc d'établir qu'il n'y a pas de différence, au risque 5 %, entre le dénombrement d'un textile porté au niveau de l'aisselle droite et au niveau de l'aisselle gauche. En pratique, cela signifie que les dénombrements de flore revivifiable à partir des prélèvements effectués sur l'aisselle gauche et l'aisselle droite d'un même sujet peuvent être considérés comme égaux.

D'autre part, la collecte de la flore sur textile peut être effectuée par agitation magnétique ou par ultrasons, cela n'affectant pas le dénombrement de la flore revivifiable. L'agitation magnétique peut donc être utilisée sans risque de sous-estimer la population microbienne. En outre, cela met en évidence la relative faiblesse des forces d'adhésion des bactéries sur le support textile, et confirme les résultats de Auroy et Perwuelz (2008) selon lesquels l'adhésion bactérienne est réversible sur un temps court et due à des interactions faibles de type liaisons de Van der Waals.

Le dernier point à évaluer est l'effet lieu de collecte (peau ou T-shirt). La première étude préalable ayant montré que cette première série de résultat est assimilable à une seule population, celle-ci va donc être comparée aux résultats obtenus par prélèvement cutané réalisés le même jour sur le même sujet.

Le Tableau 19 ci-après présente les résultats obtenus. Les données brutes sont présentées en annexe 2.

Tableau 19 : Résultats de dénombrements réalisés sur la peau et sur textile, réalisés en triplicat le même jour sur un même sujet à partir de prélèvements cutanés et de textile mis en contact de l'aisselle

	Peau	**Textile**
Moyenne	3,1 .10^4 UFC/cm²	9,6 .10^3 UFC/cm²
Ecart-type	0,7 .10^4 UFC/cm²	4,7 10^3 UFC/cm²

Sur les 2 modalités présentées ici, il n'y a plus qu'un seul facteur de variation, l'effet « lieu de collecte ». L'égalité des moyennes peut donc être vérifiée par un test de Student, avec les hypothèses suivantes :

- H_0 : la moyenne des valeurs obtenues sur un lieu de prélèvement est égale à la valeur de la moyenne totale

- H_1 : la moyenne des valeurs obtenues sur un lieu de prélèvement est différente de la valeur de la moyenne totale. Le choix est fait de réaliser ce test de manière bilatérale, car rien n'indique, a priori, que les dénombrements seront supérieurs sur l'un ou l'autre des prélèvements.

Pour les 2 échantillons présentés, les valeurs calculées de l'estimateur t du test de Student sont regroupées dans le Tableau 20 avec les valeurs t critiques associées.

Tableau 20 : Estimateurs statistiques des échantillons obtenus à partir des dénombrements réalisés à partir d'écouvillons cutanés et de collectes microbiennes sur textile et valeurs critiques de la table de Student

Estimateurs statistiques	Peau	Textile
Valeur t calculée	4,807	5,028
Valeur t critique au risque 5 %	2,015	1,796
Valeur t critique au risque 1 %	3,365	2,718

Pour l'échantillon «peau», au risque 5 % et à 5 degrés de liberté en test bilatéral, la table de Student fournit $t_{table} = 2,015$. La valeur $t_{calculée}$ (4,807) est donc supérieure à la valeur fournie par la table (2,015). Pour le facteur « peau », l'hypothèse H_0 est donc rejetée au risque 5 %.
De même, au risque 1 %, $t_{calculée}$ est supérieure à t_{table} (3,365), H_0 est donc rejetée : il y a une différence très significative entre la moyenne totale et la moyenne « peau ».

Les tailles des échantillons étant différentes, les valeurs de t critiques le sont aussi.

Pour l'échantillon « textile », au risque 5 % et à 11 degrés de liberté en test bilatéral, la table de Student fournit la valeur $t_{table} = 1{,}796$. La valeur $t_{calculée}$ (5,028) est donc supérieure à la valeur t_{table} (1,796). Pour le facteur « textile », l'hypothèse H_0 est donc également rejetée au risque 5 %. De même, au risque 1 %, $t_{calculée}$ est supérieure à t_{table} (2,718), H_0 est donc rejetée: il y a une différence très significative entre la moyenne totale et la moyenne « textile ».

Cette différence très significative entre le dénombrement bactérien sur la peau et sur le textile dans le cadre de l'étude préliminaire laisse supposer qu'il en sera de même pour l'étude à plus grande échelle, et montre la nécessité d'effectuer les 2 prélèvements. De plus, afin de quantifier cette différence, le calcul d'un taux de transfert semble nécessaire. Sur une pratique sportive d'une heure, la croissance est négligeable, le taux de transfert est donc calculé de la manière suivante :

$$Taux\ de\ transfert = \frac{Dénombrement\ sur\ textile}{Dénombrement\ sur\ peau + Dénombrement\ sur\ textile} \times 100$$

Dans le cas de cette étude préliminaire, il est estimé à 30 %, mais il est probable que celui-ci soit fonction de la nature des interactions bactériennes avec la peau, c'est-à-dire de la nature de la flore, et donc variable selon les individus. L'étude de ce taux de transfert sera donc plus amplement discutée lors de l'interprétation des résultats de l'étude de la variation inter-sujets.

1.3. Conclusions sur l'étude préliminaire

Ces 2 études préalables permettent d'établir 3 postulats sur lesquels la suite de l'étude va être basée :

- Les dénombrements obtenus à partir de prélèvements de l'aisselle gauche et de l'aisselle droite dans les mêmes conditions pour un même sujet peuvent être considérées comme non significativement différentes : ceci constitue un gain considérable de temps de manipulation et de recrutement des testeurs.

- Le mode de collecte des bactéries sur le textile importe peu, qu'il s'agisse d'agitation magnétique ou de bain à ultrasons. La force d'adhésion des bactéries sur le textile est donc relativement faible.

- Le lieu de collecte va influer sur la quantité de bactéries revivifiables extractibles. Le nombre de bactéries présentes sur la peau est significativement différent de celui que l'on retrouve sur le T-shirt. Ceci aura des répercutions dans la démarche de compréhension des mécanismes associés à la formation d'odeurs et met également en évidence un point crucial.

La mise en place du cadre méthodologique étant effectuée, l'étude de l'impact de la concentration bactérienne sur l'intensité de l'odeur peut donc être réalisée.
Le but est de vérifier la corrélation entre le dénombrement bactérien sur la peau, le dénombrement bactérien sur le textile et les émissions d'odeurs sur une étude à plus grande échelle.

2. Quantification de la concentration bactérienne sur PET et sur la peau pour 14 sujets

Le but de ce chapitre étant de déterminer l'impact de la concentration bactérienne sur les odeurs de transpiration émises par un T-shirt, il convient dans un premier temps de quantifier la flore bactérienne sur un nombre relativement important de sujets. Un ensemble de 14 sujets a été sollicité pour effectuer 35 minutes de course sur tapis. A l'issue de cet exercice, la flore cutanée est prélevée à l'aide d'un écouvillon et la zone axillaire de leur T-shirt en PET (composant 1) est découpée pour collecter la flore transférée. La Figure 28 présente les résultats des dénombrements réalisés sur la peau et sur textile pour les 14 sujets.

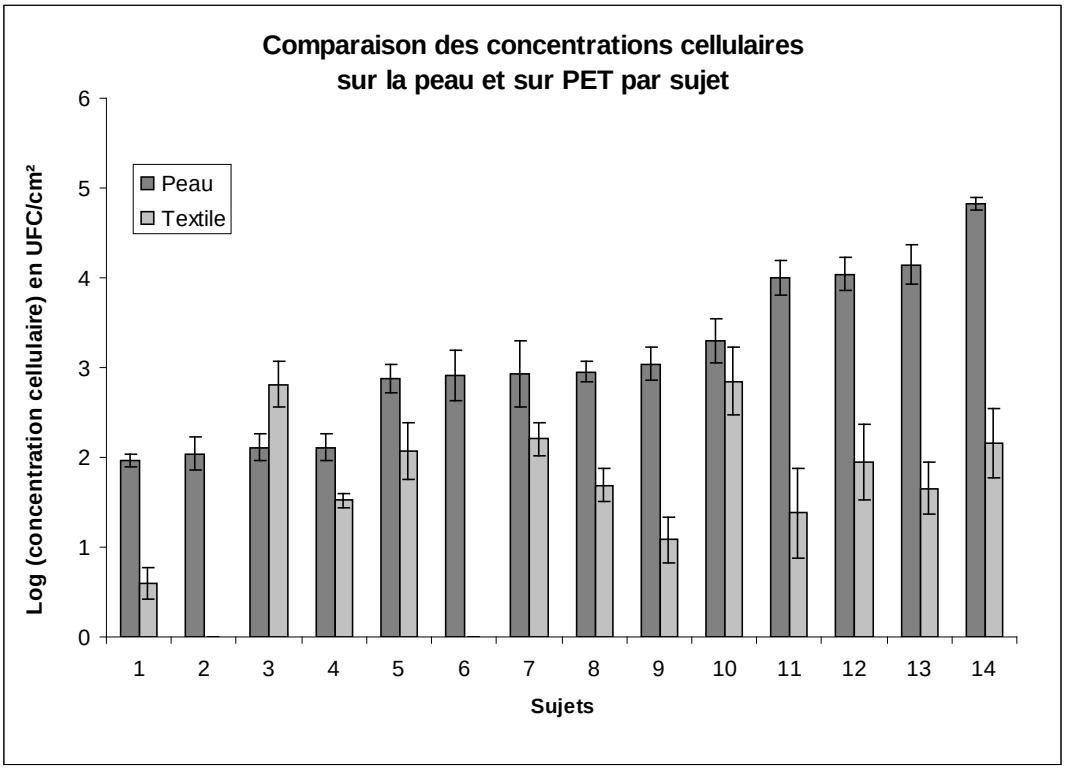


Figure 28 : Comparaison par sujet des résultats de dénombrement exprimés en base 10 pour la peau et le textile.

Ces résultats vont d'abord être étudiés séparément, puis le taux de transfert moyen sera calculé.

2.1. Evaluation de la concentration bactérienne présente sur la peau

Pour les dénombrements cutanés, les résultats obtenus varient entre 10^2 et 10^5 UFC/cm² de peau. La valeur moyenne calculée sur l'ensemble des sujets est de $7,8 \pm 0,9 \times 10^3$ UFC/cm² de peau. La forte disparité des résultats obtenus nécessite la présentation des valeurs sous un format logarithmique. Ceci pose la question de la pertinence de cette valeur mais aussi sur les raisons d'une telle disparité. Le Tableau 21 regroupe les données statistiques de l'échantillon. Les données brutes sont présentées en annexe 3.

Tableau 21 : Statistiques descriptives de la série de valeurs obtenues lors du dénombrement de la flore cutanée par écouvillonnage des 14 sujets

Caractéristiques statistiques	
Taille n de l'échantillon	14
Etendue des données	$6{,}7.10^4$
Moyenne	$7{,}8.10^3$
Ecart-type	9.10^2
Ecart-type/Moyenne	12 %

Les comptages ayant été réalisés en triplicata, chaque dénombrement présenté ici est la moyenne de 3 valeurs. Pour des dénombrements bactériens, le ratio écart-type/moyenne est jugé acceptable jusqu'à 30 %. Ici, il est de l'ordre de 10 %, ce qui est donc correct.

D'un point de vue statistique, cet échantillon présente une forte étendue, mais il n'y a pas, a priori, de valeur aberrante. Globalement, la variance des dénombrements bactériens pour chacun des sujets étant acceptable, ces résultats peuvent être considérés comme robustes et les disparités observées ne peuvent donc pas être imputées à la méthode.
Ces résultats sont néanmoins plus faibles qu'attendu (Leyden et al, 1991 ; Korting et al, 1988), ceci sera discuté en fin de chapitre.

2.2. Evaluation de la concentration bactérienne sur textile

Pour les dénombrements sur textile, les résultats des dénombrements de flore totale sur textile pour les 14 sujets sont compris entre 10^0 et 10^3 UFC/cm² de textile. La valeur moyenne calculée sur l'ensemble des sujets est de $1{,}6 \pm 0{,}6 \times 10^2$ UFC/cm² de textile. De même que pour les dénombrements sur la peau, les dénombrements sur textiles présentent une forte disparité selon les sujets. A priori, les mêmes raisons que pour la flore commensale sur la peau peuvent être invoquées, à savoir une forte variation inter-sujets, mais les valeurs en elles même mettent aussi en évidence la faiblesse de la concentration bactérienne observée sur textile en PET. Le Tableau 22 regroupe les données statistiques de l'échantillon. Les données brutes sont présentées en annexe 4.

Tableau 22 : Statistiques descriptives de la série de valeurs obtenues lors du dénombrement de la flore extraite sur textile des 14 sujets

Caractéristiques statistiques	
Taille n de l'échantillon	14
Etendue des données	$7{,}0.10^{2}$
Moyenne	$1{,}6.\ 10^{2}$
Ecart-type	$4{,}5.\ 10^{1}$
Ecart-type/Moyenne	30 %

De même que pour la peau, si l'étendue des données est importante, le rapport écart-type/moyenne est de 30%, ce qui est relativement élevé, mais reste acceptable pour des dénombrements bactériens.

2.3. Taux de transfert

Malgré les fortes différences en valeurs absolues, il apparaît que la concentration bactérienne sur le textile est nettement inférieure à la concentration bactérienne sur la peau pour chacun des sujets. Il serait intéressant de pouvoir quantifier ces différences. Pour cela, le taux de transfert est calculé pour chacun des sujets (voir annexe 4). Les résultats sont présentés dans le Tableau 23.

Tableau 23 : Taux de transfert bactérien entre la peau et le vêtement après une heure de pratique sportive.

Prélèvement sur	Taux de transfert bactérien (%)
Sujet n° 1	4,2
Sujet n° 2	0,9
Sujet n° 3	83,4
Sujet n° 4	20,2
Sujet n°5	13,5
Sujet n° 6	0,1
Sujet n° 7	15,7
Sujet n° 8	5,2
Sujet n° 9	1,1
Sujet n° 10	26,0
Sujet n° 11	0,2
Sujet n° 12	0,8
Sujet n° 13	0,3
Sujet n° 14	0,2

D'après les expériences préliminaires, la valeur attendue est de l'ordre de 30 %. Avec une valeur moyenne de 12,3 %, soit environ un dixième de la flore commensale extractible sur la peau qui serait transférée sur le textile dans le cadre d'une pratique sportive, ceci montre que la concentration bactérienne sur la peau et sur le textile ne sont pas du même ordre de grandeur. Toutefois, avec des valeurs comprises entre 0,1 et 83,4 %, il apparaît que le taux de transfert est extrêmement variable.

La valeur obtenue pour le sujet 3 (83,4 %) semble étonnante, voire aberrante au sein de l'échantillon. En examinant les données brutes, il apparaît que la concentration bactérienne est plus importante sur textile que sur la peau. Plusieurs explications peuvent être émises, comme une contamination initiale du textile ou la contamination lors des manipulations. Il a donc été décidé d'éliminer les valeurs relatives à ce sujet dans les résultats présentés ci-après.

A l'inverse, les sujets 2, 6, 11, 12, 13 et 14 présentent des taux de transferts inférieurs à 1 %, signifiant ainsi qu'il n'y a presque pas de transfert de la peau vers le vêtement pour ces échantillons.

Il est délicat d'interpréter de telles disparités. Il est possible que les différences observées sur le transfert de la flore générale soient liées à la nature même de la flore, qui n'est pas étudiée dans cette expérience. En effet, il pouvait sembler judicieux de chercher à classer les colonies observées par caractères morphologiques et biochimiques, mais leur identification, par la sélection au hasard d'un nombre limité de colonies semblait laborieuse et n'aurait pas forcément apporté beaucoup d'informations, leur représentativité pouvant d'ailleurs être mise en cause. La qualification de la flore commensale sera donc plus amplement étudiée dans le prochain chapitre.

Par ailleurs, l'étude bibliographique a montré que les bactéries disposent d'un patrimoine génétique codant pour de nombreuses molécules glycosylées leur conférant une adhérence plus ou moins spécifique à la surface de la peau en mettant en jeu des interactions hydrophobes, électrostatiques etc (Schröder, 2002).
Un fort taux de transfert pourrait donc s'expliquer par une colonisation supérieure des squames, facilement détachables, tandis qu'un taux de transfert faible impliquerait une flore

commensale fortement liée au milieu, sans doute majoritairement localisée dans les follicules pileux.

Afin d'évaluer l'impact de la concentration bactérienne sur les odeurs, les résultats obtenus dans cette deuxième partie vont à présent être mis en relation avec les mesures olfactives effectuées en parallèle sur les vêtements des sujets.

3. Caractérisation des émissions de composés odorants

Le but du travail présenté ici est de lier la densité bactérienne sur le textile et sur la peau à l'odeur émise par le textile. Plusieurs méthodes de mesure des odeurs (chromatographie en phase gazeuse, panel entraîné et panel restreint) ont donc été testées et sont présentées ici. Cependant, la caractérisation des émissions odorantes est délicate et onéreuse. Ainsi, seuls 10 des 14 testeurs ont été sélectionnés pour évaluer les émissions odorantes de leurs vêtements après usage par chromatographie et par panel entraîné. Le panel dit « restreint » étant mis en place en de manière interne à l'entreprise, les 14 sujets ont pu être évalués au moyen de cette dernière méthode.

3.1. Mesure des émissions odorantes par chromatographie en phase gazeuse

Des prélèvements de 0,120 g de textile sont réalisés sur les vêtements portés et sont conditionné à 100 °C dans des flacons hermétiques. Les mesures sont réalisées à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à deux détecteurs en parallèle : un port olfactométrique et un spectromètre de masse. Le port olfactométrique permet à un juge humain d'associer un temps de rétention à un descripteur odorant. Les échantillons sont testés par 3 juges différents. Le spectromètre de masse disposé en parallèle permet de proposer une identification du corps odorant au temps de rétention (Tr) identifié par le juge. Les aromatogrammes ainsi obtenus des échantillons 1 et 2 sont présentés en annexe 5. Les résultats sont présentés dans un aromatogramme, dont un extrait est présenté ci-dessous dans le Tableau 24.

Tableau 24 : Extrait de l'aromatogramme obtenu pour le T-shirt du sujet 1. Les identifications en italique sont basées sur la comparaison des temps de rétention avec une base de données.

Tr (min)	**Référent/Evocation**	**Intensité**	**Identification par MS**
5,6	Fleuri (acétate d'éthylacétone)	1,5	Ethanamine
5,79	Aminé (triméthylamine)	1	Alanine
6,05	Amine-solvant	1-1,5	Ethylacétimidale
6,6	Diacétyl	2	Diacétyl
6,65	Blanco	0,5-1	2-hydroxyéthylurée ou acétamide
7,7-8,1	Piquant acétique/ soufré poubelle	0,5/0,5-1	Acide propanoïque
8,6	Pyrazine	2	Absence de pic

Les aromatogrammes des vêtements testés ont fourni de longues listes de qualificatifs, composants de l'odeur totale, mais ces listes n'étaient absolument pas répétables suivant les juges, et les temps de rétention étaient fluctuants (cf annexe 5), rendant le traitement statistique impossible.

Par ailleurs, les chromatogrammes obtenus en parallèle n'ont pas permis d'atteindre les limites de détection du détecteur à spectrométrie de masse, et ces données se sont avérées inexploitables.

Ceci laisse penser que cette méthode était sans doute trop ambitieuse pour une première approche. Toutefois, le chromatographe reste un appareil prometteur pour peu que les limites de détections du dispositif soient atteintes, notamment en augmentant la taille des échantillons ou en prélevant une plus grande quantité d'air dans l'espace de tête, et en le préconcentrant sur un piège avant l'injection.

3.2. Mesure des émissions odorantes par panel entraîné

En dépit de la lourdeur de la mise en œuvre d'un panel entraîné, cette technique a un seuil de détection des molécules odorantes plus bas que la majorité des dispositifs analytiques. Ce panel entraîné constitué de 7 personnes était localisé à l'institut français du textile et de l'habillement (IFTH).

Des prélèvements de 0,4 g des T-shirts portés ont été conditionnés dans des flacons de 60 mL pendant 2 heures à 80 °C avant d'être évalués par le panel qui leur a attribué une note globale et une note suivant les indicateurs du Champ des Odeurs. Deux exemples de notation des échantillons fournies par le panel entraîné sont présentées en annexe 6. Les notes globales vont tout d'abord être exposées avant de présenter les descripteurs intermédiaires caractérisant la nature de l'odeur émise par les T-shirts.

3.2.1. Note globale attribuée aux vêtements par le panel entraîné

La Figure 29 illustre la note obtenue par les T-shirts portés par les sujets sélectionnés. Les données statistiques relatives à la répétabilité n'ont pas été communiquées par l'IFTH.

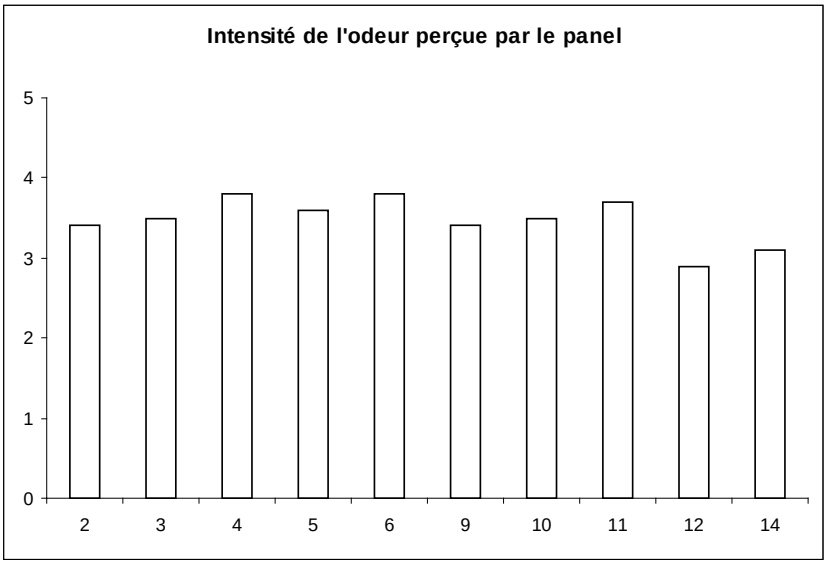


Figure 29 : Notes olfactives attribuées aux échantillons textiles par le panel entraîné

Les notes attribuées aux textiles par le panel présentent des variations relativement faibles (0,9) au regard de la moyenne observée (3,43). Cela signifie que pour un jury entraîné, tous les échantillons provenant des T-shirts usagés présentent une forte homogénéité dans l'intensité de l'odeur perçue, comprise entre « clairement perceptible » et « dérangeante », et laisse supposer que tous les échantillons de T-shirt usagés sont semblables. Toutefois, lorsque les caractéristiques de l'odeur sont décrites, des disparités apparaissent.

3.2.2. Descripteurs intermédiaires évalués par le panel entraîné

A la note globale, les juges du panel ont associé des descripteurs provenant de la méthode normée du Champ des Odeurs ® (voir Figure 25, p.86), contenant environ 40 descripteurs qui

doivent permettre de décrire toutes les odeurs. Deux exemples sont présentés en annexe 6. Parmi ces 40 descripteurs, 5 ont été sélectionnés dans les fiches de testeurs pour avoir obtenu une note supérieure à 0,5. Ils sont présentés dans le Tableau 25.

Tableau 25 : Notes olfactives caractéristiques de l'odeur de transpiration et descripteurs fréquemment associés

Note olfactive	Descripteurs fréquemment associés	Fréquence de citation par le panel	Coefficient de corrélation à la note globale
Pyrazine	Noisette, riz cuit	0,33	-0,20
Acide acétique	Vinaigre	1	0,11
Acide octènoïque	Rance, acide, fruitée	0,78	0,35
Acide isovalérique	Pied, parmesan	0,44	0,54
Nonanal	Gras, citronné, vert	0,56	-0,47

Si les notes globales sont homogènes, les descripteurs intermédiaires montrent une grande diversité dans la caractérisation de l'odeur de transpiration.

Le descripteur cité systématiquement est l'acide acétique, suivi de l'acide octènoïque (0,78) puis du nonanal (0,56). L'acide isovalérique et la pyrazine sont cités dans moins de la moitié des échantillons (respectivement 0,44 et 0,33). Au regard de la bibliographie (James et al, 2003 et 2004 ; Mac Queen, 2008), la prévalence des notes acides semble logique, puisque les acides gras volatils et semi-volatils proviennent de la dégradation des triglycérides d'origine épidermique, et sébacée.

Les notes pyrazine et nonanal semblent plus étonnantes, même si les résultats fournis par ce panel ne présagent pas de la nature des molécules présentes, mais uniquement de leur empreinte olfactive.

La contribution de ces descripteurs intermédiaires à la note globale établie par le panel entraîné est détaillée dans le Tableau 26.

Tableau 26 : Contribution des descripteurs intermédiaires à la note globale pour les 14 sujets

Sujet	Note globale	Note pyrazine	Note acide acétique	Note acide octènoïque	Note acide isovalérique	Note nonanal
Sujet 2	3,4	0,9	1,1	0	0	0
Sujet 3	3,8	0	0,7	2,4	0,6	0

Sujet 4	3,6	0	1	0,5	1	0,7
Sujet 5	3,5	0	1,6	0	1,6	0
Sujet 9	3,4	0	1,5	0,9	0	0,6
Sujet 10	3,5	1,2	0,6	0,6	0	0
Sujet 11	3,7	0	1,3	1,3	0,9	0,6
Sujet 12	2,9	0,5	0,7	0,7	0	0,9
Sujet 14	3,1	0	1,1	1,1	0	0,5
Etendue	0,9	1,2	1	2,4	1,6	0,9
Moyenne	3,43	0,29	1,07	0,83	0,46	0,37
Ecart-type	0,28	0,47	0,36	0,73	0,60	0,36
Fréquence de citation		0,33	1,00	0,78	0,44	0,56
Corrélation à la note globale		-0,20	0,11	0,35	0,54	-0,47

Le calcul du coefficient de corrélation entre la note globale et la note des descripteurs intermédiaires fait apparaître une corrélation forte entre l'intensité de la note globale et de la note acide isovalérique (0,54), une corrélation modérée entre la note globale et la note acide octènoïque (0,35) et une corrélation faible entre la note globale et la note acide acétique (0,11). Il apparaît donc que l'acide isovalérique pourrait constituer un bon marqueur de l'intensité de l'odeur de transpiration, ou du moins être utilisé en tant que substitut pour des études ultérieures.

Ceci permet également de mettre en évidence un élément curieux : l'intensité de la note globale semble être inversement proportionnelle à l'intensité de la note pyrazine (-0,2) et de la note nonanal (-0,47). Ces composés chimiques pourraient donc être envisagés comme « masquants » de l'odeur de transpiration.

3.3. Caractérisation des échantillons par un panel restreint

Les résultats obtenus par GC-MS/O et par le panel illustrent la difficulté à qualifier et surtout à quantifier une odeur. Cependant, la mise au point d'une méthode de mesure des odeurs est cruciale pour la suite de cette étude, puisqu'il est impossible de conclure sur l'effet de différents paramètres sans outil de mesure.

Pour répondre à des impératifs de réactivité et de coût, un protocole basé sur une échelle restreinte a été développé en interne à l'entreprise. Ce protocole se focalise sur l'application présentée ici, à savoir l'intensité des odeurs de transpiration. Le ressenti est qualifié par 3

personnes de l'entreprise. Les T-shirts sont notés de 0 à 10, 0 étant la note attribuée à une odeur imperceptible, 10 étant la note attribuée à un composant dont l'odeur est insupportable. Les notes attribuées aux échantillons par l'échelle restreinte sont regroupées sur la Figure 30.

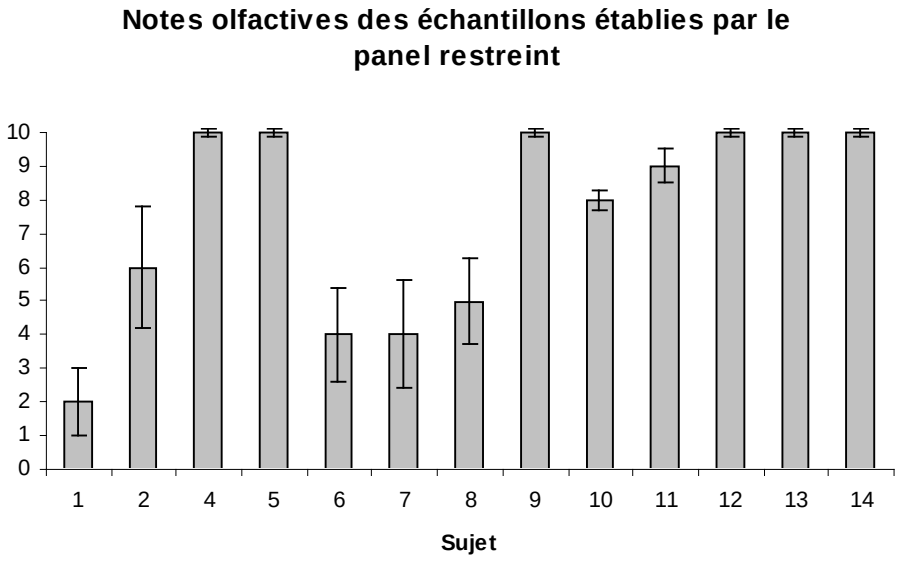


Figure 30 : Notes olfactives attribuées aux 14 échantillons textiles par le panel restreint

Avec des notes comprises entre 1 et 10, les résultats obtenus par le panel restreint présentent une diversité nettement plus forte que celle observée pour le panel entraîné, mais la nature des émissions ne peut pas être caractérisée.

Sur les 3 méthodes testées, seules 2 (le panel entraîné et le panel restreint) ont fourni des résultats exploitables. Ils vont donc à présent être mis en relation avec les concentrations bactériennes dénombrées en parallèle sur la peau et le textile.

4. Corrélations entre les dénombrements et les mesures d'odeurs

Les dénombrements ainsi que les différentes mesures des émanations odorantes ont été réalisées dans le but de déterminer un lien entre la concentration bactérienne, sur la peau ou sur textile, et l'intensité odorante. Les données fournies par le chromatographe en phase gazeuse n'ont pas pu être exploitées, mais le calcul du coefficient de corrélation entre les

dénombrements sur la peau, sur textile, et les notes obtenues par les 2 panels, entraînés et restreint peut néanmoins être effectué.

Tableau 27 : Coefficients de corrélation entre les dénombrements et les notes d'intensité olfactive mesurées par le panel entraîné

	Note panel entraîné
Concentration bactérienne sur textile	0,07
Concentration bactérienne sur la peau	- 0,52

Pour le panel entraîné, la corrélation est nulle avec la concentration bactérienne sur textile, et inverse pour la concentration bactérienne sur la peau. Par cette méthode, il n'est donc pas possible d'établir de lien entre la concentration bactérienne et l'intensité de l'odeur. Toutefois, les notes globales attribuées par le panel entraîné étaient très homogènes, et les notes intermédiaires présentant une plus grande diversité, un lien peut entre ces 2 séries de données peut donc être attendu.

Lescoefficients de corrélation entre l'intensité des notes olfactives établies par le panel entraîné et les dénombrements réalisés sur la peau et sur le textile sont présentés dans le Tableau 28.

Tableau 28 : Coefficients de corrélation entre les notes olfactives évoquées par le panel et les dénombrements bactériens réalisés sur la peau et sur textile

	Pyrazine	Acide acétique	Acide octènoïque	Acide isovalérique	Nonanal
Concentration bactérienne sur la peau	-0,24	-0,08	0,24	-0,33	0,17
Concentration bactérienne sur textile	0,40	0,11	-0,43	-0,41	-0,25

Pour aucune des notes intermédiaires descriptives, la corrélation est supérieure à 0,5. Par conséquent, il n'est pas non plus possible d'établir de lien entre les notes descriptives intermédiaires établies par le panel entraîné et la concentration bactérienne, sur la peau ou sur le textile.

Tableau 29 : Calcul des coefficients de corrélation entre les dénombrements et les notes d'intensité olfactive mesurées par le panel restreint

	Note panel restreint
Concentration bactérienne sur textile	0,39 (transformation logarithmique)
Concentration bactérienne sur la peau	0,71 (transformation logarithmique)

La mise en place de la méthodologie du panel restreint permet de mettre en évidence un lien très modéré entre l'intensité de l'odeur perçue et la concentration bactérienne sur textile, et un lien fort (r=0,71) entre la concentration bactérienne sur la peau et l'intensité de l'odeur perçue sur textile.

Ainsi, plus la flore bactérienne cutanée est importante, plus l'odeur sur le T-shirt est importante. Ceci oriente vers une production de molécules volatiles malodorantes qui aurait plutôt lieu sur la peau.

Ces résultats sont à prendre avec mesure du fait que seul le panel restreint permet de mettre en évidence cette propriété, mais il permet toutefois d'orienter la réflexion vers l'hypothèse 3, selon laquelle les bactéries de la flore commensale seraient peu transférées vers le T-shirt en

PET. Toutefois, cette étude n'ayant été réalisée que sur un seul composant, et sans caractérisation plus fine du transfert, il convient d'approfondir l'étude de cette hypothèse.

5. Discussion sur les dispositifs de mesure

Les résultats présentés ici orientent vers une production de molécules volatiles malodorantes qui aurait plutôt lieu sur la peau. Toutefois, 2 points doivent être discutés pour étayer cette hypothèse. Tout d'abord, les concentrations bactériennes détectées sur la peau et sur le textile sont faibles par rapport aux données de la littérature. Ensuite, les différences observées entre les résultats du panel entraîné et du panel restreint doivent également être expliquées.

Une partie de l'expérience présentée ici consistait à dénombrer la flore totale sur 14 personnes différentes. Les expérimentations présentées ici ont montré une concentration bactérienne de 8.10^3 UFC/cm² de peau, mais au niveau de l'aisselle, Leyden et al (1981) ont dénombré une population de l'ordre de 5.10^5 et Korting et al (1988) ont dénombré une population de 10^7 UFC/cm² de peau.

Cette différence soulève deux limites au dispositif de mesure.

Tout d'abord, il a été demandé aux sujets de ne pas se laver le matin du test, mais par oubli, ou du fait qu'ils étaient sur leur lieu de travail le matin du test, ces derniers n'ont pas tous respecté cette consigne. Ceci peut expliquer les faibles résultats obtenus par rapport aux données disponibles dans la littérature.

D'autre part, le dénombrement d'une flore complexe implique la croissance de nombreuses souches différentes après une semaine d'incubation à 30 °C. Ces souches ayant des vitesses de croissance sans doute très variables, il est probable que certaines colonies n'aient pas été comptabilisées, du fait de la présence de colonies à croissance rapide dissimulant ou inhibant la croissance des autre. Cet élément problématique introduit la nécessité de se soustraire de la phase de revivification pour pouvoir confirmer l'hypothèse 3, et sera étayée dans le prochain chapitre.

Toutefois, malgré cette faible charge bactérienne, les textiles testés émettaient des odeurs. En comparant les dénombrements sur textile avec les vitesses de production disponibles dans la

littérature, James et al (2004b) sur les vitesses spécifiques de production de molécules volatiles malodorantes à partir d'acides gras, ou Labows et al (1991) sur la dégradation des androstènes, il semble impossible que la production sur le textile puisse atteindre les seuils de détection pendant une heure de pratique sportive, voire pendant 24 h en considérant le temps de stockage. Ceci corrobore donc l'hypothèse 3 selon laquelle les molécules odorantes seraient produites sur la peau.

Le deuxième point à discuter est la contradiction apparente entre les résultats des mesures odorantes par panel entraîné et restreint. En effet, le panel restreint permet d'observer une corrélation entre la concentration bactérienne cutanée et l'odeur, tandis que le panel entraîné ne permet pas d'observer cette différence, alors que ce dernier semble plus à même de déterminer des différences fines entre échantillons. Ceci soulève la question des différences entre les 2 protocoles utilisés qui sont présentées dans le Tableau 30.

Tableau 30 : Comparatif des protocoles de mesure pour le panel entraîné et le panel restreint

	Notation par panel IFTH	Notation par échelle restreinte
Conditionnement des échantillons	24 h à température ambiante + 2 h à 80 °C	24 h à température ambiante
Mise en contact avec le juge	Nez dans un flacon de 60 mL contenant 0,4 g de la zone axillaire	Nez à 3 cm au niveau de la zone axillaire du T-shirt
Nombre de juges	7	3
Notes extrêmes	0 – 5	0 – 10
Valeur référence basse	Rien	T-shirt en coton après usage
Valeur référence haute	Insupportable	Odeur de transpiration insupportable

Ces protocoles présentent des différences majeures. En effet, le conditionnement de l'échantillon à 80 °C pendant 2 heures dans le protocole par panel est censé désorber les molécules odorantes du textile, ce qui devrait augmenter l'intensité de l'odeur. Cependant, la taille de l'échantillon est plus faible puisqu'il s'agit de 0,4 g représentant environ 32 cm² de PET, soit un fragment de 6 x 5 cm environ, dans un flacon, tandis que la mesure par échelle restreinte est réalisée directement sur le vêtement. Le nombre de juges est plus faible pour la

mesure en échelle restreinte. Le risque statistique est donc plus important, mais le nombre d'échantillons testés permet d'apporter de la robustesse à la méthode.

Enfin, la notation en elle-même est le plus gros facteur de différence. Les juges de la méthode restreinte doivent fournir une note de 0 à 10 sur l'odeur de transpiration. La note 10 correspond à une odeur de transpiration insupportable, c'est-à-dire que le juge détourne la tête lorsqu'il renifle le vêtement. Ce critère est subjectif, mais après quelques essais, toute personne parvient à juger aisément les composants, et le coût d'une étude par panel rend impossible son utilisation à plus grande échelle.

Ces méthodes ne sont donc pas comparables, mais pour cette application précise, le panel restreint est suffisant.

6. Conclusion

Le choix a été fait ici de caractériser l'odeur de manière sensorielle, qui montre des résultats probants là où la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse atteint ses limites de détection

La caractérisation olfactive des composants par le panel a montré que les composantes de l'odeur de transpiration sur le textile étaient principalement des notes acides. Si la nature des molécules est inconnue du fait même de la méthode choisie, cela corrobore l'idée selon laquelle l'odeur de transpiration est bien le fait de la flore commensale qui dégrade les triglycérides constitutifs de la peau, des sécrétions sébacées et apocrines en acides gras à plus courtes chaînes. Ces acides gras à courtes chaînes peuvent alors s'évaporer, ce qui génère l'odeur de transpiration.

En outre, le panel restreint a permis de mettre en évidence un potentiel indicateur de mauvaise odeur, la note acide isovalérique, dont l'intensité est corrélée à l'intensité totale ($r = 0,54$).

Ensuite, les manipulations qui ont été mises en place pour cette étude visant à dénombrer la flore bactérienne ont montré que la concentration bactérienne moyenne est de 1.10^2 UFC/cm² de textile et de 8.10^3 UFC/cm² de peau dans les conditions opératoires.

Par ailleurs, en se basant sur l'échelle développée pour le panel retreint, la forte corrélation entre la quantité de bactéries revivifiables sur la peau du sujet et l'intensité de l'odeur émise par le composant en PET a été mise en évidence. Cette flore dénombrée est toutefois moins dense que ce qui était envisagé préalablement. En effet, les résultats de Leyden et al (1981) et de Korting et al (1988) faisaient attendre des résultats de l'ordre de 5.10^5 à 10^7 UFC/cm² de peau au niveau de l'aisselle. Il est donc probable que la flore située aux creux des follicules pileux contribue à la production de molécules malodorantes. Celles-ci seraient excrétées lorsque les glandes sudoripares sont soumises à une activité intense, c'est-à-dire lors d'un effort physique.

Ces conclusions orientent l'interprétation des résultats vers une production de molécules volatiles continue sur la peau, qui serait ensuite transférée vers le vêtement via la sueur émise par le corps humain, sans réelle intervention de la flore présente sur le composant (hypothèse 3).

S'il semble peu probable que la production de molécules volatiles ait lieu sur le PET, pour le confort olfactif, celui-ci est nettement moins performant que les fibres naturelles par exemple. Or cette étude montre que la quantité de bactéries revivifiable sur PET est insuffisante pour provoquer l'émanation d'odeurs. Il serait donc intéressant de comparer le transfert bactérien vers le PET au transfert bactérien vers d'autres matières.

Dans le cadre d'une évaluation de l'importance du choix des matières textile dans la lutte contre les infections nosocomiales, Kaziarz et Yamazaki (1998) ont montré que le transfert bactérien après 10 minutes d'incubation pour des espèces bactériennes communément responsables d'infections *(E.coli, S.aureus, S.typhimunium, P.aeruginosa*) était environ 17 fois inférieur sur coton que sur une matière synthétique, le polyéthylène téréphtalate.

Par ailleurs, Takashima et al (2004) ont montré qu'après 1 heure d'incubation dans une suspension bactérienne, pour le PET et les fibres acryliques, le transfert était supérieur à 90 % de la concentration présente dans la suspension mère pour *S.aureus,* et *P.aeruginosa*. Dans les mêmes conditions, elle était inférieure à 10 % de la concentration présente dans la suspension mère sur le coton, et variable pour le Nylon (polyamide).

Ces travaux tendent à démontrer que les souches testées ont une affinité plus forte pour les matières synthétiques que pour le coton, mais ces données semblent donc contradictoires avec les résultats présentés ici, car les matières synthétiques sont réputées plus odorantes que les matières naturelles, le transfert bactérien devrait donc être plus important vers les matières synthétiques que vers les matières naturelles.

Il serait donc intéressant d'affiner les résultats présentés ici et de comparer les transferts spécifiques pour différentes matières, selon une approche qualitative, et non plus quantitative. Le chapitre suivant va donc être consacré à l'étude du transfert bactérien spécifique à différentes espèces bactériennes sur différents matériaux utilisés dans le textile sportif et aux caractéristiques olfactives différentes.

Chapitre 4 : Evaluation de la biodiversité présente sur textile

La première étude réalisée sur le PET a mis en évidence la nette différence quantitative entre la flore commensale cutanée et la flore transférée par frottement sur le PET. La faible quantité de bactéries revivifiables transférées sur PET a compromis l'hypothèse d'une production de molécules volatiles sur le textile et plaiderait pour l'hypothèse selon laquelle les molécules odorantes sont produites en amont.

Cependant, cette étude n'a été réalisée que sur PET, et une première étude de Mac Queen et al (2008) a mis en évidence la différence significative entre la quantité de molécules volatiles émises par du polyéthylène téréphtalate (PET) et par du coton. Ceci signifie que la matière utilisée dans la confection de vêtement joue un rôle primordial dans l'émanation des odeurs.

Une autre étude de Mac Queen et al (2008) a mis en évidence le faible impact de la construction de la maille sur la perception olfactive pour une même matière.

Ce chapitre a donc pour objectif d'étudier les effets de l'interaction entre la nature de la flore commensale cutanée et la nature du textile sur les émanations odorantes, et cette étude sera donc focalisée sur l'impact de la nature des fibres constitutives, de leur surface spécifique et de leur énergie de surface sur le transfert bactérien. L'échelle d'approche choisie ici est le fil, lui-même constitué de filaments. La construction des étoffes (tissage, tricotage, etc.), son impact sur la macroporosité du textile et possiblement sur le transfert bactérien ne seront donc pas abordés.

Le premier chapitre était consacré à un seul matériau : le PET. Dans ce chapitre, le transfert spécifique à partir d'une flore complexe sera évalué pour 4 matières différentes: le PET (composant 1) et le coton (composant 4) qui semblent présenter des comportements « extrêmes », ainsi que deux autres composants, l'un produit en 100 % polyamide (composant 2) et l'autre produit en polyamide et élasthanne (composant 3).

Toutefois, la technique de dénombrement par revivification utilisée dans le chapitre précédent rend ceci quasiment impossible du fait de la diversité de la flore présente et ne permet pas la visualisation de la flore viable non cultivable. De plus, un nombre important d'informations doit être collecté et traité. La caractérisation par ADNr16s, qui consiste à extraire l'ADN total présent dans l'échantillon et non plus la flore bactérienne revivifiable paraît donc être une

technique toute indiquée pour répondre à cette problématique, mais elle nécessite une mise au point qui sera présentée en préalable.

Ce chapitre sera donc tout d'abord consacré à la mise au point de la méthode de caractérisation des échantillons par ADNr16s et à l'étude de la variabilité intra-sujet au cours du temps. Ensuite, le transfert bactérien spécifique sera mesuré à partir d'une flore complexe pour chacune des matières testées au regard de ces caractéristiques.

1. Evaluation qualitative de la biomasse

1.1. Intérêt de la TTGE

Dans le premier chapitre, les résultats présentés ont montré une corrélation entre le nombre de bactéries revivifiables sur la peau de testeurs et l'intensité de l'odeur perçue sur leurs T-shirts en PET. Cependant, Kroes et al (1999) ont montré que seul 1 % de la flore totale pouvait être recultivée en milieu de culture à partir d'échantillons provenant de l'estomac. La peau est un biotope différent, mais ceci montre l'importance de la flore non revivifiable dans les écosystèmes, et la nécessité de prendre en compte de cette partie de la flore dans la compréhension des interactions, notamment dans la formation des odeurs.

Si la majorité des cellules bactériennes ne peuvent pas être recultivées du fait de leurs faibles vitesses de croissance ou de besoin nutritifs spécifiques non pourvus, ces cellules sont néanmoins présentes dans le biotope, ainsi que leur ADN. Par conséquent, il est envisageable d'extraire l'ADN total de l'échantillon, de l'amplifier, et de caractériser l'échantillon de cette manière. La PCR-TTGE est basée sur ce principe.

L'ADNr16s est une fraction du génome bactérien codant pour la synthèse des ARN formant les ribosomes. C'est une partie ancestrale et indispensable du génome, comportant des régions bien conservées et des régions variables. Cette coexistence des 2 types de régions est la base de l'identification, qu'il s'agisse de séquençage ou de mesure du coefficient de Chargaff. Les fragments d'ADN initialement présents dans l'échantillon sont amplifiés par PCR au moyen d'amorces universelles ciblant les régions conservées. La polymérase synthétise alors le brin complémentaire, qui contient des zones variables, permettant d'obtenir une quantité

suffisamment importante de matériel génétique à détecter pour identifier sinon une espèce, au moins un genre.

Le produit de PCR obtenu à partir de l'échantillon complexe est déposé dans le puits d'un gel de polyacrylamide ; l'ensemble des fragments amplifiés d'environ 200 paires de bases est alors sous forme double brins. L'intégrité des fragments d'ADN sous forme double brins est assurée par 2 liaisons hydrogènes entre les bases C et T, et 3 liaisons hydrogènes entre les bases G et C. Les fragments à forte concentration de bases G ou C sont donc plus solides et résistent plus longtemps à la dénaturation causée par le gradient de température. La température à laquelle le fragment est dénaturé est appelée Tm. Lorsque la température de la cuve atteint Tm pour un fragment donné, celui-ci est dénaturé et acquiert une conformation stérique beaucoup plus encombrante que la structure en double brin, et arrête sa migration. Les fragments à forte Tm seront dénaturés plus tardivement et migreront plus loin dans le gel. Les fragments d'ADN sont donc caractérisés par leur distance de migration.

Il pourrait être supposé que 2 souches présentant le même taux de GC sur le fragment amplifié auront la même distance de migration, mais en réalité, l'agencement des nucléotides au sein de la séquence a aussi une influence sur la température de dénaturation et limite le risque de superposition. A priori, une relation entre la taille des fragments, leur % de bases G et C et la distance de migration du fragment devrait pouvoir être envisagée, mais il n'a pas été trouvé de littérature à ce sujet.

Les bandes détectées sur un gel de TTGE n'identifient pas formellement des bactéries mais constituent le profil caractéristique d'un écosystème, ce qui justifie d'ailleurs son intérêt dans cette étude : il s'agit de déterminer quelles sont les modifications causées par le transfert sur le textile sur la composition de l'écosystème cutané, et en quoi les propriétés de surface des fils constitutifs de ce textile conditionnent ce transfert.

La technique présentée a pour principal intérêt d'augmenter la quantité d'informations récoltées puisque toutes les cellules bactériennes sont représentées par leur ADN, mais elle permet également de limiter les manipulations et le temps de traitement. Toutefois, son utilisation pour la problématique présentée ici nécessite une phase important de mise au point qui est détaillée dans le paragraphe suivant.

1.2. Adaptation de la méthode de TTGE à la flore cutanée

La méthode présentée en matériel et méthodes a été utilisée pour caractériser des échantillons de textile portés. Des échantillons de 4 cm² de textile en PET porté ont été collectés. Ayant montré dans le premier chapitre que la quantité de bactéries revivifiables était plus faible sur le textile que sur la peau, la concentration en ADN attendue était plus faible sur textile et pouvait être considérée comme limitante. Toutefois, telle quelle, cette méthode n'a pas permis de détecter un signal d'intensité suffisante sur un gel de polyamide. Elle a donc été adaptée au niveau de l'extraction de l'ADN total, et surtout au niveau de l'amplification de l'ADN total.

Pour améliorer le taux de récupération de l'ADN à partir des échantillons, 3 méthodes ont été testées sur un échantillon frais : une méthode classique d'extraction d'ADN ainsi que deux kits d'extraction, le kit DNA Stool (Qiagen) et le kit DNA Investigator (Qiagen), développé pour les faibles quantités d'ADN. Après amplification par PCR, dépôt sur gel d'agarose 2 %, migration et bain en SybrSafe, l'extrait obtenu à l'aide du kit DNA Investigator fournissait le signal le plus intense. Ce kit a donc été utilisé pour la suite de cette étude.

Pour améliorer la performance de la PCR, les concentrations en Taq Polymérase et en dNTP ont été augmentées, de 2 jusqu'à 12 U et de 1 jusqu'à 10 mM respectivement, sans impact significatif sur le signal.
Plusieurs modifications ont été faites sur le programme de température de PCR. Le programme final utilisé est présenté p.84.

Au cours des manipulations, il est apparu que la boucle –GC présente sur l'amorce HDA1-GC qui ralentit la migration des échantillons sur le gel constituait un obstacle à l'amplification par PCR. Il a donc été envisagé de réaliser une première PCR, dans le but d'amplifier l'ADN, puis une deuxième PCR, dans le but de fixer la boucle GC sur les fragments. Cette méthode est appelée « PCR nichée » (nested PCR).

Une première PCR nichée a donc été réalisée, visant à tout d'abord amplifier un fragment de taille plus importante (700 pb), encadrant le fragment cible (200 pb), puis à amplifier le fragment cible à partir de 2 µL du premier produit de PCR. Pour cela, les amorces

WO1/WO12 (voir Tableau 14, p.83) ont été utilisées lors de la première PCR, et les amorces HDA1-GC/HDA2 pour la deuxième PCR. Entre les 2 PCR, une purification de l'échantillon est effectuée sur colonne afin d'améliorer le rendement de la deuxième PCR.

Une deuxième PCR-nichée a été réalisée en utilisant les amorces HDA1/HDA2 pour la première PCR, et les amorces HDA1-GC/HDA2 pour la deuxième PCR. Il ne s'agit pas d'une PCR nichée au sens strict du terme, puisque les fragments amplifiés lors de la première PCR présentent la même longueur que les fragments amplifiés lors de la deuxième PCR, mais cette dernière méthode fut celle qui fournissait le meilleur signal sur gel de polyacrylamide. Elle a donc été utilisée pour la suite de l'étude.
La Figure 31 est un schéma récapitulatif des différentes étapes à réaliser avant d'obtenir un signal sur gel à partir des échantillons.

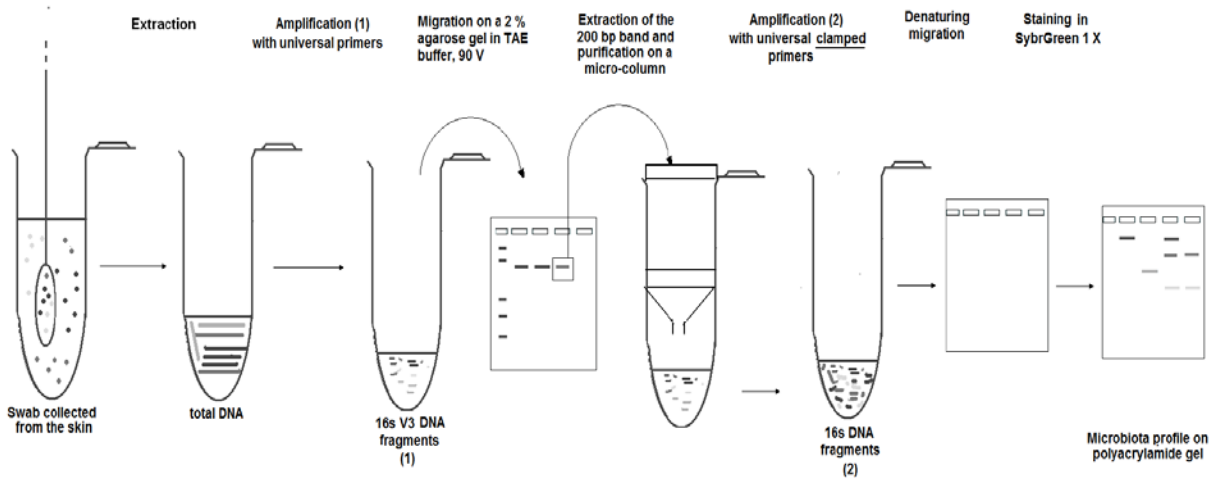


Figure 31 : Méthode de détermination de profils bactériens modifiée pour les échantillons à faible concentration en ADN

1.3. Calibration de la méthode de TTGE

Afin de déterminer la taille exacte des fragments attendus sur le gel de polyacrylamide après dépôt des échantillons, un alignement des amorces HDA1/HDA2 est réalisé à l'aide des séquences d'ADN disponibles sur la base de données NCBI avec des souches fréquemment détectées sur la peau. Le Tableau 31 montre les résultats des requêtes BLAST effectuées sur le site internet NCBI pour les 3 souches utilisées en tant que contrôle (*Corynebacterium*

jeikeium, Corynebacterium minutissimum et *Staphylococcus epidermidis).* Leur taille ainsi que le pourcentage de bases G et C dans la séquence sont également présentés.

Tableau 31 : Séquences des fragments d'ADNr16S attendues pour les 3 souches pures testées

Souche	Fragments amplifiés (5'-3')	Taille (bp)	GC %
C.minutissimum	ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATG GGCGGAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGGGGGATGA CGGCCTTCGGGTTGTAAACTCCTTTCGACAGGGACGAAG CGAGTGACGGTACCTGTATAAGAAGCACCGGCTAACTAC GTGCCAGCAGCCGCGGTAATAC	177	59
C.jeikeium	ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATG GGCGCAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGGGGGATGA CGGCCTTCGGGTTGTAAACTCCTTTCGCTAGGGAAGAAG CCTTTTGGTGACGGTACCTGGATAAGAAGCACCGGCTAA CTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATAC	181	58
S.epidermidis	ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATG GGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGA AGGTCTTCGGATCGTAAAACTCTGTTATTAGGGAAGAACA AATGTGTAAGTAACTATGCACGTCTTGACGGTACCTAATC AGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA TAC	199	51

La taille attendue du fragment est exprimée en paires de bases. Le % GC est un indicateur de la résistance du fragment à la dénaturation thermique

Afin de déterminer le seuil de détection de la TTGE, ces souches ont été cultivées en fioles d'Erlenmeyer puis diluées en cascade. Un dénombrement sur boîtes a été réalisé et en parallèle, 50 µL de chacune de ces dilutions ont été déposés sur des écouvillons puis soumis au protocole d'extraction.

Les fragments d'ADN extraits des différentes dilutions apparaissent sur les gels présentés en annexe 10. Pour tous ces échantillons, comme attendu d'après les alignements sur la base de données NCBI, une seule bande a été observée sur le gel.

La photographie sous UV du gel a été traitée à l'aide du logiciel de traitement d'images Image J en soustrayant le fond (5,0 pixels) et en augmentant le contraste (0,1 pixel saturé). Le logiciel fournit l'aire sous la courbe du spectre d'intensité des bandes visualisées en unités arbitraires. Le ratio signal sur bruit est calculé. Les échantillons dont le ratio du signal est supérieur à 5 sont considérés comme détectés, les échantillons dont le ratio du signal est

inférieur à 5 sont considérés comme du bruit. Le Tableau 32 fournit les résultats de cette analyse.

Tableau 32 Limites de détection de la TTGE dans le protocole utilisé pour 3 souches pures

Souche	**Limite de détection de la méthode**
C.jeikeium	$2.4 \pm 0,4x10^3$ UFC/cm² de peau
C.minutissimum	$8,5 \pm 0,5 .10^2$ UFC/cm² de peau
S.epidermidis	$3,5 \pm 0,1 .10^1$ UFC/cm² de peau

L'observation de l'intensité des bandes montre que celle-ci n'est pas proportionnelle à la quantité de colonies déposées sur l'écouvillon. En effet, une UFC ne représente pas nécessairement une cellule bactérienne, ceci est donc logique, mais cela signifie que les résultats obtenus ne pourront pas être comparés à ceux obtenus dans le chapitre 3.

Cette technique va être appliquée à l'étude de la stabilité de la flore commensale. La stabilité temporelle et latérale de la flore du sujet va être étudiée. Ceci est un pré-requis important pour pouvoir atteindre l'objectif final de cette étude qui est de comparer les transferts de l'écosystème cutané vers différentes matières de fibres.

2. Etude de l'effet « latéralité » au cours du temps sur la flore bactérienne

Pour des raisons logistiques, il est impossible de tester simultanément les 4 composants. Ces tests doivent donc être réalisés de manière séquentielle et il faut donc pouvoir poser l'hypothèse de la constance de la flore commensale axillaire pour un seul et même sujet.

L'effet latéralité a déjà été étudié dans le chapitre précédent sous un angle quantitatif, mais l'utilisation d'une autre technique, la TTGE permettrait de confirmer les résultats obtenus précédemment.

Les échantillons testés ont été collectés à 6 reprises sous les aisselles droite et gauche du sujet sur une durée totale de 3 mois. La Figure 32 montre l'extrait d'un gel obtenu ainsi que les bandes observées.

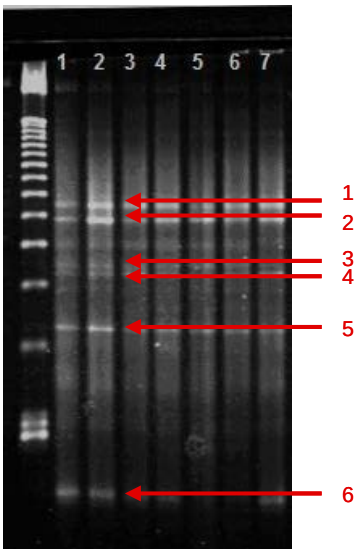


Figure 32 : Détection des bandes de TTGE

Les résultats présentés dans la Figure 33 p.130 sont les spectres de l'intensité lumineuse de la photographie sous UV des gels sur lesquels ont migré les échantillons, calculée par le logiciel Image J.

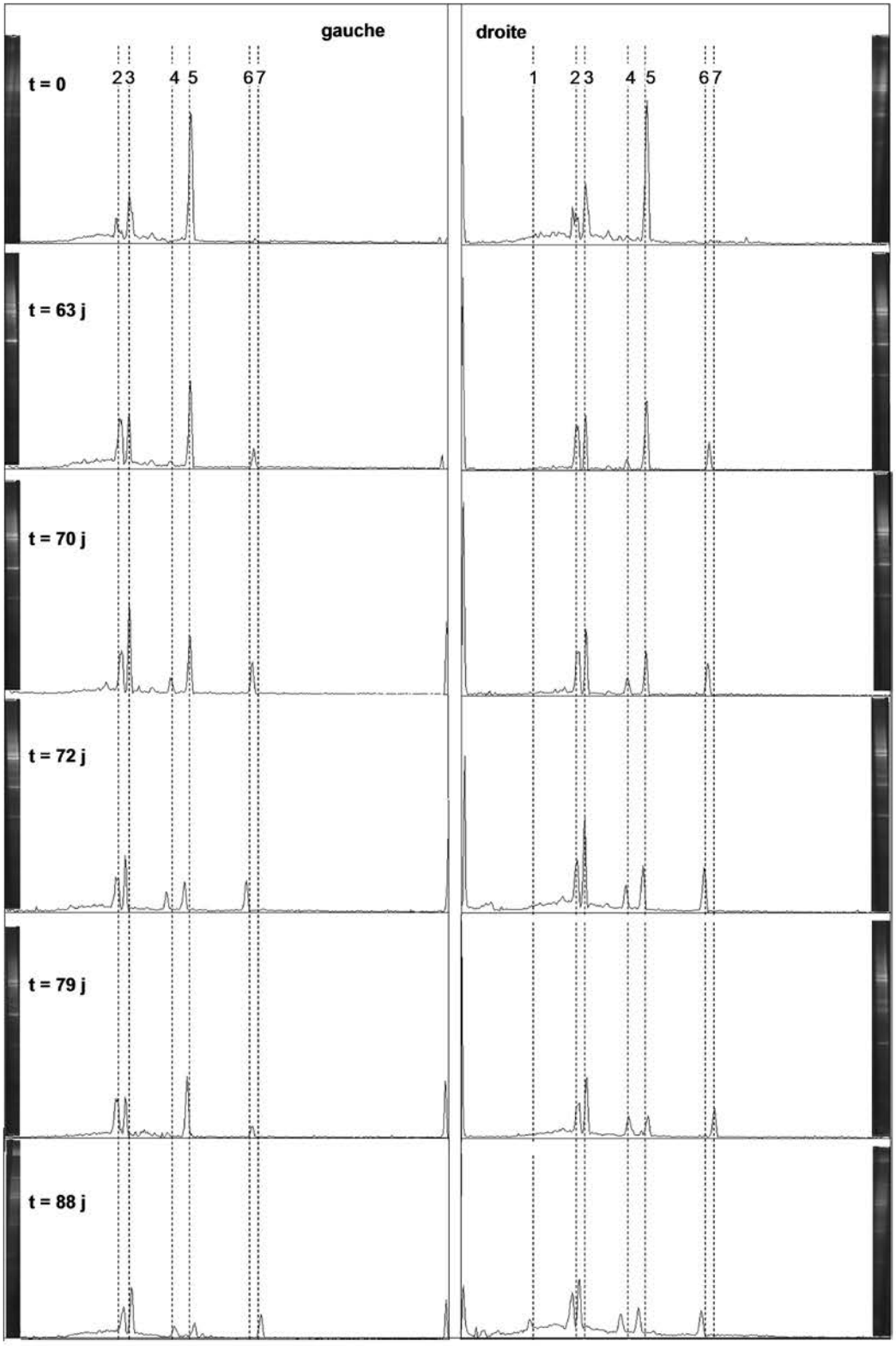


Figure 33 : Comparaison des profils obtenus entre les aisselles droite et gauche pour un sujet prélevé régulièrement sur une période de 3 mois

Visuellement, la stabilité latérale et temporelle de la flore chez le sujet testé est remarquable.

Les bandes 2, 3 et 5 sont présentes dans tous les échantillons. Les bandes 6 et 7 sont proches, et puisqu'elles n'apparaissent jamais simultanément, il est fort probable que ces 2 bandes ne sont en réalité qu'une seule. En effet, une légère variation de différence de potentiel dans l'appareil dans lequel est effectuée l'électrophorèse peut influencer de manière sensible les distances de migration. Ce phénomène n'est pas toujours visible, mais il apparaît plus nettement au niveau du front de migration, là où les différences sont les plus visibles. Ces 2 bandes seront donc traitées ensemble sous le label 6'. Le Tableau 33 répertorie la présence des bandes dans les profils présentés.

Tableau 33 : Recensement des bandes d'ADN16s présentes sur les profils obtenus à partir d'échantillons collectés sur une durée de 3 mois.

Date	Bande	1	2	3	4	5	6'
t = 0	Gauche	0	1	1	0	1	0
t = 0	Droite	0	1	1	0	1	0
t = 63 j	Gauche	0	1	1	0	1	1
t = 63 j	Droite	0	1	1	0	1	1
t = 70 j	Gauche	0	1	1	1	1	1
t = 70 j	Droite	0	1	1	1	1	1
t = 72 j	Gauche	0	1	1	1	1	1
t = 72 j	Droite	0	1	1	1	1	1
t = 79 j	Gauche	0	1	1	0	1	1
t = 79 j	Droite	0	1	1	1	1	1
t = 88 j	Gauche	0	1	1	1	1	1
t = 88 j	Droite	1	1	1	1	1	1
Nombre d'occurrences (/12)		1	12	12	7	12	10
Taux de présence		0,1	1,0	1,0	0,6	1,0	0,8

Présentes dans tous les échantillons prélevés pendant 3 mois, les bandes 2, 3 et 5 peuvent être considérées comme l'empreinte bactérienne du sujet. Ces bandes sont donc caractéristiques de la flore commensale du sujet testé.

La bande 1 n'apparaît qu'une seule fois, et dans un seul échantillon. Son apparition unique oriente vers l'hypothèse d'un artefact ou d'une contamination ponctuelle.

Les bandes 4 et 6'apparaissent par intermittence, elles sont indicatrices de la présence de flore temporaire. Il est toutefois intéressant de noter qu'elles apparaissent de manière récurrente et sur des échelles de temps supérieures à un mois.

Il n'est donc pas possible de poser l'hypothèse d'une constance absolue de la flore chez le sujet testé et de comparer le transfert bactérien vers le textile à une « valeur moyenne ». Pour la suite, il sera donc nécessaire d'étudier le transfert bactérien au cas par cas. Par conséquent, l'étude du transfert bactérien sera réalisée entre la flore bactérienne présente sous l'aisselle du sujet le jour de l'étude, et non sur une valeur « moyenne » de l'écosystème bactérien.

En conclusion, la frontière entre flore commensale et flore de passage est plus floue qu'il n'y paraît. L'aisselle peut être considérée comme un habitat bactérien colonisé par des espèces majoritaires et toujours présentes, caractérisées ici par les bandes 2, 3 et 5, mais qui accueille aussi des souches semi-permanentes, caractérisées par les bandes 4 et 6'. Ces bandes peuvent avoir 3 origines :

- Ce sont des contaminations de l'environnement
- Quelques souches perdurent à la surface de la peau à une concentration inférieure au seuil de détection (soit moins de 100 UFC sur la surface de l'aisselle) et se multiplient à nouveau sous l'influence de divers facteurs
- Ce sont des souches localisées dans les follicules pileux qui sont excrétées de temps en temps par le mécanisme de sudation

3. Etude de la flore bactérienne transférée sur les matières testées

Le transfert bactérien de la peau vers le vêtement est étudié. Après validation de cette méthode par comparaison avec les résultats obtenus précédemment, ce mode opératoire sera dupliqué au profit d'une étude plus large sur d'autres composants textiles.
Les échantillons de gels présentés ci-après sont obtenus à partir d'échantillons collectés après une heure de pratique sportive, le sujet ayant pris une douche environ 20 heures avant la pratique. Les gels entiers sont présentés en annexe 11.

3.1. Transfert peau/PET

La Figure 34 illustre les profils de TTGE obtenus à partir de la peau et sur le composant 1 (100 % PET) le même jour après une heure de pratique sportive.

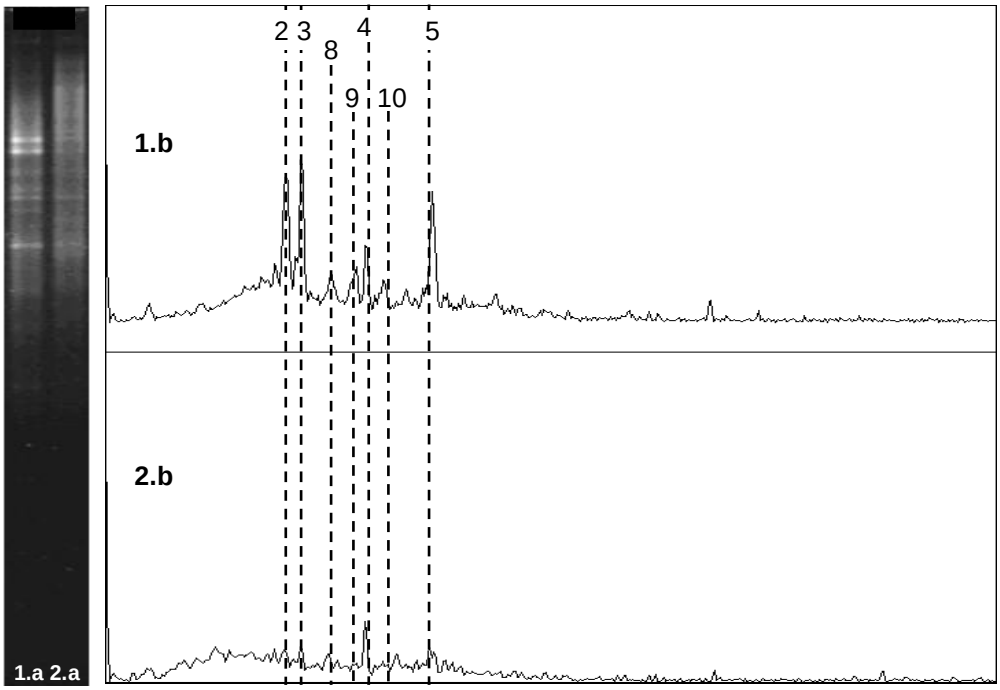


Figure 34 : Profils de TTGE caractérisant l'écosystème bactérien de l'aisselle et du textile (composant 1)
1.a : peau ; 2.a : composant 2 en PET porté le jour du prélèvement ; 1.b, 2.b : intensité des signaux correspondants traités par le logiciel Image J

Le premier échantillon provient d'un écouvillon prélevé à la surface de la peau du sujet sur lequel est réalisée l'expérience. La première bande photographiée sous UV (1.a) montre l'intensité des bandes apparues sur gel de TTGE après migration dans un gradient dénaturant de ce premier échantillon traité. Sur le spectre correspondant (1.b) obtenu par le logiciel de traitement d'images Image J, les pics caractéristiques de l'écosystème bactérien cutané de l'aisselle du sujet apparaissent.

Le deuxième échantillon provient d'un prélèvement réalisé sur le vêtement en PET porté le même jour par le sujet durant une heure de pratique sportive. La photographie (2.a) montre l'intensité des bandes apparues sur gel de TTGE après migration dans un gradient dénaturant de ce deuxième échantillon traité.
Le Tableau 34 présente les aires obtenues en intégrant le signal. Le taux de transfert est calculé sur le même principe que celui de la flore revivifiable mais appliqué à l'intensité du signal détecté sur les profils.

$$Taux\ de\ transfert\ = \frac{Intensité\ sur\ textile}{Intensité\ sur\ \ peau + Intensité\ sur\ textile}$$

Tableau 34 : Intégration des pics détectés à l'aide du logiciel Image J sur les échantillons cutanés et sur textile PET après pratique sportive.

Bande	Peau	Textile (PET)	Taux de transfert
2	527	39	7 %
3	553	50	8 %
4	154	162	51 %
5	459	97	17 %
8	135	0	0 %
9	108	29	21 %
10	124	55	31 %
Somme des aires	2060	432	17 %

Tout d'abord, le taux de transfert d'ADN bactérien total est de 17 %. A titre de comparaison, le taux de transfert bactérien calculé pour ce même sujet et ce même composant est de 30 % en se basant sur la flore revivifiable. Ces deux résultats varient du simple au double, mais il ne s'agit pas de la même méthode de traitement, et cette différence reste donc cohérente. Cela confirme que la majorité de la flore commensale reste sur la peau au lieu d'être transférée vers le textile en PET durant la pratique sportive.

Il apparaît par ailleurs que certaines bandes sont fortement transférées vers le textile, telles que la bande 4, les bandes 9 et 10 et la bande 5 dans une moindre mesure, tandis que d'autres le sont nettement moins, comme les bandes 2, 3 et 8. Ceci confirme l'existence d'un taux de transfert spécifique à une espèce bactérienne, et donc d'un pouvoir d'adhésion à l'épiderme plus ou moins important suivant les souches bactériennes. Ceci pourrait signifier que certaines bactéries actives dans la formation d'odeurs seraient spécifiquement attirées par certaines matières, et pourrait justifier les différences de perception odorante après la pratique sportive.

Pour étudier cette hypothèse, les transferts de l'ADN bactérien total sont étudiés pour les autres matières testées. Compte tenu des quelques variations intra-sujet observées au cours du temps, les transferts de l'ADN bactérien total seront étudiés au cas par cas, c'est-à-dire en comparant le spectre obtenu pour une matière avec celui à partir de l'écouvillon axillaire prélevé le même jour. Des T-shirts sont donc réalisés avec des empiècements sous les aisselles avec les autres matières testées. Ces expériences sont réalisées en duplicata. Les gels de TTGE utilisés pour effectuer ces expériences sont présentés en annexe 11.

3.2. Transfert peau/PA 6,6

La Figure 35 illustre les profils de TTGE obtenus à partir de la peau et sur le composant 2 (100 % PA6,6) le même jour après une heure de pratique sportive.

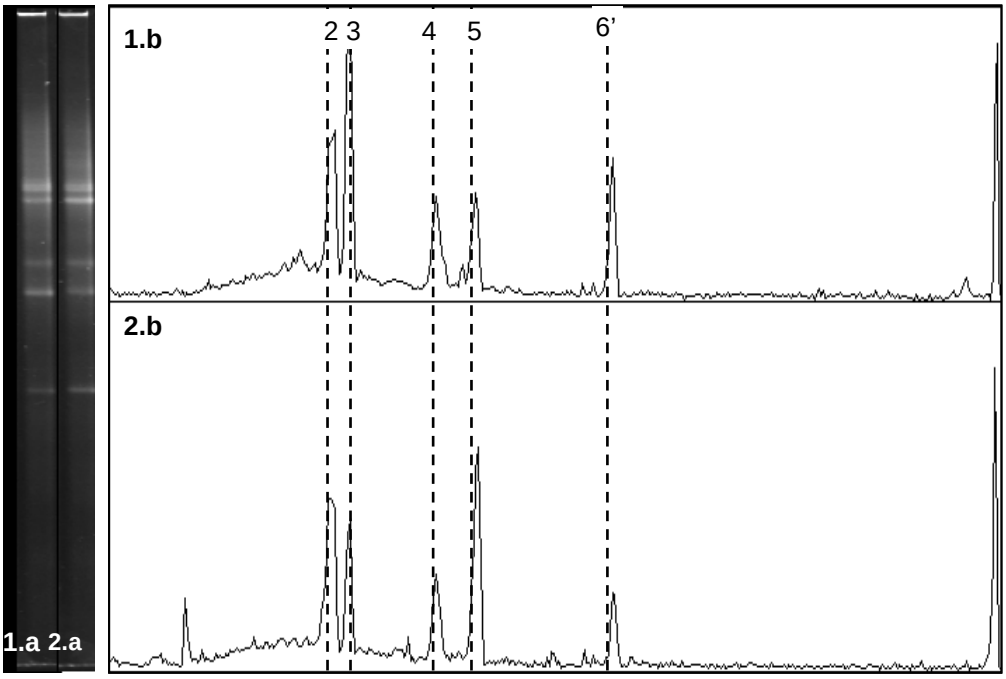


Figure 35 : Profils de TTGE caractérisant l'écosystème bactérien de l'aisselle et du textile (composant 2) 1.a : peau ; 2.a : composant 2 en polyamide 6,6 porté le jour du prélèvement ; 1.b, 2.b : intensité des signaux correspondants traités par le logiciel Image J

Comme dans le paragraphe précédent, le premier spectre est caractéristique de l'écosystème cutané, tandis que le deuxième représente les bandes caractéristiques de l'écosystème présent sur le vêtement en polyamide 6,6.

La comparaison des 2 spectres montre que chacune des bandes caractéristiques de l'écosystème bactérien est présente sur l'échantillon de textile, avec une bande supplémentaire au début du spectre d'intensité du composant. Cette bande n'apparaissant qu'une fois, l'hypothèse d'un artefact de mesure ou d'une contamination ponctuelle du composant est privilégiée.

Le Tableau 35 présente les aires obtenues en intégrant le signal.

Tableau 35 : Intégration des pics détectés à l'aide du logiciel Image J sur les échantillons cutanés et sur textile PA 6,6 après pratique sportive

Bande	**Peau**	**Textile (PA6,6)**	**Taux de transfert**
2	874	689	44 %
3	503	1065	68 %
4	408	154	27 %
5	329	1030	76 %
6'	135	301	69 %
Somme des aires	2249	3239	59 %

Le taux de transfert d'ADN bactérien total est de 59 %, ce qui constitue une différence majeure avec le composant en PET préalablement testé (17 %), signifiant que plus de la moitié de la flore totale présente à la surface de l'épiderme après la pratique sportive est transférée vers le vêtement en PA 6,6.

Avec un taux de transfert variant de 27 à 76 %, les souches bactériennes à la surface de la peau ont une affinité plus importante pour la matière polyamide, suffisante pour être transférées sur le vêtement, ou, à l'inverse l'énergie apportée par les frottements du textile sur la peau est suffisante pour prélever un échantillon plus conséquent de la flore présente à la surface de la peau.

3.3. Transfert peau/ PA6,6-EA

La Figure 36 illustre les profils de TTGE obtenus à partir de la peau et sur le composant 3 (77 % PA6,6, 23 % EA) le même jour après une heure de pratique sportive.

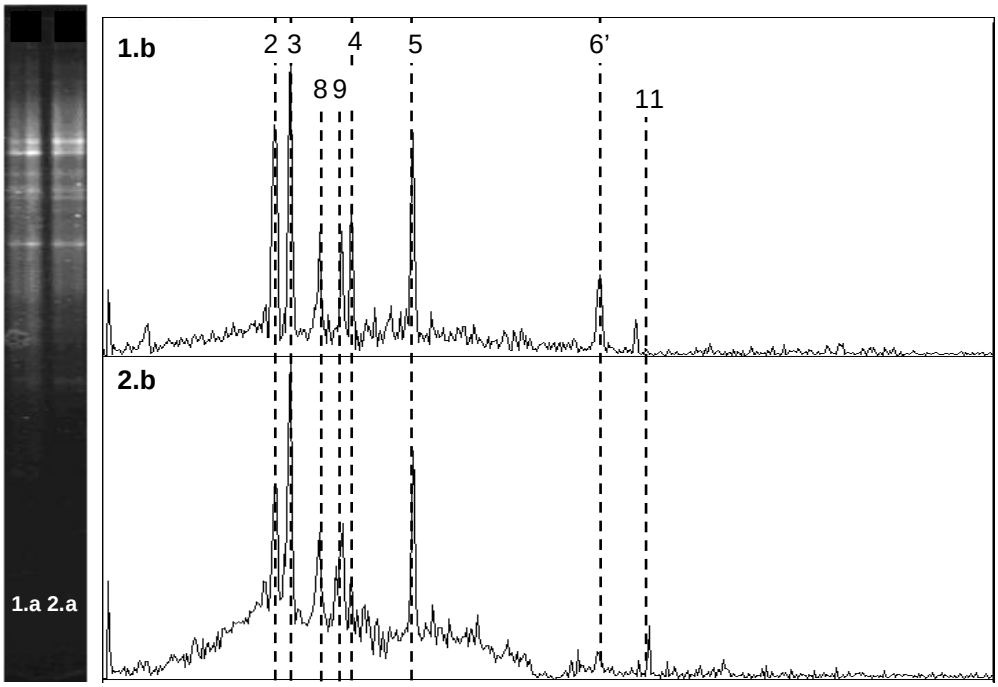


Figure 36 : Profils de TTGE caractérisant l'écosystème bactérien de l'aisselle et le textile (composant 3) 1.a : peau ; 2.a : composant 2 en polyamide 6,6-élasthanne porté le jour du prélèvement ; 1.b, 2.b : intensité des signaux correspondants traités par le logiciel Image J

Comme dans le paragraphe précédent, le premier spectre est caractéristique de l'écosystème cutané, tandis que le deuxième représente les bandes caractéristiques de l'écosystème présent sur le vêtement en polyamide 6,6-élasthanne. Le Tableau 36 présente les aires obtenues en intégrant le signal.

Tableau 36 : Intégration des pics détectés à l'aide du logiciel Image J sur les échantillons cutanés et sur textile PA 6,6-EA après pratique sportive

Bande	Peau	Textile (PAEA)	Taux de transfert
2	802	387	33 %
3	983	815	45 %
4	329	282	46 %
5	519	504	49 %
6'	243	219	47 %
8	252	288	53 %
9	176	60	25 %
11	58	76	57 %
Somme des aires	3362	2631	44 %

Toutes les bandes présentes sur la peau sont présentes sur le profil du vêtement. Le taux de transfert global est de 44 %, avec un minimum de 25 % pour la bande 9 et un maximum de 49 % pour la bande 5. Les bandes présentes dans l'écosystème cutanées sont également retrouvées sur l'échantillon prélevé sur le vêtement en polyamide 6,6-élasthanne.

3.4. Transfert peau/coton

La Figure 37 présente les profils de TTGE obtenus à partir de la peau et sur le composant 4 (100 % coton) le même jour après une heure de pratique sportive.

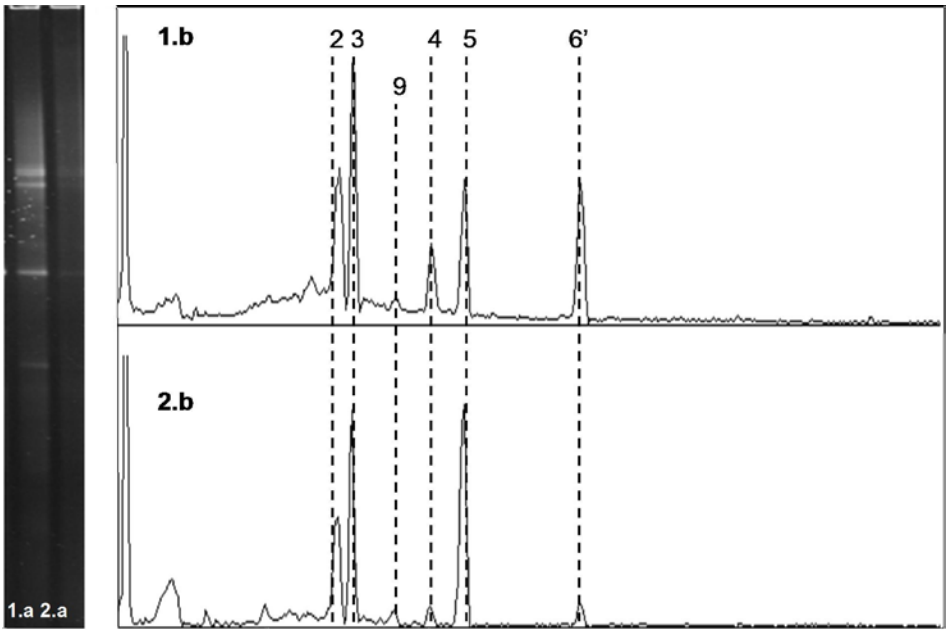


Figure 37 : Profils de TTGE caractérisant l'écosystème bactérien de l'aisselle et du textile (composant 4) 1.a : peau ; 2.a : composant 2 en coton porté le jour du prélèvement ; 1.b, 2.b : intensité des signaux correspondants traités par le logiciel Image J

Comme dans le paragraphe précédent, le premier spectre est caractéristique de l'écosystème cutané, tandis que le deuxième représente les bandes caractéristiques de l'écosystème présent sur le vêtement en coton. Le Tableau 37 présente les aires obtenues en intégrant le signal.

Tableau 37 : Intégration des pics détectés à l'aide du logiciel Image J sur les échantillons cutanés et sur textile coton après pratique sportive

Bande	Peau	Textile (Coton)	Taux de transfert
2	1390	677	33 %
3	929	921	50 %
4	1245	794	39 %
5	382	188	33 %
6'	591	233	28 %
9	102	93	48 %
Somme des aires	4639	2906	39 %

Les profils microbiens entre l'aisselle et le vêtement porté présentent une remarquable similitude. Avec un taux de transfert global de 39 %, le coton présente un taux de transfert intermédiaire par rapport aux matières testées.

En ce qui concerne la production d'odeurs, ceci est un élément étonnant mais primordial : après une heure de pratique sportive, la charge bactérienne sur coton est au moins aussi importante que sur PET.

Le rôle des propriétés de surface dans le transfert bactérien va donc être étudier pour établir un lien entre les propriétés de surface, les souches bactériennes transférées, et l'émanation des odeurs sur textile.

4. Impact des propriétés de surface des matières testées sur le transfert

Le Tableau 38 présente les propriétés de surface des matières testées et leur taux de transfert d'ADN bactérien total.

Tableau 38 : Tableau récapitulatif des propriétés de surface des matières testées et du taux de transfert d'ADN

Composant	Composition	Surface spécifique (m^2/m^2)	Energie de surface (mJ/m^2) à 20°C	Taux de transfert d'ADN
Composant 1	100 % PET	30,9	43	17 %
Composant 2	100 % PA 6,6	26,9	46	59 %
Composant 3	77 % PA 6,6 23 % EA	33,6 3,4	46 30	44 %
Composant 4	100 % coton	32,0	36	39 %

Le taux de transfert de l'ADN bactérien total varie de 17 % pour composant 1 (100 % PET) à 59 % pour le composant 2 (100 % PA 6,6). Les composants 3 et 4 présentent des valeurs intermédiaires (respectivement 44 et 39 %).

Le composant 2, présentant la surface spécifique la plus faible (26,9 m²), est le composant présentant le taux de transfert le plus important. La comparaison avec le composant 3 est d'ailleurs remarquable : le composant 3 est l'équivalent du composant 2 auquel aurait été ajouté de l'élasthanne. Avec une surface spécifique plus importante en PA 6,6 (33, 6 m² au lieu de 26,9) et 3,4 m² d'élasthanne disponible, le taux de transfert vers le composant 3 est plus faible que vers le composant 2, signifiant qu'une augmentation de la surface spécifique diminuerait le transfert microbien.

Les données présentées dans ce tableau montrent donc que le transfert bactérien n'est lié ni à la surface spécifique, ni à l'énergie de surface du matériau.
Toutefois, ces 2 composants ont des allures macroscopiques différentes : le composant 2 est ajouré, tandis que le composant 3 est plus lourd. La morphologie du textile pourrait donc avoir un rôle dans le transfert bactérien. Cependant, Mac Queen et al (2009) ont montré que pour une même matière, la morphologie du textile avait un impact très modéré sur la perception olfactive du textile. La partie suivante va donc être consacrée à l'étude de l'impact du transfert bactérien sur la perception des odeurs sur textile.

5. Impact du taux de transfert sur la perception olfactive

Les 4 composants présentés ici ont été caractérisés suivant leur comportement vis-à-vis des odeurs. Ils sont testés suivant le protocole de mesure des odeurs à échelle restreinte : l'intensité olfactive est mesurée après 24 heures de séchage à température ambiante par 3 juges parmi le personnel de l'entreprise Oxylane. Le Tableau 39 regroupe ces données olfactives et le taux de transfert d'ADN bactérien total.

Tableau 39 : Synthèse des taux de transfert et des notes olfactives attribuées aux composants testés dans cette étude.

Composant	Composition	Taux de transfert d'ADN	Note olfactive
Composant 1	100 % PET	17 %	10
Composant 2	100 % PA 6,6	59 %	8
Composant 3	77 % PA 6,6 23 % EA	44 %	1
Composant 4	100 % coton	39 %	0

La note 0 est attribuée à un composant n'émettant pas d'odeurs, la note 10 est attribuée à un composant émettant une odeur qualifiée d'insupportable par les juges

Cette étude fait apparaître l'antagonisme entre le PET (composant 1) et le coton (composant 4). Le PET reçoit la note maximale, ce qui signifie que l'odeur émise par ce composant est très intense. Le coton au contraire est noté à 0, il peut donc être considéré qu'il n'émet pas d'odeurs dans les conditions opératoires.
Les composants 2 et 3 ont des comportements plus mitigés. Le composant 2, 100 % Nylon, obtient une note de 8. Le composant 3 montre un comportement satisfaisant du point de vue des odeurs puisqu'il est situé à 1 sur l'échelle de la perception d'intensité.

Avec un taux de transfert de l'ADN bactérien total de 17 %, le PET est le composant présentant la note olfactive la plus forte, suivi par le composant 2 dont la note olfactive est de 8 avec un taux de transfert maximal de 59 %. Les composants 3 et 4 qui ont pourtant des notes olfactives très faibles présentent des taux de transfert d'ADN bactérien total intermédiaires.

Un lien entre l'intensité de chacune des bandes détectées et l'intensité de l'odeur perçue a également été recherché (Tableau 40).

Tableau 40 : Calcul du coefficient de corrélation entre l'intensité des bandes sur gel et l'intensité de l'odeur perçue

Bande n°	PET	PA66	PAEA	coton	coefficient de corrélation
2	39	689	387	677	-0,48
3	50	1065	815	921	-0,55
4	162	154	282	794	-0,77
5	97	1030	504	188	0,17
6'	0	301	219	233	-0,49
7	0	0	0	0	NS
8	0	0	288	0	-0,50
9	29	0	60	93	-0,86
10	55	0	0	0	NS
11	0	0	76	0	NS
12	0	0	0	0	NS
Notes olfactives	10	8	1	0	

Il n'y a pas de corrélation entre l'intensité d'une bande en particulier et l'intensité odorante mesurée par le panel restreint (voir annexe 12). L'hypothèse d'un transfert de souches particulièrement impliquées dans la formation d'odeurs vers les matières qualifiées de malodorantes n'est donc pas vérifiée.

Pour ces 4 matières testées, il n'y a donc pas de lien entre le taux de transfert bactérien et l'intensité de l'odeur perçue. Deux conclusions majeures peuvent donc être tirées de cette expérience :

- Les molécules responsables de la perception odorantes ne sont pas liées à la flore bactérienne transférée vers le textile. Pour autant, ces molécules sont néanmoins présentes, elles ont donc une autre origine : elles seraient produites en amont, dans un environnement plus propice au métabolisme bactérien, tel que le follicule pileux.

- Les caractéristiques de surface d'une matière n'expliquent pas les différences de ressenti entre un vêtement malodorant en PET et un vêtement peu odorant en coton. Il s'agit donc des propriétés intrinsèques du matériau constitutif de la fibre, et la problématique de rémanence des odeurs de transpiration n'est donc pas directement liée à l'activité métabolique de la flore bactérienne. Seuls les produits de cette activité importent. Par conséquent, l'approche la plus pertinente est de considérer le transfert de molécules malodorantes déjà produites, et d'appréhender le problème sous l'angle du transfert de matière chimique, régit par des lois de diffusion.

6. Conclusions

Ce chapitre avait pour objectif d'évaluer le transfert bactérien spécifique entre la peau et 4 matières différentes au cours de la pratique sportive à l'aide d'une méthodologie développée pour cette application particulière. Le second objectif était de comparer les résultats de cette étude avec des mesures olfactives effectuées sur ces textiles après porter, et si possible, d'expliquer les différences perçues par les propriétés de surface des matières testées. Ainsi, cette expérience fait apparaître plusieurs conclusions.

La contamination préférentielle du PET par la flore bactérienne comparativement au coton est réfutée par les expérimentations présentées ici. Ceci doit amener à considérer les préconisations à l'utilisation de matières naturelles dans la lutte contre les infections nosocomiales avec circonspection.

Le transfert bactérien de la peau vers le PET est faible. Par conséquent, la production de molécules volatiles malodorante *sur* PET est trop faible pour être à l'origine des composés malodorants perçus après usage. Ceci signifie que les lieux de production les plus probables des molécules responsables de l'odeur de transpiration sont la peau et les annexes cutanées.

Lorsqu'il y a transfert, celui-ci n'est pas spécifique. Il n'y a donc pas de bactérie spécifiquement transférée vers le vêtement qui justifierait de différences olfactives perçues entre matériaux. De plus, la surface spécifique et l'énergie de surface du composant n'influent pas de manière significative sur le transfert bactérien dans le cadre de la pratique sportive. Par conséquent, les différences de perception observées sont inhérentes aux propriétés intrinsèques de la matière.

Ces 2 derniers points mènent à la conclusion que la production de molécules volatiles aurait lieu en amont du vêtement, et que les différences de perception entre différents matériaux seraient dues à des mécanismes de rétention-relarguage des molécules odorantes, régis par les conditions d'utilisation. Par conséquent, dans le cadre de la problématique de ce travail, il semble plus pertinent d'étudier le transfert de molécules malodorantes déjà produites au niveau cutané. Ceci fera l'objet du dernier chapitre de ce manuscrit.

Ensuite, la deuxième conclusion à tirer de cette étude est que la méthode de TTGE qui a été mise au point a un seuil de détection inférieur à 5.10^3 UFC de corynébactéries par échantillon, soit 5.10^2 UFC/cm² de peau. Ceci la rend très intéressante pour pouvoir observer de faibles variations dans un écosystème suite à des changements environnementaux, mêmes minimes.

De plus, cette expérimentation ayant été réalisée sur un temps relativement long (3 mois) elle permet de tirer de plusieurs conclusions quant à l'analyse bactérienne de la zone axillaire. La ségrégation nette entre la flore commensale et la flore de passage ne semble pas appropriée à la caractérisation de l'aisselle. Certaines souches sont effectivement toujours présentes, et sont constitutives de la flore résidente, mais la flore dite « de passage » peut rester à la surface de la peau pendant au moins un mois. Ceci montre que les espèces contaminantes ont une certaine aptitude à coloniser la peau, et que leur disparition est due à une compétition ardue avec les espèces commensales. Cela illustre bien la complexité des interactions entre espèces constitutives d'un écosystème.

Enfin, les résultats de Kaziarz et Yamazaki (1998) et de Takashima et al (2004) ont montré que la contamination bactérienne serait favorisée par un support en PET plutôt que par un support en coton. Kaziarz et Yamazaki (1998) ont montré que le transfert bactérien après 10 minutes d'incubation pour des espèces bactériennes communément responsables d'infections (*E.coli, S.aureus, S.typhimunium, P.aeruginosa*) était environ 17 fois inférieur sur coton que sur une matière synthétique, le polyéthylène téréphtalate. Takashima et al (2004) ont montré qu'après 1 heure d'incubation dans une suspension bactérienne, pour le PET et les fibres acryliques, le transfert bactérien était supérieur à 90 % de la concentration présente dans la suspension mère pour *S.aureus*, et *P.aeruginosa*. Dans les mêmes conditions, elle était inférieure à 10 % de la concentration présente dans la suspension mère sur le coton, et variable pour le Nylon.
Dans des conditions plus proches de la réalité, les résultats présentés ici montrent au contraire un transfert relativement élevé (59 %) pour le Nylon (PA 6,6), modéré pour le coton (39 %) et relativement faible pour le PET (17 %).
Trois différences de protocole peuvent justifier les divergences de résultats :
- L'utilisation de souches pures contre une appréhension globale de l'écosystème
- Une charge bactérienne de l'ordre de 10^8-10^9 UFC/mL, contre environ 10^3-10^4 UFC/cm²

- Des temps de contact variable compris entre 10 et 1 heure, contre une heure de pratique sportive pour le travail présenté ici.

Ceci illustre la difficulté à tirer des conclusions générales quant à la contamination bactérienne des matériaux, car elle est fortement fonction des conditions opératoires.

7. Perspectives

L'ensemble des expériences nécessaires à l'obtention d'un signal traité étant d'environ 2 semaines, l'utilisation de la TTGE semble peu réaliste dans le cadre d'un suivi qualité par exemple, mais l'étude réalisée ici peut être envisagée pour caractériser d'autres lieux de prélèvements. Le principal intérêt de cette technique étant la comparaison entre échantillons, elle serait toute indiquée dans le cadre de la compréhension des infections nosocomiales, où la recherche spécifique d'espèces cibles masque très certainement des contaminants opportunistes. Ceci peut également s'appliquer au traitement des eaux.

Il serait toutefois intéressant d'utiliser des marqueurs dont la taille est constante, de l'ordre de celle du fragment cible, ici 200 paires de bases, mais dont la teneur en bases GC est connue. Ceci permettrait d'obtenir des indications plus fines quant aux espèces responsables des bandes présentes sur le gel, ou du moins aux genres auxquelles elles appartiennent.

De plus, il serait également intéressant d'extraire les bandes détectées sur le gel pour identifier les espèces présentes par séquençage. Toutefois, des essais ont été réalisés dans ce sens, et l'excision de bandes très proches, ainsi que la récupération d'un fragment faiblement concentré à partir d'une matrice de polyacrylamide sont des opérations particulièrement délicates.

Enfin, dans l'optique d'aller plus loin dans la compréhension de ces mécanismes, la collecte des ARN messagers, marqueurs d'activité métabolique et non uniquement de présence pourrait être intéressante, même si elle implique un travail encore plus minutieux.

Chapitre 5 :

Effet du textile sur les émanations odorantes

La sueur fraîchement émise est inodore, mais la dégradation de celle-ci par la flore commensale produit des composés volatils malodorants impliqués dans l'odeur caractéristique de la transpiration. Afin de comprendre les mécanismes d'émission des odeurs par différents textiles, un des objectifs majeurs de ce travail était de déterminer le rôle des bactéries dans la formation des odeurs de transpiration sur le textile, notamment en statuant sur la localisation de la production des composés volatils.

Les premiers résultats ont montré qu'il existe une corrélation entre l'odeur perçue et la quantité de bactéries présentes sur la peau ($r = 0,71$ pour le panel restreint). En revanche, étant donné le faible transfert de bactéries sur le textile testé (polyéthylène téréphtalate), aucun lien entre l'odeur perçue et la quantité de bactéries sur le vêtement n'a été démontré.

Ensuite, il a été montré que le transfert bactérien entre la peau et le textile était relativement faible (17 %) pour le polyéthylène téréphtalate, modéré (respectivement 39 et 44 %) pour le coton et le polyamide élasthanne et un peu plus important (59 %) pour le polyamide, mais étaient du même ordre de grandeur, alors que de fortes différences d'intensité de l'odeur perçue sur textile après l'effort ont été détectées. Ces différences olfactives n'évoluent pas proportionnellement au transfert bactérien.

Les conclusions des 2 chapitres précédents tendent donc à privilégier l'hypothèse selon laquelle la flore commensale est faiblement ou modérément transférée sur le textile, et que l'émission de molécules volatiles malodorantes par le textile est principalement fonction des molécules volatiles malodorantes produites sur la peau, transférées de la peau vers le vêtement et réémises ensuite par le textile.

Ainsi, les différences de ressenti olfactif entre les différents vêtements ne seraient pas liées à des transferts d'ordre microbiologique mais à des transferts d'ordre physico-chimique.

Pourtant, des différences importantes en terme de perception olfactive ont été observées dans le chapitre précédent entre les différents composants testés. La nature même du textile jouerait donc un rôle majeur dans la sorption sélective des molécules odorantes de la peau vers le textile, puis dans la désorption sélective du textile vers l'air ambiant. Le but de ce dernier chapitre est donc d'évaluer l'impact du textile sur la perception des émissions odorantes.

1. Démarche expérimentale

Pour caractériser et quantifier les molécules qui sont fixées sur le vêtement pendant la pratique sportive (phase de sorption), il faudrait parvenir à quantifier les émissions volatiles pendant l'effort, ce qui est techniquement difficile à mettre en œuvre. Par défaut, cette étude sera focalisée sur la phase de désorption après l'effort. Toutefois, les résultats du chapitre précédent ont montré la remarquable stabilité de la flore commensale chez un même sujet, et l'hypothèse selon laquelle la concentration en molécules odorantes de la sueur d'un même sujet est constante peut donc raisonnablement être posée.

Le but de cette étude est d'évaluer l'impact du facteur « composant » avec une première approche cinétique sur la désorption d'odeur à l'aide de mesures physico-chimiques et de mesures olfactives en fixant le paramètre « sujet ».

Les résultats seront tout d'abord abordés d'un point de vue quantitatif sur l'émission de composés volatils par les textiles pour pouvoir classer entre eux. Les 8 composants testés dont la composition est rappelée dans le tableau ci-après (Tableau 41). L'aspect qualitatif sera ensuite évalué en étudiant la nature des molécules détectées. Ceci permettra tout d'abord d'établir des indicateurs de mauvaises odeurs, et d'évaluer ensuite l'impact du matériau constitutif sur les émissions odorantes et leur perception.

Tableau 41 : Rappel de la composition des 8 composants testés

Composant	**Masse surfacique (g/m²)**	**Composition**	**Titre de fil (g/10000m)**	**Nombre de filaments**
Composant 1	125	42 % PET 40 % PET 18 % PET	78 83 33	68 36 24
Composant 2	92	100 % PA 6,6	44	34
Composant 3	150	77 % PA 6,6 23 % EA	44 44	34 4
Composant 4	145	100 %CO	200	120
Composant 5	130	45 % PET 55 % PA	83 90	72 68
Composant 6	155	85 % PET 15 % EA	83 44	72 2, 3 ou 4
Composant 7	265	37 % PET 44 % PA 22 % EA	167 78 44	Inconnu 68 2, 3 ou 4
Composant 8	130	78 % PET 22 % EA	50 44	72 2, 3 ou 4

2. Quantification des émissions odorantes

2.1. Principe

Les 8 échantillons textile sont portés par le sujet durant une heure de pratique sportive et congelés après différentes durées de séchage en étuve précisée ci-dessus. Etant donné le nombre d'échantillons à analyser, le nombre de molécules détectées et la nature quantitative des résultats obtenus, il a été décidé de traiter ces données par analyse en composante principale (ACP) qui est présentée en détail p. 90.

Le principe est de considérer un ensemble de nombreux indicateurs (ici, les 46 pics détectés) pour quantifier un phénomène connu et diminuer le nombre d'indicateurs tout en gardant une bonne représentativité des données.

En partant d'un espace à n dimensions, où n est le nombre de pics détectés sur l'ensemble des échantillons, les données relatives à un échantillon sont projetées pour parvenir à un espace à 2 dimensions en conservant le plus d'information possible sur les différences entre échantillons. Ainsi sont obtenues des cartes olfactives qui sont des représentations graphiques des distances statistiques entre les échantillons. Pour chacun des composants testés, des cartes olfactives sont réalisées à partir de l'ACP.

La Figure 38 présente la carte olfactive du composant 1 (100 % PET) pour illustrer le traitement des résultats. Les cartes olfactives des autres composants sont présentées en annexe 15.

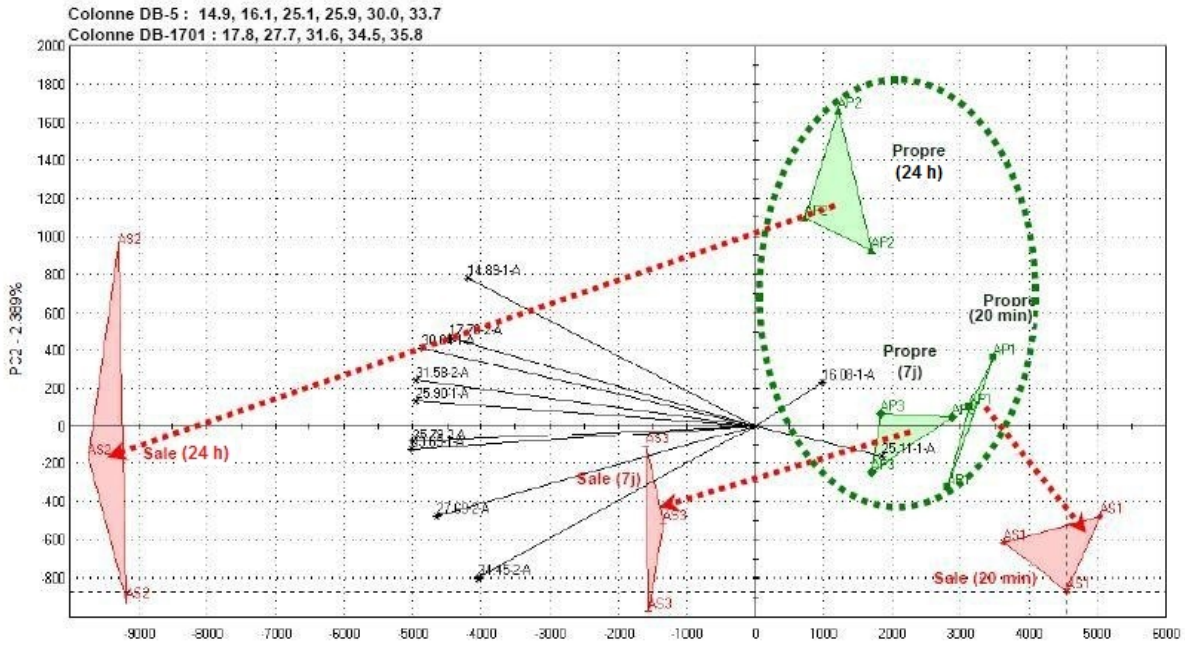


Figure 38 : Carte olfactive du composant 1 (100 % PET) obtenue par traitement en ACP des chromatogrammes réalisés

L'axe des abscisses est l'axe de la composante principale : il s'agit de la projection représentant la plus grande variabilité des données. L'axe des ordonnées est l'axe de la composante secondaire : il s'agit de la deuxième projection qui offre la représentation la plus éclatée des données.

La figure ci-dessus représente 6 occurrences : {propre, 20 min}, {usagé, 20 min}, {propre, 24 h}, {usagé, 24 h}, {propre, 7 j} et {usagé, 7 j}. Chaque point correspond à une analyse. Ainsi, le composant 1 usagé séché 20 minutes est représenté par 3 points : il s'agit des 3 répétitions effectuées sur le même échantillon. L'ensemble de ces 3 points forme un triangle. L'aire du triangle est donc la représentation de la variabilité intra-échantillon.

Les représentations des échantillons propres sont situées dans la zone en haut à droite du graphique. Le seul facteur de variation pour un même composant propre étant le temps de séchage dans l'étuve, leur dispersion est une représentation de la part liée au hasard et aux conditions opératoires dans les variations inter-échantillon observées.

Parmi les échantillons usagés, en rouge sur la carte olfactive, les représentations sont plus dispersées. Pour évaluer l'impact du facteur « temps », la distance statistique entre le barycentre de tous les échantillons propres et le barycentre des triangles des échantillons

usagés aux différents temps de séchage est calculée. L'évolution de ces distances statistiques pour le composant 1 est représentée sur le graphique de la Figure 39. Les points sont reliés entre eux de manière arbitraire.

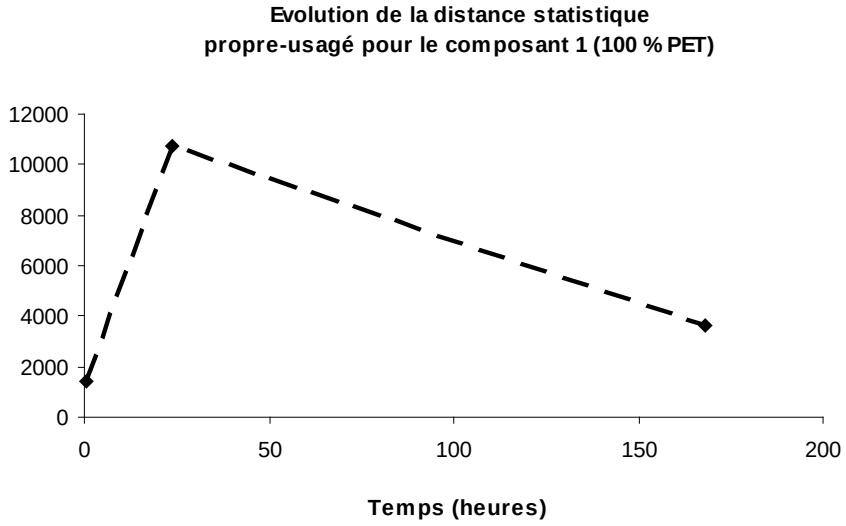


Figure 39 : Evolution des distances statistiques propre-usagé pour le composant 1 (100 % PET).

La différence la plus importante entre les émissions odorantes du composant propre et du composant usagé apparaît pour la mesure à 24 h (10750), puis à 7 jours (3600), puis à 20 min (1400) pour le composant 1. Le maximum mesuré étant à 24 h, cela signifie que l'émission de composés volatils à partir de ce composant pourrait présenter une allure de cloche sur les 7 jours de l'étude, et montre surtout que l'intensité des émanations volatiles varie au cours du temps.

2.2. Résultats

Les autres cartes olfactives sont interprétées de la même manière (voir annexe 15). Toutefois, comme l'illustre la Figure 40, de très fortes disparités apparaissent au sein même des échantillons propres.

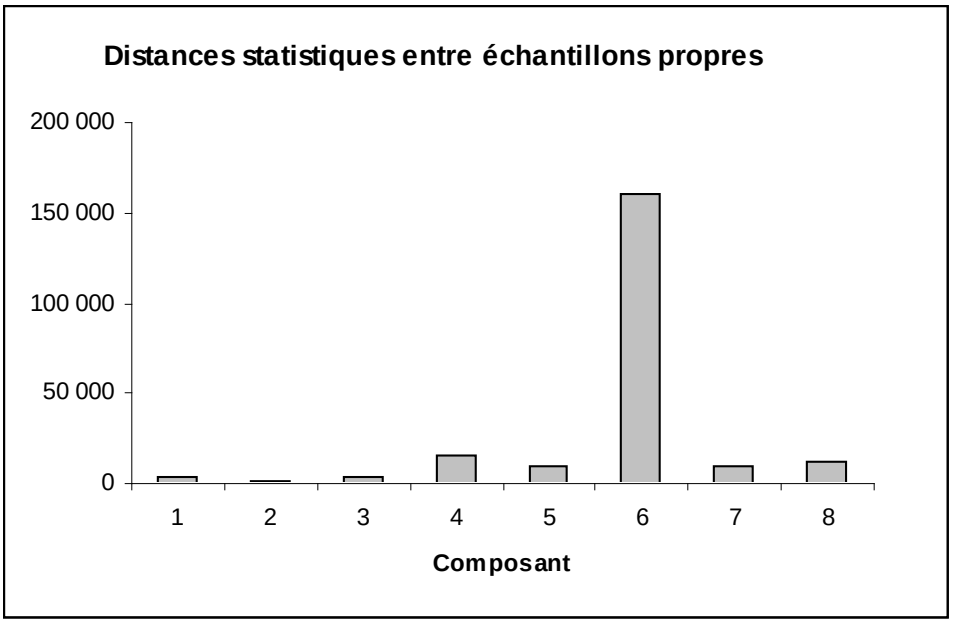


Figure 40 : Distances statistiques maximales observées entre les échantillons propres sur l'axe de la composante principale

Le composant 6 présente un variabilité très importante entre les échantillons propres par rapport aux autres composants, contrairement au composant 2 qui présente une variabilité très faible.

Les résultats bruts seront donc faussés par ces variations. Pour pouvoir comparer les résultats entre eux, il est donc nécessaire de normaliser les résultats obtenus. Ainsi, pour chacun des échantillons, la distance du barycentre de l'échantillon usagé à celui de la moyenne des barycentres des échantillons propres est calculée et rapportée à la distance entre les échantillons propres. Pour l'ensemble des échantillons, l'évolution de ces distances est présentée sur la Figure 41.

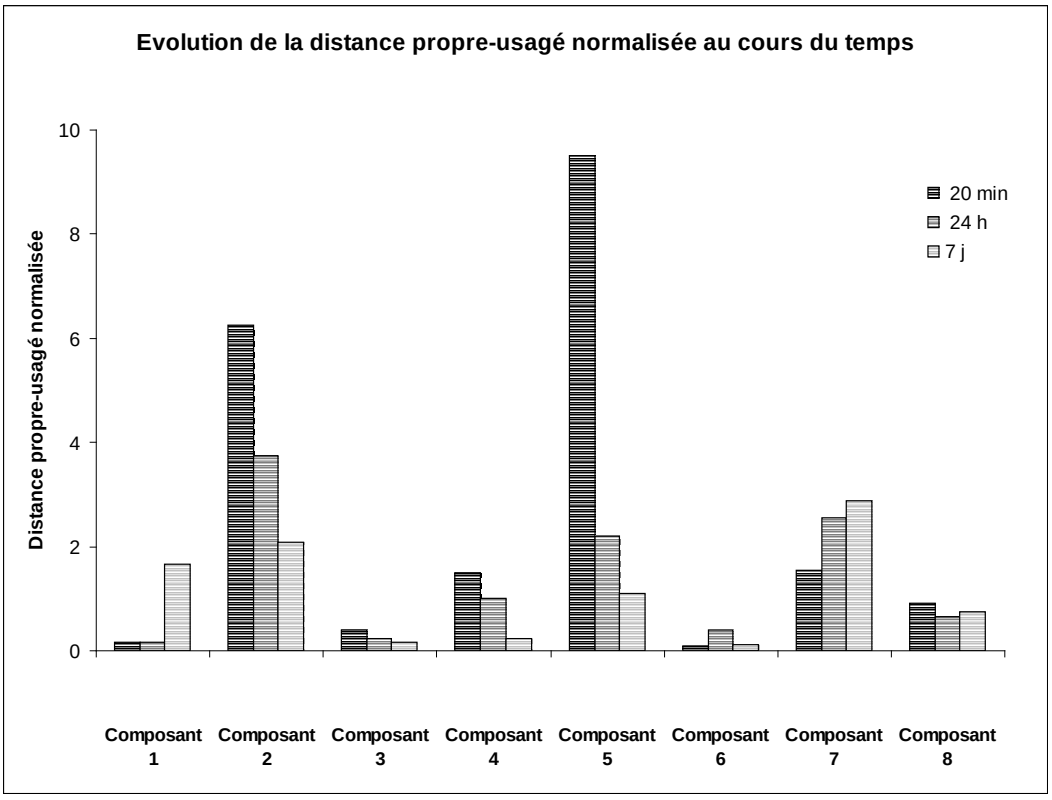


Figure 41 : Distances statistiques propre-usagé pour les 8 composants testés et traités par ACP. Ces distances ont été rapportées à la distance maximale observée entre les 3 échantillons propres de chaque composant.

Ce graphique fait apparaître de grandes différences entre les échantillons, tant au niveau des valeurs observées que de l'aspect cinétique de la mesure.

D'un point de vue quantitatif tout d'abord, les émissions volatiles sont les plus importantes sur le composant 5 après 20 minutes de séchage, puis sur le composant 2 après 20 minutes de séchage. Les composants 3 et 6 émettent peu de molécules volatiles quel que soit le temps de séchage auquel la mesure est effectuée. Les autres composés présentent des valeurs intermédiaires. Les vitesses de désorption calculées à partir de ces résultats sont présentées dans le Tableau 42.

Tableau 42 : Vitesses de désorption des molécules volatiles calculées à partir des distances statistiques normalisées, exprimées en unités arbitraires /jour

	Composant							
Temps	Comp 1	Comp 2	Comp 3	Comp 4	Comp 5	Comp 6	Comp 7	Comp 8
A 1 j	0,0	-2,5	-0,2	-0,5	-7,4	0,3	1,0	-0,3
A 7 j	0,3	-0,3	0,0	-0,1	-0,2	0,0	0,1	0,0

Les vitesses de désorption étant positives lorsque l'émission de molécules volatiles augmente au cours du temps, les composants 1, 6 et 7 présentent ce type de comportement, tandis que l'intensité de l'émission de composés volatiles diminue au cours du temps pour les composants 2, 3, 4, 5 et 8. Le phénomène de désorption des molécules volatiles n'est donc pas constant suivant la nature du composant.

Cette étude quantitative montre que l'intensité des émanations volatiles est variable au cours du temps, et surtout, selon des cinétiques différentes suivant le composant testé. Ces résultats étant surprenants, l'adéquation de ces données avec les mesures olfactives doit à présent être discutée.

2.3. Comparaison avec les mesures olfactives

Les échantillons testés dans le paragraphe précédent ont également été notés par le panel restreint. La Figure 42 présente l'évaluation des émissions odorantes des 8 composants.

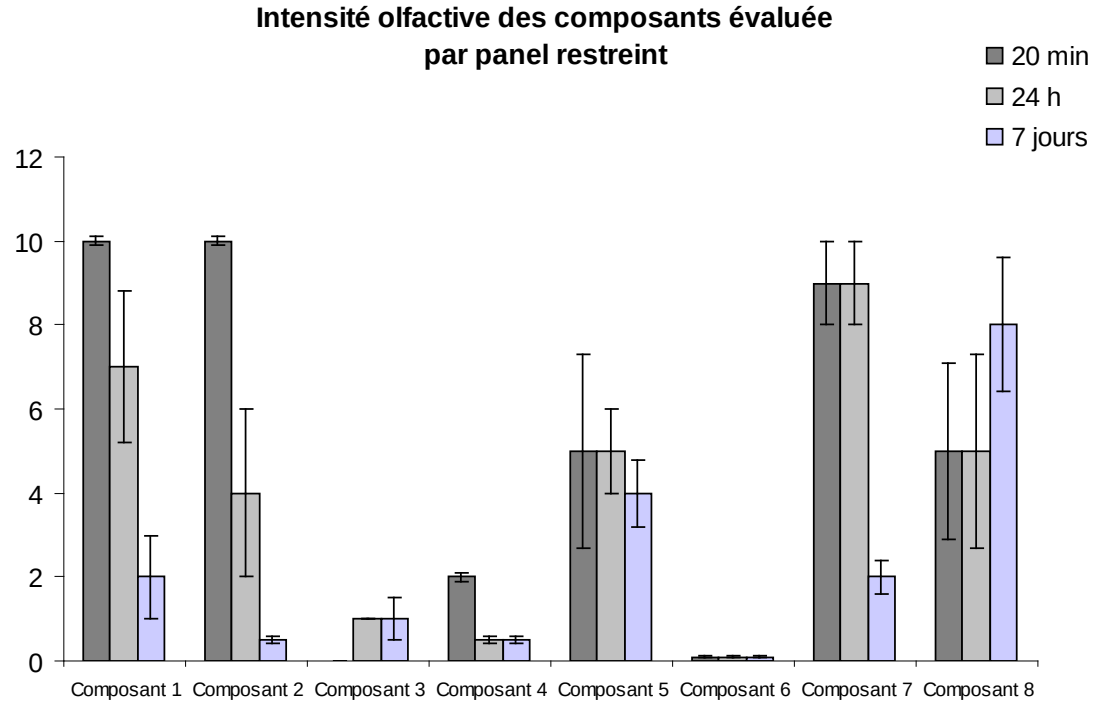


Figure 42 : Intensité olfactive au cours du temps évaluée par le panel restreint pour les 8 composants testés

Les vitesses d'émission d'odeurs sont calculées et présentées dans le Tableau 43.

Tableau 43 : Vitesses d'émission des composés odorants en unités arbitraires/j

	Composant							
Temps	Comp 1	Comp 2	Comp 3	Comp 4	Comp 5	Comp 6	Comp 7	Comp 8
A 1 j	-3,04	-6,08	0,91	-1,52	0,00	0,00	0,00	0,00
A 7 j	-0,83	-0,58	0,00	0,00	-0,17	0,00	-1,17	0,50

De nettes différences en terme d'intensité olfactive, mais également en terme de vitesse d'émissions de composés odorants apparaissent. Globalement, du point de vue de leur comportement vis-à-vis des odeurs, la méthodologie du panel restreint permet de former 3 groupes parmi les 8 composants à partir des notes obtenues à 24 heures.

- Les « positifs »: il s'agit des composants d'où émane une odeur d'intensité faible, et qui obtiennent une note de 0 à 3 après 24 heures de séchage. Ce sont les composants n° 3, n° 4 et n° 6.
- Les « négatifs » : il s'agit des composants d'où émane une odeur d'intensité forte, et qui obtiennent une note de 7 à 10 après 24 heures de séchage. Ce sont les composants n° 7 et n° 1.
- Les « intermédiaires » : il s'agit des composants d'où émane une odeur d'intensité intermédiaire, et qui obtiennent une note comprise entre 4 et 6 inclus après 24 heures de séchage après 24 heures de séchage. Ce sont les composants n° 2, n° 5 et n° 8.

Les séries de données provenant de l'ACP et de la mesure par panel retreint sont comparées, mais il n'existe pas de corrélation entre elles.
Le cas du composant 7 l'illustre parfaitement : l'intensité des émissions mesurées par nez électronique et traitées par ACP présente une allure croissante au cours du temps, tandis que les mesures effectuées par le panel présentent une allure décroissante.
Ces données ne sont pas conformes aux résultats attendus, mais l'ACP étant basée sur la présence de composés volatils, sans tenir compte de leur pouvoir odorant ou de leur seuil de perception, il est possible qu'une quantité relativement importante de molécules non ou peu odorantes soit présente dans les échantillons, et qu'elle fausse la mesure des différences.
Ceci démontre que malgré la puissance de l'analyse, l'étude statistique présentée ci-dessus n'est pas adéquate pour interpréter le phénomène d'émission des composés odorants. Afin de compléter l'analyse, les chromatogrammes sont donc interprétés séparément.

3. Etude qualitative de la désorption sur différents textiles

3.1. Exemple d'analyse sur 2 composants

Les figures présentées ici sont des chromatogrammes des textiles propres et usagés après 20 minutes de séchage. Les pics significativement différents entre les 2 échantillons sont signalés par un astérisque. Le premier pic n'est pas traité puisqu'il s'agit du pic d'injection.

La Figure 43 présente les chromatogrammes obtenus pour le composant 1 (100 % PET) à 20 minutes de séchage sur les colonnes 1 et 2.

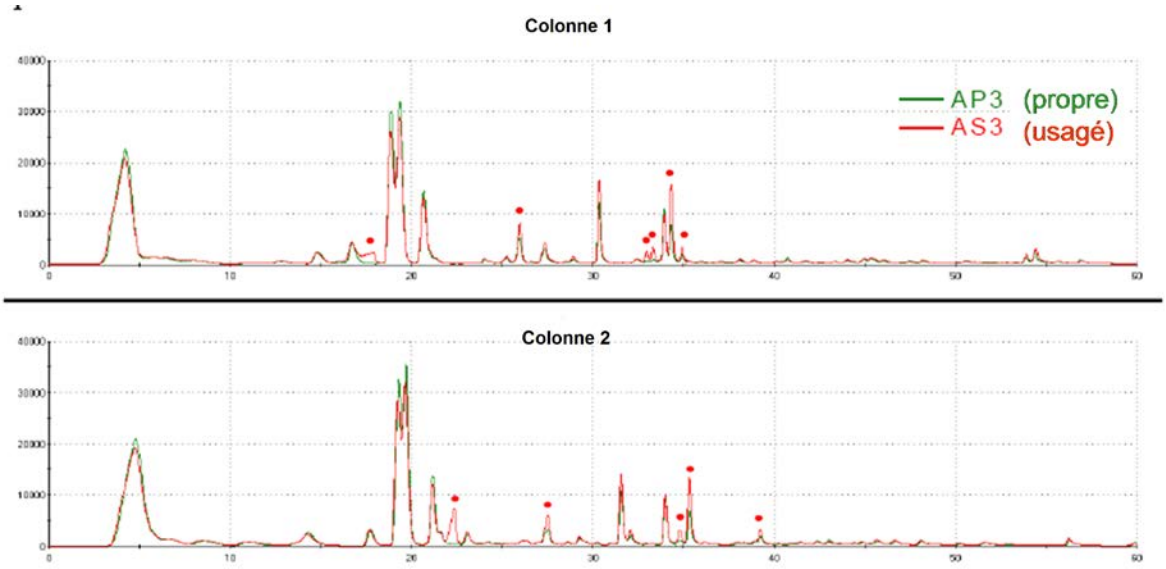


Figure 43 : Chromatogrammes obtenus pour le composant 1 (100 % PET) sur les 2 colonnes chromatographiques (1, apolaire, et 2, légèrement polaire).
Le signal du composant propre est tracé en vert, le signal du composant 1 usagé, séché 20 minutes, est tracé en rouge.

L'observation de ces chromatogrammes montre tout d'abord la présence de plusieurs pics, même sur l'échantillon propre (en vert sur les chromatogrammes). Cela signifie que les composants textiles utilisés contiennent des molécules potentiellement volatilisables à la température de conditionnement (60 °C) qui peuvent provenir de la fabrication ou des conditions initiales de stockage. Ces pics détectés peuvent être considérés comme l'empreinte olfactive initiale du textile. Cependant, l'objectif est de déterminer les différences entre les échantillons propres et usagés pouvant expliquer les phénomènes odorants, le chromatogramme du composant propre est donc soustrait au chromatogramme du composant usagé pour les 2 colonnes.

Les chromatogrammes du composant usagé montrent la présence de 6 pics significativement différents entre l'échantillon propre et l'échantillon usagé sur la colonne 1, et de 5 pics

significativement différents entre l'échantillon propre et l'échantillon usagé sur la colonne 2. Le Tableau 44 propose une identification des 11 composés détectés sur le composant 1 à l'aide de leur indice de Kovatz (voir p.88).

Tableau 44 : Composés chimiques détectés sur le composant 1 identifiés par leurs indices de Kovatz

Tr 1	Tr 2	Ik 1	Ik 2	Identification
17,5	22,2	840	969	Butyrate
21	22,9	896	986	Heptanal
27,6	35,9	1037	1245	Gaïacol
25,9	27,5	995	1088	Octanal
28,8	30,3	1062	1156	2-octènal
30,2	31,5	1097	1193	Nonanal
32,8	33,9	1163	1259	2-nonenal
34,4	35,3	1199	1296	Décanal
36,9	37,8	1273	1372	2-décènal
38,1	38,8	1301	1400	Undécanal
41,6	42,4	1399	1501	Dodécanal

La détection de 11 composés chimiques après usage montre une certaine affinité du textile pour les molécules odorantes présentes dans la sueur. Dans le groupe des 11 composés détectés, le butyrate et le gaïacol constituent les 2 exceptions notables puisque parmi eux, 9 sont des aldéhydes. La prévalence de ces derniers est un phénomène intéressant sur ce composant, mais ce premier échantillon n'est pas forcément représentatif des molécules détectées sur l'ensemble des composants testés.

A titre de comparaison, la Figure 44 présente les chromatogrammes obtenus pour le composant 2 (100 % PA) à 20 minutes de séchage sur les 2 colonnes.

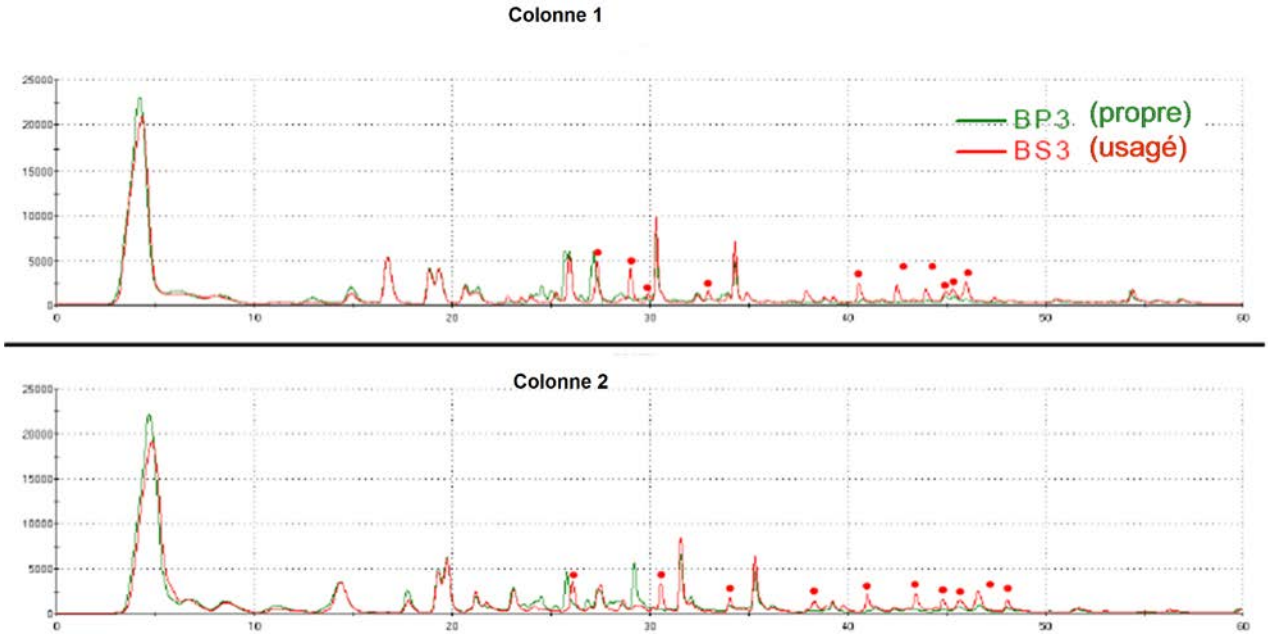


Figure 44 : Chromatogrammes obtenus pour le composant 2 (100 % PA) sur les 2 colonnes chromatographiques
Le signal du composant propre est tracé en vert, le signal du composant 1 usagé, séché 20 minutes, est tracé en rouge.

Tout d'abord, l'allure du chromatogramme du composant 2 propre est différente de celle du chromatogramme du composant 1.

Ceci montre que même propres, les composants ne présentent pas la même charge initiale en composés volatils relarguables, malgré un conditionnement similaire, et illustre la spécificité de la capacité de rétention de composés pour un composant donné ainsi que la spécificité de l'empreinte olfactive initiale d'un composant.

Les chromatogrammes du composant 2 séché 20 minutes montrent la présence de 10 pics significativement différents entre l'échantillon propre et l'échantillon usagé sur la colonne 1, et de 10 pics significativement différents entre l'échantillon propre et l'échantillon usagé sur la colonne 2. Toutefois, les 2 colonnes présentent des polarités différentes, modifiant le temps de rétention de certains composés, donc ces mesures réalisées sur les 2 colonnes en parallèle peuvent être redondantes comme c'est le cas ici. Le Tableau 45 propose une identification des 13 composés détectés sur le composant 2 à l'aide de leur indice de Kovatz après recoupement et élimination des doublons.

Tableau 45 : Composés chimiques détectés sur le composant 2 identifiés par leurs indices de Kovatz

Tr 1	Tr 2	Ik 1	Ik 2	Identification
22,8	26,1	928	1051	Hexadiènal
27,4	30,5	1024	1163	Heptadiènal
28,8	30,3	1062	1156	2-octènal
20,7	21,2	887	946	Acétate d'isopentyle
34,4	35,3	1199	1296	Décanal
39,3	39,7	1331	1421	Oxodécanal
34,0	34	1190	1261	Octanoate d'éthyle
38,1	38,8	1301	1400	Undécanal
41,6	42,4	1399	1501	Dodécanal
43,9	44,8	1464	1577	2-dodécènal
40,5	40,9	1367	1458	Méthyldodécanal
45,3	45,7	1512	1607	Tridécanal
44,9	45,6	1495	1602	Méthyltridécanal

Parmi les 13 composés détectés sur le composant 2, 11 sont des aldéhydes et 2 sont des esters. Leur diversité est un phénomène remarquable, et comme sur le composant 1, les aldéhydes sont majoritaires sur le composant 2.

En outre, parmi les 13 composés détectés, seuls 3, le 2-octènal, le undécanal et le dodécanal, sont présents sur les 2 composants usagés. Ceci confirme le fait qu'il existe une affinité spécifique des composants textiles pour certaines molécules plutôt que d'autres, il serait donc possible que ce phénomène justifie les différences observées entre les différents composants.

Les autres chromatogrammes des autres composés sont analysés sur le même principe (voir annexe 13), et les molécules détectées sur les 8 matières testées sont présentées dans le paragraphe suivant.

3.2. Ensemble des composés chimiques détectés sur textile usagé

Sur le même principe que dans l'exemple, les molécules présentes sur les textiles usagés sont identifiées. Le Tableau 46 répertorie les molécules détectées sur l'ensemble des échantillons usagés (pour plus de détails, voir annexe 14).

Tableau 46 : Molécules identifiées d'après leur indice de Kovatz sur les textiles portés

	Composant							
	1	2	3	4	5	6	7	8
	100% PET	100%PA 6,6	77%PA 6,6 23 % EA	100% Coton	55%PET 45 % PA	35%PET 15 % EA	44%PA 27%PET 22 % EA	78 % PET 22% EA
Molécules détectées								
Sulfure de diméthyle						X		X
Triméthylamine						X		
Butyrate	X							
Butanol					X		X	
2-méthylpropanol					X			
1,2-butanediol						X		
3-méthylbutanol							X	
3-méthylbutanal								X
Hexanal					X			
Hexadiènal		X						
Heptanal	X				X			
Heptadiènal		X						
Butyrate de propyle					X	X		
Guaïacol	X							
Octanal	X			X	X			
2-octènal	X	X						
Acétate d'isopentyle		X						
Nonanal	X				X	X	X	X
2-nonenal	X				X			
Décanal	X	X			X	X		X
2-décènal	X				X	X	X	X
Oxodécanal		X						
Octanoate d'éthyle		X				X		
Limonène						X		
Undécanal	X	X			X			
Dodécanal	X	X						
2-dodécènal		X						
Méthyldodécanal		X						
Tridécanal		X	X			X		
Méthyltridécanal		X	X					
Aldéhyde inconnu		X (3)		X (2)	X(1)	X (1)		
Autres inconnus		X (4)			X(1)	X (3)	(X) 6	X (3)

Dans cette expérience, parmi les 16 composés inconnus détectés (après élimination des doublons), 7 ont été identifiés comme des aldéhydes, sans pouvoir déterminer formellement leur formule chimique.
Sur l'ensemble des molécules détectées, 30 ont été identifiées et leur masse molaire varie entre 62 et 212 g/mol. Il apparaît que les 30 molécules odorantes identifiées dans cette étude ont des longueurs de chaînes carbonées inférieures ou égales à 14, dont 8 présentent au moins une insaturation. La présence de 2 composés cycliques est observée. Sur ces 30 composés odorants identifiés, 1 présente une fonction sulfure, 1 présente une fonction amine, 1 présente une fonction acide carboxylique, 4 présentent une fonction alcool, 19 présentent une fonction aldéhyde, 3 présentent une fonction ester et 1 présente une fonction méthoxyle. La prévalence des aldéhydes sur l'ensemble des 8 échantillons testés est donc remarquable. Elle conforte l'idée selon laquelle les molécules odorantes émises lors de la pratique sportive sont le produit de l'activité catabolique lipidique des bactéries de la flore commensale.

La comparaison des molécules qui ont été désorbées à partir des 8 différents textiles à 20 minutes de séchage est instructive. Certains présentent une forte diversité dans la nature des molécules désorbées (composant 2) et d'autres, nettement moindre (composant 4).
La première explication possible serait l'existence d'un effet du textile sur la nature des émissions odorantes. Toutefois, les résultats du chapitre 3 ont montré qu'en une heure de pratique sportive, la production de molécules odorantes est faible, et que la sudation intense causée par un effort physique devait avoir pour conséquence d'expulser l'ensemble de ces molécules odorantes déjà produites dans les glandes sudoripares. Le seul effet possible du textile serait l'augmentation intense de la température à la proximité des glandes sudoripares pouvant causer une sudation plus importante. Cependant, les vêtements portés durant l'étude présentaient une coupe suffisamment ample pour permettre la circulation de l'air et il est légitime d'admettre l'hypothèse d'une température équivalente au niveau du textile dans le creux axillaire au cours des différentes expérimentations.

La deuxième explication possible aux différences observées entre les composants serait que les textiles mis en contact avec un bouquet olfactif similaire ne relarguent pas tous les mêmes composés odorants. Il existerait donc une affinité spécifique de certains textiles pour certaines molécules du bouquet odorant, et certains textiles seraient plus chargés que d'autres en

molécules odorantes après usage ; le « potentiel odorant » initial après la pratique sportive serait donc variable d'un textile à l'autre.

Cependant, ces molécules détectées ne contribuent sans doute pas dans les mêmes proportions à l'odeur émise par un textile, notamment du fait de leurs différents seuils de détection, mais aussi à cause de possibles interactions entre les molécules odorantes.

3.3. Comparaison avec les mesures olfactives

La corrélation entre les distances propre-usagé mesurées par le nez électronique et les mesures olfactives réalisées par le panel restreint ont été calculées pour chaque composant et pour l'ensemble des échantillons, mais comme pour l'ACP, aucune n'a fourni de valeur significative.

3.4. Choix d'indicateurs de mauvaises odeurs

Mettre en place un panel de testeurs, même réduit, reste un dispositif lourd à mettre en œuvre, et l'utilisation d'un dispositif analytique permettrait un traitement beaucoup plus rapide et beaucoup plus standardisé des textiles testés. Il n'y a pas de relation simple entre la quantité de composés volatils émis mesurée par nez électronique et les mesures olfactives établies par le panel restreint. Cependant, il est possible de rechercher des indicateurs spécifiques aux composants jugés « négatifs » par le panel.

L'idéal serait de déterminer des indicateurs de textiles au comportement positif pour ne sélectionner que les composants intéressants, mais par principe, un textile faiblement odorant n'émet pas ou peu de composés odorants, ce qui rend la détection difficile. Il est donc plus aisé de définir un bon composant par l'absence de certaines molécules marqueurs que par la présence d'indicateurs positifs.

En classant les composants suivant les 3 catégories précédemment citées (positifs : note olfactive de 0 à 3, intermédiaires : 4 à 6, et négatifs : 7 à 10) et à partir du tableau d'identification des molécules présentes sur les échantillons (Tableau 46), les molécules présentes dans le groupe des « intermédiaires » et des « négatifs » mais absentes du groupe des « positifs » peuvent être identifiées. Elles sont alors classées dans la catégorie

« indicateurs critiques ». De mêmes, les molécules uniquement présentes dans le groupe des composants « négatifs » sont classées dans le groupe des « indicateurs très critiques ». Le Tableau 47 en dresse la liste.

Tableau 47 : Molécules indicatrices de mauvaise odeur sur textile d'après les résultats croisés du nez électronique Héraclès et les résultats du panel

Indicateurs moléculaires critiques	**Indicateurs moléculaires très critiques**
Butanol	Butyrate
Heptanal	3-méthylbutanol
2-octènal	Gaïacol
2-nonenal	
Undécanal	
Dodécanal	

Ainsi, la présence des 6 molécules indicatrices critiques (colonne de gauche) sur un textile porté doit amener à le considérer comme un composant suspect, et la présence des 3 indicateurs très critiques (colonne de droite) sur un textile porté lors d'un test préliminaire permet de l'éliminer de la liste des textiles potentiellement utilisables dans la confection de vêtement de sport. Ces molécules ne sont toutefois pas nécessairement les molécules responsables des mauvaises odeurs mais ce sont des molécules à rechercher spécifiquement sur des textiles portés pour évincer ceux ayant un comportement intermédiaire voire négatif, jouant un rôle d'indicateurs.
Il est également intéressant de noter que malgré la prévalence des aldéhydes sur l'ensemble des échantillons, ils ne sont pas présents dans la catégorie des indicateurs très critiques.

L'étude présentée ici a donc permis de déterminer, grâce à un échantillonnage large parmi des composants textiles ayant des comportements extrêmes vis-à-vis des odeurs, de sélectionner des indicateurs moléculaires spécifiques pour repérer des textiles ayant un comportement jugé suspect voire rédhibitoire. Cela constitue une avancée forte en termes de fiabilité des résultats et devrait permettre un gain de temps dans la sélection de composants textiles à vocation sportive.

Il serait intéressant à présent de chercher à établir des corrélations entre le comportement des textiles et leur constitution, à savoir la nature de leurs fils. En effet, les échantillons sélectionnés sont constitués de PET, de PA, d'EA et de coton dans des proportions variables, ce qui, à la vue des éléments bibliographiques, devrait permettre de justifier les différences

mesurées. L'effet « construction de la maille » n'a pas été pris en compte, puisque Mac Queen et al (2008) ont montré l'existence d'un effet « matériau » lors d'une étude sur le coton, le PET et la laine, qui était 25 fois supérieur à l'effet « construction de la maille ».

3.5. Rôle du composant dans la perception des odeurs

L'impact du matériau constitutif du fil semble être un élément prépondérant dans les phénomènes d'émission des odeurs, et la diversité des échantillons testés pourrait permettre d'étudier le phénomène. Cette dernière partie a donc pour but de comprendre l'impact du choix du/des fils constitutifs du textile dans l'intensité des odeurs perçue par l'usager. Pour cela, l'influence de la matière constitutive des fils sera tout d'abord évaluée pour les composants constitués d'une seule matière. Les mélanges de fils seront ensuite abordés.

3.5.1. Etude des composants mono-matière

La Figure 45 présente les notes données par le panel restreint aux composants constitués d'une seule matière. Il s'agit des composants n° 1, 2 et 4 constitués respectivement à 100 % de PET, PA et coton.

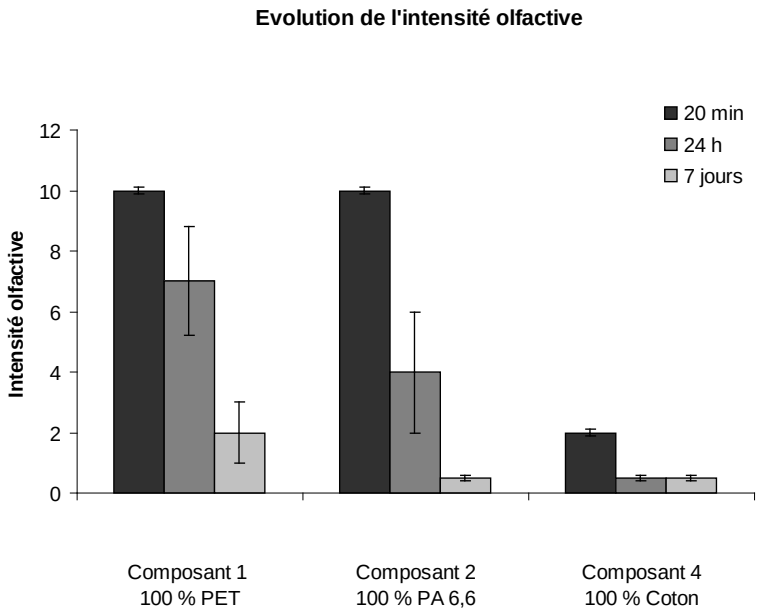


Figure 45 : Evolution de l'intensité de l'odeur perçue par le panel restreint au cours du temps pour les 3 composants constitués d'un seul matériau Le PET (composant 1), le PA 6,6 (composant 2) et le coton (Composant 4)

Il apparaît assez nettement que du point de vue de l'émanation des odeurs, le coton est de loin le composant le meilleur, puis le PA, suivi de près par le PET, même si les valeurs à t = 20 min sont les mêmes pour le PET et le PA.

Pour le PET (composant 1) l'odeur perçue diminue de manière nette au cours du temps, et plus nettement encore pour le PA (composant 2). Pour le composant 4 (100 % coton), la diminution est moins marquée, mais l'intensité olfactive de départ est plus faible.

Toutefois, si la nature du fil constitutif a un impact sur la vitesse de désorption, il convient de s'interroger sur l'impact d'un mélange de fils de différentes matières sur cette vitesse de désorption.

3.5.2. Etude des composants bi-matière

Le composant 5 est un composant bi-matériau constitué à 45 % de PET et 55 % de PA. L'allure attendue de l'intensité olfactive du composant 5 au cours du temps devrait être similaire à celle des composants 1 et 2. Celle-ci est présentée sur la Figure 46 (au milieu) et comparée à celle de composants constitués d'un seul matériau (composants 1 et 2).

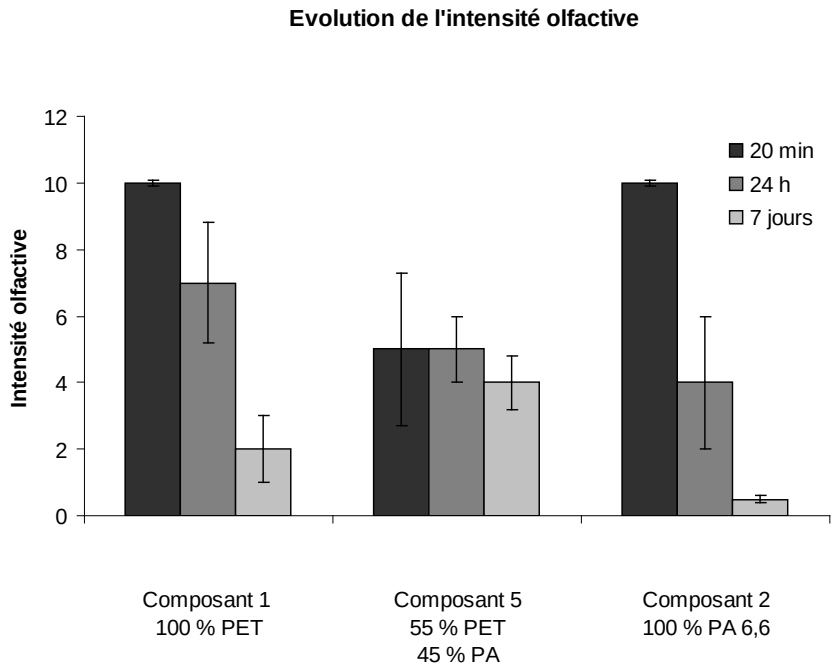


Figure 46 : Evolution de l'intensité de l'odeur perçue par le panel restreint au cours du temps sur PET (composant 1), PA 6,6 (composant 2) et mélange PA6,6 /PET (composant 5)

A t = 20 min, la note obtenue par le composant 100 % PET (composant 1) et par le composant 100 % PA (composant 2) est de 10, l'intensité de l'odeur émise est maximale. Au même moment, le composant 5 constitué de PET et de PA 6,6 obtient la note de 5. L'odeur décroît toutefois nettement plus rapidement sur PET et sur PA 6,6 que sur le composant mixte.

Le mélange de fils semble donc avoir un effet très positif au début de l'expérience, puisque le composant mixte émet une odeur plus faible de moitié au début du processus de séchage.
Par la suite cependant, le PA et le PET perdent progressivement leur intensité olfactive en obtenant respectivement les notes de 1 et 2 après 7 jours de séchage, alors qu'après le même temps de séchage, le composant 5 obtient la note de 4, ce qui signifie qu'il n'a quasiment pas perdu son potentiel odorant.

Cette première comparaison laisse supposer un « effet réservoir » : les molécules odorantes seraient mieux retenues au départ au sein du textile en bi-matériau, puis seraient évaporées plus lentement. Ce phénomène est étonnant, puisque cela signifierait que le mélange de 2 composants « négatifs » produit un composant « intermédiaire ». L'étude des autres mélanges de matière est donc nécessaire.

3.5.3. Etude de l'effet élasthanne

La Figure 47 présente les notes données par le panel restreint aux composants contenant de l'élasthanne.

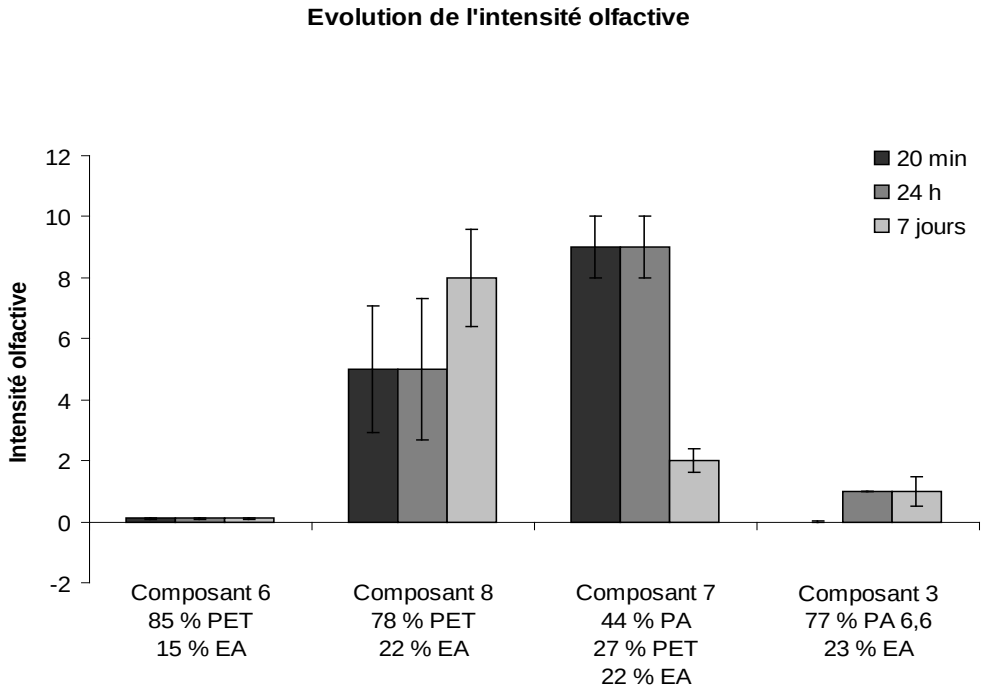


Figure 47 : Evolution de l'intensité de l'odeur perçue par le panel restreint pour les composants contenant de l'élasthanne.

L'impact du mélange de fils est beaucoup moins évident sur ce graphique.

Les composants 3 et 6, respectivement constitués de 77 % PA 6,6/ 23 % EA et de 85 % PET/ 15 % EA apparaissent comme faiblement odorants (positifs). Les composants 7 et 8 (44 % PA, 27 % PET /22 % EA) et (78 % PET / 22 % EA) sont classés parmi les composants intermédiaires.

A partir de la masse surfacique (en g/m²) et la teneur en matériau (en %) de chacun des textiles, la masse de chaque matériau présente au niveau de la zone axillaire du T-shirt a été calculée, mais le lien entre la quantité de matière du textile, quelle qu'elle soit, le diamètre du fil et l'intensité de l'odeur perçue n'apparaît pas, quel que soit le temps de séchage.

Par conséquent, s'il existe bien un effet réservoir des molécules odorantes, il peut être lié à la nature du matériau constitutif, mais en interaction avec d'autres paramètres liés à l'architecture tridimensionnelle, comme l'épaisseur, la rétention d'eau ou la perméabilité à l'air qui ont un effet direct sur la vitesse d'évaporation.

Ces résultats montrent que le textile joue un rôle prépondérant mais complexe dans la perception des molécules odorantes.

4. Conclusions

Ce chapitre avait pour objectifs d'étudier l'effet du composant sur les émissions de molécules volatiles, et d'évaluer l'influence de la matière constitutive du fil sur l'intensité de ces émissions.

En comparant les résultats obtenus pour un même sujet et une même pratique sportive, juste après l'effort (20 min), il apparaît que les molécules retenues par les composants sont différentes en qualité et en quantité. Il existe donc bien une affinité spécifique des matériaux pour les molécules volatiles de la sueur.

L'identification des molécules relarguées après usage sur les différents textiles de l'échantillon a permis de former 3 sous-groupes distincts pour les 8 textiles testés en les classant suivant leurs émissions odorantes. Ainsi, 6 indicateurs critiques d'un composant émanant de mauvaises odeurs ont pu être identifiés :

- le butanol
- l'heptanal
- le 2-octènal
- le 2-nonenal
- le undécanal
- le dodécanal

Ainsi que 3 indicateurs très critiques :

- le butyrate
- le 3-méthylbutanol
- le gaïacol

Ceci constitue une avancée importante dans la mise au point d'une méthode analytique.
Ceci ne signifie pas que ces molécules sont responsables de mauvaises odeurs sur les textiles, mais que leur présence est concomitante à l'apparition des mauvaises odeurs sur le textile. La prépondérance des aldéhydes conforte l'idée selon laquelle les composés odorants proviennent des voies de dégradation lipidiques de la flore bactérienne.

Mac Queen et al (2008) avaient mis en évidence la présence d'acides gras volatils sur des composants usagés, constitués de PET, coton et laine. Ceci peut être considéré comme un complément à ces travaux dans la mesure où les composants testés ici sont synthétiques, à l'exception du composant 4, 100 % coton.

Au niveau de l'impact du matériau constitutif des fils sur l'intensité de l'odeur perçue, conformément aux résultats de Mac Queen et al (2007), il a été montré que le PET était plus odorant que le coton. Le travail présenté ici a également permis de montrer que le PA avait un comportement proche du PET, mais moins odorant. Enfin, l'impact du temps de séchage a également été évalué et il a été montré qu'après une semaine, les composants constitués d'une seule matière avaient perdu en grande partie leur pouvoir odorant.

Cette étude a également pris en compte des mélanges de fils PA6,6/PET, PA6,6/EA, PET/EA et PET/PA6,6/EA et montré que l'intensité de l'odeur perçue n'était pas directement corrélée à la nature de la fibre, signifiant ainsi que les facteurs étudiés n'étaient pas suffisants pour expliquer convenablement le phénomène d'émanation des odeurs.

Devant la complexité des résultats présentés ici, il apparaît que les phénomènes évaporatoires au sein d'un textile sont complexes, et nécessitent sans doute une étude dédiée. Mac Queen et al (2008) ont étudié ce facteur et ont montré qu'il avait un impact très faiblement significatif sur la perception olfactive (risque 0,1 %), mais cette étude a été réalisée sur des composants constitués d'une seule matière, et sur 3 architectures : le Jersey, l'interlock, et le 1x1 rib. Ceci mériterait de plus amples études tenant compte de l'architecture tridimensionnelle du composant, voire en appliquant les schémas d'étude des systèmes macroporeux.

Enfin, dans le cadre de la mise en place d'une mesure pour pouvoir classer les composants suivant l'intensité de leur émission, 2 méthodes ont été testées: mesures par nez électronique et mesures par panel olfactométrique restreint. Au regard de la complexité des résultats obtenus par nez électronique, ceux-ci ont été traités par analyse en composante principale. Les résultats de ces 2 méthodes ne sont pas corrélés, pour au moins 2 raisons :

- La distance statistique entre les textiles propres et usagés d'après les intégrations des chromatogrammes peut être surévaluée par la présence de composés volatils non odorants, étant donné que l'analyse ne prend pas en compte les seuils de détection des molécules

détectées. Sous réserve de les connaître, il pourrait peut-être être envisagé de réaliser une ACP pondérée (ici $\rho i = 1$) par les seuils de détection des composés détectés.

- Le protocole de préparation des échantillons pour la chromatographie modifie les phénomènes évaporatoires réels (congélation, conditionnement à 60 °C pendant 5 min dans un tube fermé). L'énergie apportée par le chauffage du tube permet la volatilisation de composés chimiques qui ne se seraient pas volatilisés à température ambiante comme ceux qui ont été détectés sur les textiles propres.

La prise en compte de ces facteurs doit constituer des pistes de réflexion pour la suite éventuelle du projet, et il est donc possible, à terme, d'envisager le nez électronique comme méthode pour classifier les textiles d'après leur comportement vis-à-vis des odeurs.

5. Perspectives

Les travaux de Bulk et Axel (1991) sur les mécanismes de la perception d'une odeur ont montré que les cils olfactifs présents dans la muqueuse nasale portaient au moins 172 sous-groupes de récepteurs différents sur lesquels se fixent les molécules odorantes pour envoyer un signal vers le cerveau. Ceci montre que la présence d'une molécule odorante dans un système ne suffit pas à générer une odeur : cette molécule doit se volatiliser et atteindre la muqueuse olfactive pour être perçue, et la quantité évaporée de molécules volatiles doit également être suffisante pour atteindre le seuil de détection.

Le terme « formation » des odeurs de transpiration ne s'applique donc pas à la problématique présentée ici, mais il est plus judicieux de parler d' « émission » des odeurs de transpiration par le textile. Par conséquent, si l'activité bactérienne sur le textile est faible, un textile odorant est un textile qui a capté des molécules odorantes émises durant la pratique, et qui les relargue ensuite. Schématiquement, il existe donc 2 possibilités pour qu'un textile n'émette pas d'odeurs.
Ces 2 possibilités peuvent être représentées dans la Figure 48.

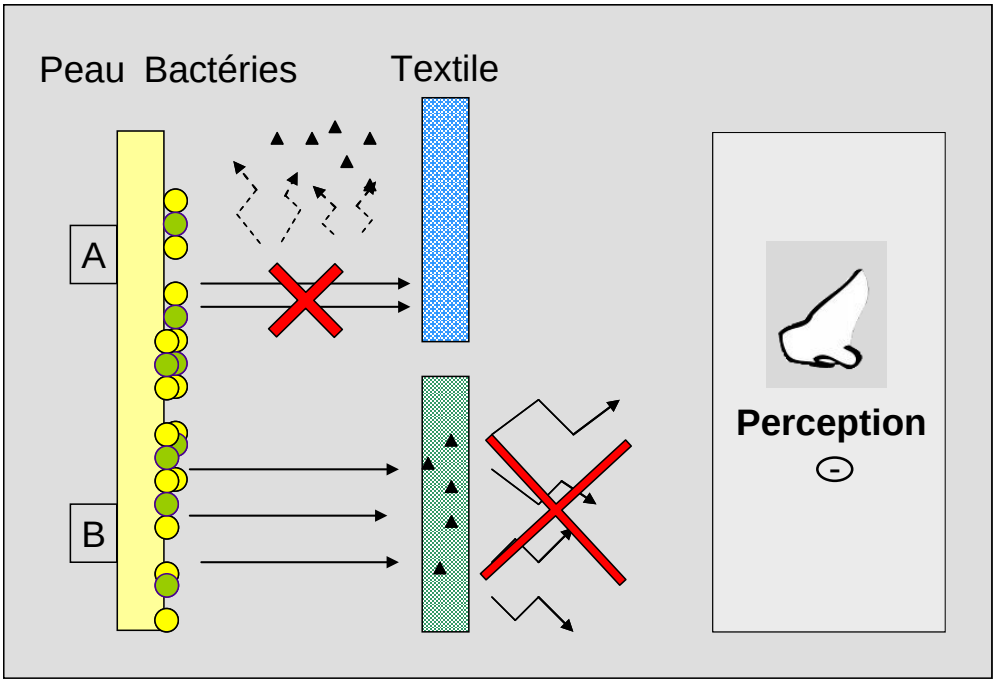


Figure 48 : Mécanismes possibles pour un textile anti-odeurs

La perception d'odeurs est fonction de la quantité de molécules odorantes désorbée, elle-même fonction de la quantité de molécules sorbée pendant la pratique, et de la possible désorption après la pratique. La vitesse de cette désorption joue donc un rôle crucial sur l'intensité de l'odeur : si elle est très importante, toutes les molécules volatiles sont désorbées très rapidement, ce qui génèrera une odeur intense, mais de courte durée. Au contraire, si cette vitesse de désorption est très faible, la quantité désorbée durant un intervalle de temps court est négligeable, donc le nez ne détecte pas d'odeur sur le composant.

La Figure 49 dresse schématiquement les 3 phénomènes possibles d'émanation des odeurs.

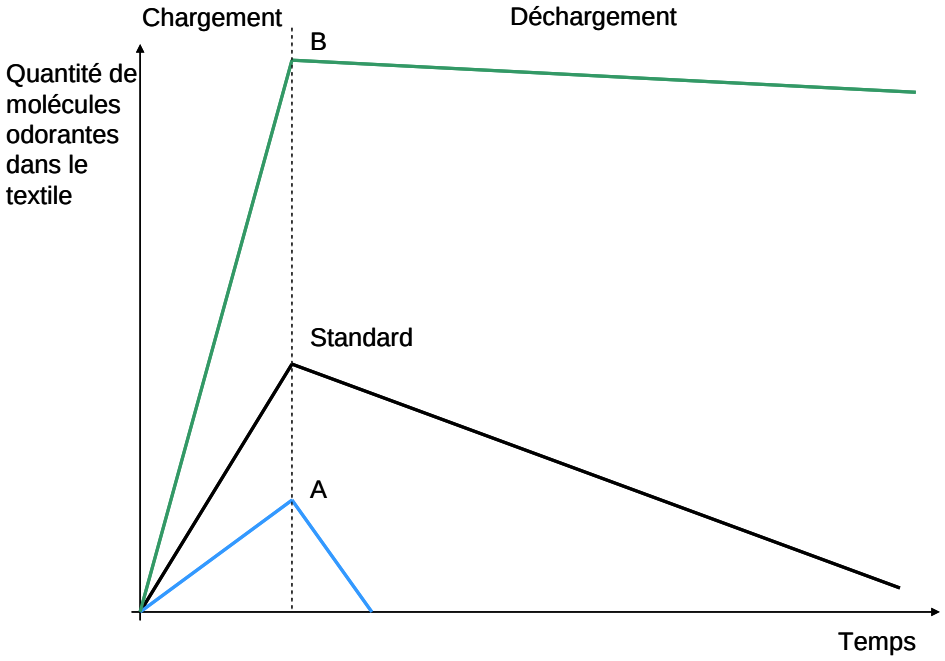


Figure 49 : Schématisation des 3 modes d'émissions de composés odorants après la pratique sportive

Dans le cas standard, une certaine quantité de molécules est sorbée durant la pratique, qui se désorbe au cours du temps. La quantité désorbée durant un temps dt est suffisante pour atteindre le seuil de détection, et le composant est considéré comme odorant.

Dans le cas A, une faible quantité est sorbée durant la pratique, et malgré une vitesse de désorption relativement importante, la quantité totale désorbée n'est pas suffisante pour atteindre le seuil de détection, le composant est considéré comme inodore.

Dans le cas B, une très forte quantité de molécules odorantes est fixée durant la pratique, mais la vitesse de désorption est trop faible pour relarguer une quantité suffisamment importante durant un intervalle de temps dt pour pouvoir atteindre le seuil de détection, le composant est également considéré comme inodore.

Ainsi, chercher un textile anti-odeurs ne consiste pas à rechercher un compromis mais un comportement extrême en étudiant l'aspect cinétique de la désorption.

Toutefois, l'allure croissante de l'intensité des émanations odorantes du composant 8 par exemple reste difficilement explicable sans une compétition entre l'évaporation dans le milieu environnant et la diffusion des molécules odorantes au sein du polymère. En effet, certaines

molécules odorantes de très faible masse moléculaire ou présentant des enthalpies de vaporisation faibles ont sans doute été produites mais se sont volatilisées très rapidement et n'ont pas été retenues dans le polymère. Au contraire, les molécules lourdes, présentant une masse moléculaire plus importante et à plus forte enthalpie de vaporisation ont présenté une affinité nettement plus élevée pour la diffusion que pour l'évaporation, et ce, malgré leur encombrement stérique limitant leur capacité de diffusion. Les petites molécules s'évaporant instantanément, les grosses molécules étant bloquées dans le polymère, ce sont les molécules présentant un comportement intermédiaire qui diffusent de l'extérieur vers l'intérieur pendant la pratique sportive, puis de l'intérieur vers l'extérieur après la pratique qui posent les problèmes de rémanence d'odeurs de transpiration.

Ces interrogations sur les mécanismes d'évaporation d'un bouquet de composés chimiques volatils à partir d'une matrice complexe telle qu'un textile, sur les compétitions induites entre la diffusion de ces composés au sein des polymères constitutifs et l'évaporation dans le milieu environnant sont des questions ardues qui nécessiteraient de nombreuses expérimentations complémentaires, d'autant qu'elles nécessiteraient d'être réalisée dans une gamme de température et en présence d'eau et de sels minéraux. Elles pourraient être étudiées en comparant les constantes de Henry de solutions diluées, et constitueraient une piste intéressante pour poursuivre les travaux sur l'émanation des odeurs par les textiles, synthétiques ou non.

Par ailleurs, ces expériences ayant été réalisées sur des textiles neufs, l'impact des cycles de lavage, du vieillissement des matières et de l'effet d'accumulation seraient des pistes intéressantes dans la compréhension des phénomènes de rémanence des odeurs, d'où la nécessité de caractériser la cinétique de sorption et désorption.

Conclusions générales

Perspectives

L'étude des mécanismes mis en jeu lors de la production et de l'émission de composés odorants pendant la pratique sportive sur différents textiles a permis d'appréhender les phénomènes majeurs conduisant à la perception olfactive.

Dans un premier temps, l'étude bibliographique a montré que la sueur eccrine, associée à une forte sudation présentait une valeur énergétique faible, et qu'il était probable que les bactéries de la flore commensale métabolisent préférentiellement les sécrétions apocrines et sébacées, dont l'émission n'est pas conditionnée par une activité physique. De plus, les principaux genres bactériens présents sur la peau sont *Corynebacterium, Staphylococcus* et *Propionibacterium* dans les follicules pileux.

A partir de ces éléments plusieurs interrogations scientifiques se sont posées :

- Quel est le rôle exact de la flore commensale cutanée dans l'odeur de transpiration sur le vêtement ?
- Existe-il un genre ou une espèce bactérienne particulièrement responsable des odeurs de transpiration sur textile ? En d'autres termes, existe-il un transfert spécifique de bactéries, qui justifierait la perception odorante particulièrement forte sur certains textiles ?
- Quel est l'effet de la nature du textile sur les émissions odorantes ?

En parallèle, ce travail devait permettre de proposer une méthode adéquate de mesure de l'odeur de transpiration émise par un textile ainsi que des stratégies pertinentes de lutte contre les odeurs.

Les résultats présentés dans ce manuscrit ont permis de mettre en évidence les éléments suivants :

Les molécules odorantes sont probablement produites en continu dans les glandes sudoripares

La mesure de l'intensité olfactive en parallèle sur le textile a montré une corrélation positive forte avec la concentration bactérienne revivifiable sur la peau, et une corrélation négative faible avec la concentration bactérienne revivifiable sur le textile.

Ensuite, la concentration bactérienne revivifiable sur textile après une heure de pratique sportive ne semble pas suffisante pour produire la quantité de molécules odorantes nécessaire pour atteindre le seuil de perception en comparaison avec les vitesses de production des molécules odorantes (James et al, 2004 ; Labows et al, 1991).

L'hypothèse d'un transfert principalement chimique a été envisagée, mais la dimension qualitative du transfert bactérien n'ayant pas été étudiée dans la première étude, et il a été décidé de caractériser le transfert bactérien genre par genre, et d'étendre l'étude à plusieurs composants textiles.

Il n'y a pas de transfert bactérien spécifique vers les textiles malodorants

L'étude présentée dans le chapitre 4 a mis en évidence des transferts spécifiques différents entre les matières testées, mais la mesure en parallèle de l'intensité odorante de ces textiles a montré que les différences de transfert bactérien n'expliquaient pas les différences de perception de l'intensité odorante.

Par conséquent, il n'y a pas de genre bactérien spécifiquement impliqué dans la formation des odeurs de transpiration *sur* textile, et l'hypothèse selon laquelle les molécules odorantes sont produites en amont semble corroborée, les molécules odorantes seraient donc probablement produites dans les glandes sébacées et apocrines, associées à un poil, et une sudation intensive provoquerait l'expulsion de ces composés volatils malodorants.
Le transfert bactérien n'étant pas spécifique, l'effet matière a donc été envisagé pour expliquer les différences de perception olfactive entre les différents textiles.

Les différences de perception olfactives sont principalement liées à l'effet textile

Il est possible de globalement classifier les matières entre elles (coton > polyamide 6,6 > polyéthylène téréphtalate). Il y a donc un effet intrinsèque de la matière, probablement lié à des phénomènes de diffusion au sein des fibres constitutives du textile.
Cependant, il n'est pas possible de prédire le comportement odorant d'un textile constitué de plusieurs matières à partir de sa composition et notamment d'établir de lien entre l'odeur émise et l'énergie de surface et la surface spécifique quelle que soit la matière testée.
Il serait donc intéressant d'étudier des fils seuls, puis le rôle de l'architecture tridimensionnelle d'un textile.

Par rapport aux objectifs technologiques, les éléments suivants ont été mis en évidence.

Dans le cas des odeurs de transpiration, le nez humain demeure le meilleur outil de mesure.

L'objectif technologique de cette étude était de proposer une méthode de mesure des odeurs à partir de composants textile. Une odeur est le résultat d'un signal électrique engendré par un mélange de molécules parvenant à la muqueuse nasale. Son interprétation par le cerveau est liée à la mémoire et aux émotions du sujet. Pour cette raison, il est difficile de caractériser une odeur d'un point de vue qualitatif comme d'un point de vue quantitatif à partir d'appareils analytiques.

Au cours de ce travail, 4 méthodes de mesures des odeurs ont été testées : le chromatographe en phase gazeuse couplé à un détecteur à spectrométrie de masse et à un port olfactif, le nez électronique (microchromatographe couplé à un détecteur à ionisation de flamme), le panel entraîné et le panel restreint.

Les résultats sur la chromatographie couplée à un spectromètre de masse et sur le nez électronique ont illustré la difficulté à corréler des données olfactives avec des mesures analytiques, du fait, entre autres, des différences de seuils de détection et du biais introduit par le conditionnement. Dans les conditions actuelles, la mise en place d'un panel, entraîné ou restreint, est la seule possibilité pour réaliser un test rapide.

De plus, ces travaux ayant montré que les molécules odorantes sont très probablement produites en amont, il est envisageable d'évincer la dimension bactérienne de la problématique en comparant les textiles, non plus à l'aide de testeurs, ni d'un mélange bactérien standardisé, mais d'une solution aqueuse contenant les produits du métabolisme bactérien sur la peau.

A ce titre, une corrélation forte entre l'intensité de la note globale perçue par le panel et de la note acide isovalérique (0,54) a pu être montrée.

Il serait donc intéressant de simplifier le système et de comparer les textiles entre eux en ne mesurant que le transfert de cet acide, voire d'un bouquet, agrémenté par exemple des molécules indicatrices très critiques identifiées par ailleurs telles que le butyrate, le 3-méthylbutanol et le gaïacol. Il est toutefois important de réaliser ce transfert dans des conditions mimant la réalité afin de faire intervenir le phénomène de plastification en présence d'eau et les compétions à l'évaporation au cours du séchage.

De plus, les mesures par nez électronique traitées par ACP ont fourni des résultats intéressants, mais incomplets. La mise en place d'une ACP pondérée pourrait permettre une analyse plus poussée et plus instructive des résultats.

La lutte contre les odeurs n'implique pas nécessairement la lutte contre les bactéries

Les molécules odorantes étant vraisemblablement produites en amont du textile, dans les glandes sudoripares, l'utilisation de composés anti-microbiens sur textile ne semble pas justifiée pour lutter contre les odeurs, l'effet textile étant prépondérant.
A moyen terme, l'utilisation de composés chimiques ayant un effet masquant pourrait être envisagée. Ainsi, les notes odorantes « pyrazine » et « nonanal » présentant des coefficients de corrélation négatifs avec la note olfactive globale, il pourrait être tentant de les intégrer dans des textiles pour vérifier leur effet masquant.

Une méthode de suivi de la flore commensale cutanée a été mise en place

Le travail présenté ici a également permis de mettre en place une méthode de caractérisation des écosystèmes faiblement colonisés grâce à une méthode de collecte d'ADN à fort taux de récupération et à une double amplification de l'ADN total à partir d'amorces bactériennes universelles. Une démarche semi-quantitative a donc pu être suivie, et le seuil de détection de cette méthode a été déterminé (5.10^2 UFC/cm² de peau pour *Corynebacterium).*

Appliquée à la problématique présentée ici, cette méthode a permis de faire progresser la compréhension des mécanismes d'émission de odeurs de transpiration et l'écosystème cutané de l'aisselle, peu étudié dans la littérature.

Ainsi, au cours des 3 mois durant lesquels a été réalisée l'étude, la flore commensale cutanée sur le sujet testé est restée stable. La ségrégation nette entre la flore commensale et la flore de passage ne semble pas appropriée à la caractérisation de l'aisselle. Certaines souches sont effectivement toujours présentes, et sont constitutives de la flore résidente, mais la flore dite « de passage » peut rester à la surface de la peau pendant au moins un mois. Ceci montre que les espèces contaminantes ont une certaine aptitude à coloniser la peau, et que leur disparition est due à une compétition ardue avec les espèces commensales.
Contrairement au tube digestif par exemple, la colonisation bactérienne de l'épiderme et des glandes exocrines cutanée est relativement faiblement étudiée, du fait, a priori de l'importance

moindre des pathologies associées. L'étude de la flore cutanée ne doit cependant donc pas être cantonnée à des fins cosmétiques, puisque les inflammations cutanées comme l'acné et les furoncles sont directement liées à la nature de la flore présente sur la peau. De plus, la peau étant une des interfaces principales de l'être humain avec son environnement, elle est un vecteur de maladies, notamment nosocomiales.

D'un point de vue technique, la méthodologie de caractérisation de l'écosystème pourrait être améliorée, en testant différentes amorces par exemple. Par ailleurs, l'élaboration d'un marqueur de taille constant, mais constitué de teneurs croissantes en GC et dont la concentration est connue pourrait être intéressante dans l'optique de comparer les gels entre eux.

Ensuite, l'activité microbienne, caractérisée par les ARN messagers et non par l'ADN total constitue l'étape suivante dans la compréhension des écosystèmes, cutanés ou non. Ceci permettrait peut-être d'aller plus loin que la caractérisation des genres bactériens particulièrement problématiques en termes d'odeurs (*Corynebacterium* et *Staphylococcus*) et de proposer des solutions déodorantes ciblées.

Une connaissance pointue de l'écosystème cutané permettrait l'identification de gènes-clés dans la synthèse de composés odorants. Une approche de type protéomique est peut-être le futur de l'étude des écosystèmes et des solutions anti-odeurs de nature enzymatique peuvent constituer des pistes prometteuses pour l'avenir des déodorants.

En améliorant la compréhension de l'ensemble des phénomènes en jeu dans l'émission des odeurs, des effets de l'élévation de température du corps humain aux phénomènes d'évaporation menant à la perception olfactive des composés odorants synthétisés par la flore bactérienne, l'approche globale de ce travail a permis d'atteindre les objectifs initialement fixés. De plus, l'étude présentée ici ouvre des perspectives de recherche larges sur la caractérisation de la flore commensale cutanée et a permis de cibler les leviers d'action dans la lutte contre les odeurs sur textile.

Références bibliographiques

Agache, P. Physiologie de la peau et explorations fonctionnelles cutanées. *Ed. EM Inter, Cachan*. **2000**, 101-106. ISBN 10 **:** 274300360x

Akim, E.L. Changes in Cellulose Structure during Manufacture and Converting of Paper *ACS Symposium Series : Cellulose Chemistry and Technology.* **1977**, 48 153-272

Allison, D.G. Biofilm associated exopolysaccharides. *Microbiology Europe* **1993**, 1, 16-19

Aly, R. ; Maibach, H. Aerobic microbial flora of intertriginous skin. *Applied Environnemental Microbiology.* **1977**, 33, 97-100

Amoore, J.E. Stereochemical Theory of Olfaction. *Nature*. **1963**, 199, 4896, 912-913

Ansari, M.N.A. ; Nicolaides, N. ; Fu, H.C. Fatty acid composition of the living layer and stratum corneum lipids of human sole skin epidermis. *Lipids*. **1970**, 5, 10, 838-845

Arens, E.A. ; Zhang, H. The Skin's Role in Human Thermoregulation and Comfort. Thermal and Moisture Transport in Fibrous Materials. *Eds N. Pan and P. Gibson, Woodhead Publishing Ltd, Cambridge*. **2006**, 560-602

Auroy. H, Perwuelz, A. Comment le textile répond aux agents infectieux. Communication orale. Journée UpTex : Quel Textile pour l'hôpital de demain ? 28 février **2008**

Austin, C. ; Ellis, J. Microbial pathways leading to steroidal malodour in the axilla. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. **2003**, 87, 105-110

Bakkour, Y. Etude par RMN des complexes d'inclusion avec des cyclodextrines natives et polymérisées. Thèse de doctorat, *Université des Sciences et Technologie de Lille I*, **2005**

Bandis, H. ; Köhler, W. ; Eggers, H.J. ; Pulverer, G. Lehrebuch der Medizinischen Mikrobiologie. *Auflage, Gustav Fischer Verlag Stuttgart*., **1994**

Bechara, F.G. Letter to the Editor : Do we have apoeccrine sweat glands? *International Journal of Cosmetic Science*. **2008**, 30, 67-68

Berliner, D. ; Monti-Bloch, L. ; Jennings-Chite, C. ; Diaz-Sanchez, V. The functionnality of the human vomeronasal organ : evidence for steroïds rceptors. *Journal of Steroid Biochemistry*. **1994**, 58, 259-265

Blanpain, C. ; Horsley, V. ; Fuchs, E. Epithelial Stems Cells : turning over New Leaves. *Cell*. **2007**, 128, 3, 445-458

Boelens, H. ; Haring, H. ; de Rijke, D. Threshold values of and human preferences for 4-ethyloctanoic and 3-methylbutanoic acids. *Perfumes and Flavors*. **1983**, 8, 71-74

Brune, I. ; Becker, A. ; Paarmann, D. ; Albersmeier, A. ; Kalinowski, J. ; Pühler, A. ; Tauch, A. Under the influence of the active deodorant ingredient 4-hydroxy-3-methoxybenzyl alcohol, the skin bacterium *Corynebacterium jeikeium* moderately responds with differential gene expression. *Journal of Biotechnology*. **2006**, 127, 1, 21-33.

Buck, L. ; Axel, R. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell*. **1991**, 65, 175-187

Bünger, J. Adhäsion von Micro-organismen an Human-Haut. *Dissertation in Fachbereich Biologie der Universität Hamburg.* **1996**

Campbell, N.A. Biologie. *Ed De Boeck, Wesmael Université, Bruxelles*. **1995,** ISBN-10: 2804120848

Carrega, M. Matériaux polymères. *Ed Dunod, collection L'usine nouvelle*. **2007**, ISBN : 978-2-10-050790-0.

Catala, M. ; André, J.M. ; Katsanis, G. ; Poirier, J. Histologie : Organes, systèmes, appareils. *Faculté de Médecine, Université Pierre et Marie Curie*, **2007**

Chevalier, L. ; Viercier, G.M. ; Crivieux, A. Evaluation of standard scrubbing methods for the recovery of aerobic skin flora. *Annales de l'Institut Pasteur*. **1987**, 138, 349-358

Coltman, C.A. ; Rowe, N.J. ; Atwell, R.J. The amino acid content of sweat in normal adults. *Journal of clinical nutrition*. **1966**, 18, 373-378

Decréau, R.A. ; Marson, C.M. ; Smith, K.E. ; Behan, J.M. Production of malodorous steroids from androsta-5,16-dienes and androsta-4,16-dienes by *Corynebacteria* and other human axilla bacteria. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. **2003**, 87, 326-336

Delekat, T. Charakterisierung und Identifizierung mikrobieller Wirtsrezeptoren, die die Adhäsion von Mikroorganismen an humane Hautzellen vermitteln. *Diplomarbeit im Studiengang Biotechnologie der TU Brauschweig*. **1999**

Dethlefsen, L. ; MacFall-Ngai, M. ; Relman, D.A. An ecological and evolutionary perspective on human–microbe mutualism and disease. *Nature*. **2007**, 449, 18, 811-818

Di Natale, C. ; Paolesse, R. ; D'Arcangelo, G. ; Comandini, P. ; Penazza, G. ; Martinelli, E. ; Rullo, S. ; Roscioni, M.C. ; Roscioni, C. ; Finazzi-Agrò, A. ; D'Amico, A. Identification of schizophrenic patients by examination of body odor using gas chromatography-mass spectrometry and a cross-selective gas sensor array. *Medical Science Monitor*. **2005**, 11, 8, 366-375

Dikstein, S. ; Zlotogorski, A. Measurement of skin pH. *Acta Dermato-Venereologica Supplement*. **1985**, 185, 18-20

Dickstein, S. ; Zlotogorski, A. ; Leveque, J.L. Skin surface hydrogen ion concentration (pH). *Cutaneous investigation in health and disease, Marcel Dekker Inc, New York*. **1989**, 59-77

Downing, D.T. ; Strauss, J.S. Synthesis and composition of surface lipids of human skin. *The Journal of Investigative Dermatology*. **1974**, 62, 228-244

Dravniecks, A. ; Krotoszynski, B.K. ; Lieb, W.E. ; Jungermann, E. Influence of an Antibacterial Soap on Various Effluents from Axillae. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*. **1968**, 19, 9, 611-626

Falcy, S. ; Malard, S. Comparaison des seuils de détection olfactifs de substances chimiques avec des indicateurs de sécurité utilisés en milieu professionnel. *Cahier de notes documentaires de l'INRS*. **2005**, 198, 12

Feigenbaum, A. ; Barthélémy, E. Evaluation sanitaire des « matériaux en poly(éthylène téréphtalate) recyclés utilisés en tant que matériaux au contact des denrées alimentaires et de l'eau de boisson ». *Rapport AFSSA*. **2006**.

Fierera, N. ; Hamadyc, M. ; Lauberb, C.L. ; Knightd, R. The influence of sex, handedness and washing on the diversity of hand surface bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **2008**, 105, 46, 17994-17999

Folk G.E. Jr. ; Semken H.A. Jr. The evolution of sweat glands. *International Journal of Biommetrology*. **1991**, 35, 180-186

Fredricks, D.N. Microbial Ecology of Human Skin in Health and Disease. *Journal of Investigative Dermatology*. **2001**, 6, 167-169

Gao, Z. ; Tseng, C. ; Pei, Z. Blaser, M.J. Molecular analysis of human foremarm superficial skin bacterial biota. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **2007**, 104, 8, 2927-2932.

Garson, J.C. ; Doucet, J. ; Levêque J.L. ; Tsoucaris, G. Oriented structure in human stratum corneum revealed by X-ray diffraction. *Journal of Investigative Dermatology*. **1991**, 96, 43-49

Goldberg, D. ; Murdock, C. ; Xi, C. ; Gilsdorf, J.R. ; Foxman, B. Conceptualizing Human Microbiota: From Multicelled Organ to Ecological Community. *Interdisciplinary Perspectives on Infectuous Diseases*. **2008**, 613979.

Grice, E.A. ; Kong, H.H. ; Conlan, S. ; Deming, C.B. ; Davis, J. ; Young, A.C. ; Bouffard, G.G. ; Blakesley, R.W. ; Murray, P.R. ; Green, E.D. ; Turner, M.L. ; Segre, J.A. Topographical and Temporal Diversity of the Human Skin Microbiome. *Science*. **2009**, 5931, 1190-1192

Hamadi, F. ; Latrache, H. ; Zekraoui, M. ; Ellouali, M. ; Bengourram, J. Effet of pH on surface energy of glass and Teflon and theoritical prediction of *Staphylococcus aureus* adhesion. *Materials Sciences and Engineering C*. **2009**, 29, 1302-1305

Haustein, U.F. Bakterielle Hautflora, Wirtsabwehr und Hautinfektionen. *Dermatologische Monatsschrift*. **1989**, 175, 665-680

Huys, G. ; Vanhoutte, T. ; Vandamme, P. Application of Sequence-Dependent Electrophoresis Fingerprinting in Exploring Biodiversity andPopulation Dynamics of Human Intestinal Microbiota: What Can Be Revealed? *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*. **2008**, 26 Article ID 597603.

Jackman, P.J.H. ; Noble, W.C. Normal axillary skin microflora in various populations. *Clinical and Experimental Dermatology*. **1983**, 8, 3, 259-268

James, A.G. ; Hyliands, D. Johnston, H. Generation of volatile fatty acids by axillary bacteria. *International Journal of Cosmetic Science*. **2004a**, 26, 149-156

James, A.G. ; Casey, J. ; Hyliands, D. ; Mycock, G. Fatty acid metabolism by cutaneous bacteria and its role in malodour. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. **2004b**, 20, 787-793

Kaneda, T. Smith, E.J. Relationship of primer specificity of fatty acid de novo synthetase to fatty acid composition in 10 species of bacteria and yeasts. *Canadian Journal of Microbiology*. **1980**, 26, 893-898

Kaneda, T. Iso and anteiso-fatty acids in bacteria : biosynthesis, function, and taxonomic significance. *Microbiological reviews*. **1991**, 55, 2, 288-302

Karlsson, K.A. Animal glycolipids as attachment sites for microbes. *Chemistry and Physics of Lipids*. **1986**, 42, 1-3, 152-172

Karlsson, K.A. Preparation of total nonacid glycolipids for overlay analysis of receptors for bacteria and viruses and for other studies. *Methods in Enzymology*. **1987**, 138, 212-220

Kazmierczak, A.K. ; Szewczyk, E.M. Bacteria forming a resident flora of the skin as a potential source of opportunistic infections. *Polish Journal of Microbiology*. **2004**, 53, 4, 249-255

Kligman, A. ; Leyden, J.J. ; Mac Ginley, K. Bacteriology. *Journal of Investigative Dermatology*. **1976**, 67, 160-168

Kloos, W.E. ; Musselwhite, M.S., Distribution and persistance of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species and other aerobic bacteria in human skin. *Applied Microbiology*. **1975**, 30, 3, 381-395

Korting, H.C. ; Lukacs, A. ; Braun-Falco, O. Mikrobielle Flora unf Geruch der gesunden menschlichen Haut. *Hautarzt*. **1988**, 39, 564-568

Koziarz, J. ; Yamazaki, H. Immobilisation of bacteria on to polyester clothes. *Biotechnology techniques*. **1998**, 12, 5, 407-410.

Kuno, Y. Human Perspiration. Charles C Thomas Publisher, Springfield, **1956**

Labows, J.N. ; Reilly, J. ; Leyden, J.J. ; Preti, G. Axillary Odor : Determination, Formation, and Odor Control. Laden K, editor. Antiperspirants and Deodorants. *New York: Marcel Dekker*. **1999**, 20, 53–83.

Leyden, J.J. ; McGinley, K.J. ; Hölzle, E. ; Labows, J. ; Kligman, A.M. The microbiology of the human axilla and its relationship to axillary odor. *Journal of Investigative Dermatology*. **1981**, 77, 413-416

Leyden, J.J. ; MacGinley, K.J. ; Nordstrom, K.M. ; Webste, G.F. Skin Microflora. *Journal of Investigative Dermatology*, **1987**, 88, 65-72

Leyden, J.J. ; MacGinley, K.J. ; Foglia, A.N. ; Wahrmann, J.E. ; Gropper, C.N. ; Vowels, B.R. A new method for in vivo evaluation of antimicrobial agents by translocation of complex dense populations of cutaneous bacteria. *Skin Pharmacology*, **1996**, 9, 60-68

MacNeil, E. ; Blandford, J.M. ; Choper, E.A. ; Graham, R.T. ; Hoak, F.C. ; Oliva, E.C. ; Smith, J.C. The role of bacteria in the developpment of perspiration odor on fabrics. *Proceedings of the American Association of Textile Chemists and Colorists*. **1963,** 9, 87-90

MacQueen, R.H. ; Laing, R.M. ; Brooks, H.J.L ; Niven, B.E. Odor Intensity in Apparel Fabrics and the Link with Bacterial Populations. *Textile Research Journal*. **2007**, 77, 7, 449-456

MacQueen, R.H. ; Laing, R.M. ; Delahunty, C.M. ; Brooks, H.J.L ; Niven, B.E. Retention of axillary odour on apparel fabrics. *Journal of the Textile Institute*. **2008,** 99, 6, 515-523

Mark, H.F. Concise Encyclopedia of Polymer Science Third Edition. John Wiley & Sons, Hoboken, NJ. **2007**, ISBN-10: 0470046104

Marples, R.R. ; Williamson, P. Effects of demethylchlortetracycline on human cutaneous microflora. *Applied Microbiology*. **1969**, 18, 2, 228, 234

Meierhenrich, U.J. ; Golebiowski, J. ; Fernandez, X. ; Cabrol-Bass, D. De la molécule à l'odeur : les bases moléculaires des premières étapes de l'olfaction. *L'actualité chimique.* **2005**, 289, 29-40

Mirelman, D. ; Ofek, I. Introduction to microbial lectins and agglutins. *Microbial lectins and agglutins Ed. John Wiley and Sons, New York.* **1986,** 1-20

Moncrieff, R.W. What is Odor ? A New Theory. *American Perfumer and Essential Oil Review*. **1949**, 54, 453

Monti-Bloch, L. ; Grosser, B. Effect of putative pheromones on the electrical activity of the human vomeronal organ and olfactory epithelium. *Journal of Steroid Biochemistry*. **1991**, 39, 573-582

Munk, S. ; Johansen C. ; Stahnke, L.H. Microbial Survival and Odor in Laundry. *Journal of Surfactants and Detergents*. **2001**, 4, 4, 285-394

Natsch, A. ; Gfeller, H. ; Gygax, P. ; Schmid, J. ; Acuna, G. A specific aminoacylase cleaves odorant precursors secreted in the human axilla. *Journal of Biological Chemistry*. **2003**, 178, 8, 518-527.

Natsch, A. ; Derrer, S. ; Flaschsmann, F. ; Schmid, J. A broad diversity of volatil carboxylic acids, released by a bacterial aminoacylase from axilla secretion, as candidate molecules for the determination of human-body odor type. *Chemistry and Biodiversity*. **2006**, 3, 1, 20

Nicolaïdes, N. Skin Lipids : Their Biological Uniqueness. *Science*. **1974**, 186, 4168, 19-26

Nicolaïdes, N. ; Apon, J.M.B. The saturated methyl branches fatty acids of adults human surface skin lipids. *Biomedical Mass Spectrometry***. 1977**, 4, 6, 337-347

Nicolaïdes, N. ; Kellum, R.E. On the Origin of the most saturated hydrocarbones of the skin surface lipids. *Journal of American Oil***. 1996**, 43, 1, 54-55

Ofek, I. ; Beachey, E.H. Mannose binding and epithelial cell adherence of *Escherischia coli. American Society for Microbiology.* **1978**, 22, 1, 247-254

Pablo, G. ; Hammons, A. ; Bradley ; S. ; Fulton, J.E. Characteristics of the extracellular lipases from Corynebacterium acnes and Staphylococcus epidermidis. *Journal of Investigative Dermatology*. **1974**, 63, 231-238
Champagne

Pennarun P-Y. Migration à partir de bouteilles en PET recyclé. Elaboration et validation d'un modèle applicable aux barrières fonctionnelles. *Thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne*. **2001**

Prelog, V. ; Ruzicka, L. Meister, P. ; Wieland, P. Steroide and sexual-hormone. 113 Mitteilung. Untersuchungen über den zusammenhang zwischen Konstitution und Geruch bei Steroïden. *Helvetica Chemical Acta*, **1945**, 28, 618-627

Puhvel, S.M. ; Resiner, R.M. ; Skamoto, M. Analysis of lipid composition of isolated human sebaceous gland homogenates after incubation with cutaneous bacteria. Thin layer chromatography. *Journal of Invstigative Dermatology*. **1975**, 64, 6, 406-411

Ramahlo, O. Vers une métrologie olfactive de la qualité de l'air intérieur. Correspondances entre les données de ll'analyse sensorielle, de l'analyse chimique et d'un nez électronique. *Thèse de doctorat, Université Paris 7*. **1999**

Rawlings, A.V. ; Scott, I.R. ; Harding, P.A. ; Bowser, P.A. Stratum corneum moisturization at molecular level. *Journal of Investigative Dermatology*. **1994**, 103, 5, 731-740

Rennie, P.J. ; Gower, D.B. ; Holland, K.T. In-vitro and in-vivo studies of human axillary odour and the cutaneous microflora. *British Journal of Dermatology*. **1991**, 124, 596-602

Rennie, P.J. ; Gower, D.B. ; Holland, K.T. ; Mallet, A. ; Watkins, W. The skin microflora and the formation on human axillary odour. *International Journal of Cosmetic Science*. **1990**, 12, 197-207.

Robertshaw, D. Neural and Humoral Control of Apocrine Glands. *Journal of Investigative Dermatology*. 1974, 63, 160-167.

Rouquerol J. ; Avnir, D. ; Fairbridge, C.W. ; Everett, D.H. ; Haynes, J.H. ; Pernicone, N. ; Ramsay, J.D.F. ; Sing, K.S.W. ; Unger, K.K Recommendations for the characterization of porous solids. *Pure and Applied Chemistry*. **1994**, 66, 8, 1739-1758.

Sato, K. ; Leidal, R. ; Sato, F. Morphology and Development of an apoeccrine Sweat Gland in Human Axillae. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. **1987**, 252, 166-180.

Schröder, C. Untersüchung der Adhäsion von Corynebakterien an humane Haut. *Thèse de doctorat, Hamburg Universität.* **2002**.

Scrivener, Y. ; Cribier, B. Morphologie des glandes sudorales. *Morphologie*. **2002**. 86, 272, 5-17.

Starkenmann, C. ; Niclass, Y. ; van de Waal, M. ; Clarck, AJ. Identification of the precursors of (S)-3-methyl-3-sulfanylhexa-1-ol, on the Sulfury Malodour of human Axilla Sweat. *Chemistry and Biodiversity*. **2005**, 2, 705-716.

Takashima, M. ; Shirai, F. ; Sageshima, M. ; Ikeda, N. ; Okamoto, Y. ; Dohi, Y. Distinctive bacteria-binding property of cloth materials. *American Journal of Infection Control.* **2004**, 32, 1, 27-30

Tauch, A. ; Kaiser, O. ; Hain, T. ; Goesmann, A. ; Weisshaar, B. ; Albersmeier, A. ; Bekel, T. ; Bischoff, N. ; Brune, I. ; Chakraborty, T. ; Kalinowski, J. ; Meyer, F. ; Rupp, O. ; Schneiker, S. ; Viehoever, P. ; Pühler. A. Complete genome sequence and analysis of the multiresistant nosocomial pathogen *Corynebacterium jeikeium* K411, a lipid-requiring bacterium of the human skin flora. *Journal of Bacteriology*. **2005**, 187, 13, 4671-4682

Taylor, D. ; Daulby, A. ; Grimshaw, S. ; James, G. ; Mercer, J. ; Vaziri, S. Characterization of the microflora of the human skin. *International Journal of Cosmetic Science*. **2003**, 25, 137-145

Uchida, Y. ; Holleran, W.M. Ω-O-acylceramide, a lipid essential for mammalian survival. *Journal of Dermatological Science*. **2008**, 51, 77-87

Wertz, P.W. Lipids and barrier function of the Skin. *Acta Derma Venereology*. **2000**, 208, 7-11

Whittow, G.C. Comparative physiology of thermoregulation II. Mammals. *Academic Press, New York.* **1971**

Yao, J.K. ; Thomas, E.A. ; Reddy, R.D. ; Keshavan, M.S. Association of plasma apolipoproteins D with RBC membrane arachidonic acid levels in schizophrenia. *Schizophrenia Research*. **2005**, 72, 256-266

Yosupovitch, G. ; Tur, E. ; Cohen, O. ; Rusecki. Y. Skin surface pH in interginous areas in NIDDM patients. Possible correlation to candidal intertrigo. *Diabete Care*, **1993**, 16, 560-563

Yousef, M.K. ; Dill, D.B. Energy expenditure in desert walks : man and burro Equus asinus. *Journal of Applied Physiology*. **1969**, 27, 681-683

Zeng, C. ; Spielman, A.I. ; Vowels, B.R. ; Leyden, J.J. ; Biemann, K. ; Preti, G. A human axillary odorant is carried by apolipoprotein D. *Biochemistry*. **2006**, 93, 6626-6630

Annexes

Annexe 1

Etude de l'effet latéralité et mode de collecte : résultats bruts et traitement statistique

Annexe 1 a

Résultats des dénombrements réalisés en triplicata sur textile à partir d'échantillons provenant de la partie droite et de la partie gauche d'un textile, extraits de deux manières différentes : agitation magnétique ou ultrasons. Résultats obtenus sur BHI +T80 1%, incubation 30°C, 7 jours

		Mode de collecte					
Coté		Agitation	Moyenne	Ecart-type	Ultra-sons	Moyenne	Ecart-type
	Gauche	5000 7667 8333	7000	1764	12000 11667 10000	11222	1072
	Droite	10000 13000 15000	12667	2517	1333 17333 3667	7444	8643

Annexe 1 b

Résultats de l'analyse de la variance réalisée sous Excel

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Sample	2675296,33	1	2675296,33	0,12546278	0,73233831	5,31765506
Columns	750000	1	750000	0,03517258	0,85590385	5,31765506
Interaction	66901296,3	1	66901296,3	3,13745532	0,11446146	5,31765506
Within	170587408	8	21323426			
Total	240914001	11				

Annexe 2

Etude de l'effet lieu de collecte : résultats bruts et traitement statistique par test de Student

Lieu de collecte			
Sur la peau		Sur le textile	
40200		12000	
34700		11667	
32400		10000	
28700		1333	
28500		17333	
20700		3667	
		5000	
		7667	
		8333	
		10000	
		13000	
		15000	
Moyenne	30867	Moyenne	9583
Ecart-type	6600	Ecart-type	4680
Moyenne totale	16678		
Ecart-type total	11557		
T	4.807	T	-5.028

Annexe 3

Dénombrements bactériens cutanés effectués sur les 14 sujets impliqués dans l'étude

Prélèvement sur	Dénombrement en UFC/cm²	Ecart-type / Moyenne
Sujet n° 1	$9,2 \pm 0,7 . 10^2$ UFC/cm²	0,1
Sujet n° 2	$2,0 \pm 0,5 . 10^3$ UFC/cm²	0,2
Sujet n° 3	$1,1 \pm 0,2 . 10^3$ UFC/cm²	0,2
Sujet n° 4	$1,0 \pm 0,2 . 10^4$ UFC/cm²	0,2
Sujet n°5	$8,9 \pm 1,0 . 10^2$ UFC/cm²	0,1
Sujet n° 6	$1,3 \pm 0,2 . 10^2$ UFC/cm²	0,2
Sujet n° 7	$7,5 \pm 1,2 . 10^2$ UFC/cm²	0,2
Sujet n° 8	$1,3 \pm 0,2 . 10^2$ UFC/cm²	0,2
Sujet n° 9	$8,6 \pm 3,2 . 10^2$ UFC/cm²	0,4
Sujet n° 10	$1,1 \pm 0,2 . 10^2$ UFC/cm²	0,2
Sujet n° 11	$8,1 \pm 2,3 . 10^2$ UFC/cm²	0,3
Sujet n° 12	$1,4 \pm 0,3 . 10^4$ UFC/cm²	0,2
Sujet n° 13	$1,1 \pm 0,2 . 10^4$ UFC/cm²	0,2
Sujet n° 14	$6,7 \pm 0,5 . 10^4$ UFC/cm²	0,1
Etendue des données (W)	$6,7\ 10^4$ UFC/cm²	0,3

Annexe 4

Dénombrements bactériens sur textile après usage pour les 14 sujets et calcul du taux de transfert bactérien

Nom du coureur	Date	Dénombrement en UFC/ cm² de textile	Ecart-type textile	Ecart-type / dénombrement	Taux de transfert
Sujet n° 1	18/11/2008	4	0,7	0,2	4.30%
Sujet n° 2	18/11/2008	703	262,7	0,4	35.64%
Sujet n° 3	18/11/2008	12	3,0	0,3	9.23%
Sujet n° 4	01/12/2008	24	12,0	0,5	0.23%
Sujet n°5	09/12/2008	49	8,8	0,2	5.47%
Sujet n° 6	16/12/2008	653	166,0	0,3	502.31%
Sujet n° 7	16/12/2008	117	37,0	0,3	15.56%
Sujet n° 8	16/12/2008	33	2,8	0,1	25.38%
Sujet n° 9	19/01/2009	160	28,6	0,2	18.57%
Sujet n° 10	26/01/2009	1	0,2	0,2	0.99%
Sujet n° 11	10/02/2009	0	0,2	0,7	0.04%
Sujet n° 12	17/02/2009	45	13,0	0,3	0.32%
Sujet n° 13	23/02/2009	89	38,0	0,4	0.79%
Sujet n° 14	23/02/2009	143	56,0	0,4	0.21%
Etendue des données (W)		703	263	0,6	502%
Valeurs moyennes (m)		145	45	0,3	44%

Annexe 5

Exemples de mesures par GC-MS/O des composés odorants émis par un T-shirt porté pour les échantillons 1 et 2

Annexe 5a

Aromatogramme de l'échantillon 1

Tr	Référent/Evocation	Intensité	MS	% pic
5,6	Fleuri (acétate d éthylacétone)	1,5	*Ethanamine*	0,5-1,55
5,79	Aminé (triméthylamine)	1	*Alanine*	0,3
6,05	Amine-solvant	1-1,5	*Ethylacétimidale*	
6,6	Diacétyl	2	Diacétyl	? très faible
6,6	Blanco	0,5-1	*2-hydroxyéthylurée*	0,26
7,7-8,1	Piquant acétique/ soufré poubelle	0,5/0,5-1	Acide propanoïque	0,6
8,6	Pyrazine	2	Absence de pic	-
8,72	Sueur	0,5	Absence de pic	-
9,34	Plastique (styrène)	1	*Toluène*	0,45
9,5	Ambrétolide 2	1	Absence de pic	-
10	Phényléthanol	1	Hexanal	0,3
10,28	Sueur	0,5	*Ester acide acétique*	? très faible
10,48	Acide octénoïque	2	*Ethanediol monoformate*	?
10,5	Ambrosan	0,5	Urée	<0,4
12,12	Acide acétique	1	Absence de pic	-
13,18	Pyrazine	2	Butyrolactone	0,4
14,51	1,3-octenol	1,5	*1,3-octénol*	? Co-élution
15,07	Diméthylsulfide	2,5		? Co-élution
15,7	Scatol	0,5	*Dihydroxylbutanamide*	<0,4
16,1	Pyrazine/pain grillé	1,5		? Co-élution
16,7	Pyrazine / pain grillé	2	Absence de pic	-
17,1	Soufré	1	Absence de pic	-
17,3	Soufré	2		? Co-élution
18,05	Pyrazine	2		4,48
18,2	Disulfure d'allyle	1,5	Absence de pic	-
19,1	Soufré	1,5	Acide pentanoïque	? Co-élution
20,1	Pyrazine	1,5	Absence de pic	-
20,9	Piquant liquide vitre 1,3-octenol	1,5	Naphtalène	0,38
22,7	Acide octènoïque	1,5	*Ester d'acide tetradécanoïque*	? Co-élution
23,6	Caoutchouc	1		0,43
24,1	Diméthylthiophène	0,5	Absence de pic	-
24,15	Caoutchouc	1	Absence de pic	-

24,65	Pyrazine	0,5	*Tétradécane*	? Co-élution
25,08	Chlore	0,5	Absence de pic	-
25,30	Evernyl	1	Absence de pic	-
27,2	Pyrazine	1,5	Absence de pic	-
27,5	Cuisson gâteau – pyrazine	2,0	*Tridécanol*	1,87
28,40	Soufré	1,5		? Co-élution
28,52	Phényléthanol	1,5	Dérivé de phénol	0,45
28,8	Acide butyrique / amine	0,5	*2-méthylundécanol*	3,27
29,1	Soufré	1,5	Absence de pic	
29,5	Soufré-pyrazine	2,0	*2 méthylundécanol*	? Co-élution
32,0	Soufre octènoïque	1	1-octadécène	0,98
32,4	Soufre méthional	1,5		? Co-élution
34	Soufre pyrazine	1,5	non concordance olfactive	? Co-élution
34,9	Pyrazine	2	Absence de pic	-

Annexe 5 b

Aromatogramme de l'échantillon 2

Tr	Référent/Evocation	Intensité	MS	% pic
1,7	Caoutchouc brûlé	0,5	Absence de pic	-
3,42	Acide octènoïque	0,5	Absence de pic	-
6,7	Caramel	0,5	*Méthylcyclobutane*	1,84
8,51	Disulfure de méthyle	0,5	*Alamine*	Très faible
9,37	Styrène/plastique (ballon)	1	*Toluène*	Très faible
10,09	Blanco	0,5	Absence de pic	-
10,3	Acide isovalérique	0,5	Absence de pic	-
10,6	Cigarette	0,5	Absence de pic	-
11,1	Ethanol-alcool	0,5	Absence de pic	-
14,85	1,3-octènol	0,5	1,3 octènol	1,65
15,66	Acétate d'éthyle	0,5	Absence de pic	-
16,4	Pyrazine	0,5	Absence de pic	-
16,7	Triméthylamine	0,5		Très faible
17,35	Soupe de légume	0,5		<0,4
17,4	Poussière	0,5	Absence de pic	-
18,6	Phénol	0,5	Absence de pic	-
18,84	Brulé	0,5	Absence de pic	-
21,80	Acide octènoique	0,5	Absence de pic	-
22,08	Acide acétique	0,5	Absence de pic	-
23,7	Pyrazine	0,5	? Absence de pic	-
24,6	Pyrazine	1	2-butylquinoléine	Très faible
25,1	Soufre	1	? Identification (co-élution)	Très faible
25,5	Soufre	1,5	? concordance odeur (tridécanol)	5,2
26,3	Pyrazine	1	? Identification	0,57
26,95	Soufre (allyle)	1	? Absnce de pic	-
27	Piquant	2	? Absence de pic	-
27,35	Disulfure de méthyle	1	? identification (tridécanol)	5,2

27,7	Radiateur poussière	1,5	? Absence de pic	-
28,3-28,5	Caoutchouc/caoutchouc brulé/café	1/1,5/1	? Identification (co-élution)	<0,4
29,52	Piquant /piquant	1,5/2	? Identification (acide trichloroacétique)	1,5
29,7	Soufre (allyle)	2	? concordance odeur (2-tridécanol)	1,11
30,40	Biscuit œuf cuit-soufre (allyle)	2	? Identification (Benzoate de benzyle)	0,51
31,15	Biscuit odeuf cuit – soufre (allyle)	2	? Identification	3,61
31,90	Gaz + soufre (allyle)	2	? Identification	<0,4
31,94	Méthylthiophène	0,5	? (concordance olfactive (acide hexadécanoïque)	1,25
32,3	Disulfure de méthyle	1	? Absence de pic	-
32,8	Pyrazine + soufre (allyle)	3	? Absence de pic	-
33,7	Pyrazine ° soufre (allyle)	2	? concordance odeur (2-hexyldécanol)	0,45
34,0	Pyrazine/pyrazine + soufre (allyle)	½	? (Identification-co-élution)	0,5
34,3	Disulfure allyle	0,5	? Absence de pic (co-élution)	-
35,5	Disulfure allyle	0,5	? Absence de pic	-

Annexe 6

Exemples de notation par panel pour l'échantillon 1 et 2

Annexe 6 a

Notation par panel de l'échantillon 1

Référent	Intensité	Citations	Juges différents
Pyrazine	2	12	2
Soufré	0,5-2	9	2
Triméthylamine/amine	0,5-1,5	5	2
Acide octènoïque	1-2	3	2
1,3-octènol	1,5	2	2
Acide acétique	0,5-1	2	2

Annexe 6 b

Notation par panel entraîné de l'échantillon 2

Référent	Intensité	Citations	Juges différents
Disulfure d'allyle	0,5-3	10	2
Pyrazine	0,5-3	8	2
Disulfure de méthyle	0,5-1	3	2
Piquant	1,5-2	3	2
Caoutchouc brulé	0,5-1,5	2	2

Annexe 7

Tableau récapitulatif des notes olfactives attribuées par le panel entraîné sur les T-shirts après usage des 10 sujets testés.

Calcul du cœfficient de corrélation entre les notes olfactives et la note globale

Sujet	Note globale	Note pyrazine	Note acide acétique	Note acide octènoïque	Note acide isovalérique	Note nonanal
Sujet 2	3,4	0,9	1,1	0	0	0
~~Sujet 3~~	~~3,8~~	~~0~~	~~0,7~~	~~2,4~~	~~0,6~~	~~0~~
Sujet 4	3,6	0	1	0,5	1	0,7
Sujet 5	3,5	0	1,6	0	1,6	0
Sujet 9	3,4	0	1,5	0,9	0	0,6
Sujet 10	3,5	1,2	0,6	0,6	0	0
Sujet 11	3,7	0	1,3	1,3	0,9	0,6
Sujet 13	2,9	0,5	0,7	0,7	0	0,9
Sujet 14	3,1	0	1,1	1,1	0	0,5
Etendue	0,9	1,2	1	2,4	1,6	0,9
Moyenne	3,43	0,29	1,07	0,83	0,46	0,37
Ecart-type	0,28	0,47	0,36	0,73	0,60	0,36
Fréquence de citation		0,33	1,00	0,78	0,44	0,56
Corrélation à la note globale		-0,20	0,11	0,35	0,54	-0,47

Annexe 8

Mise en relation des notes olfactives établies par le panel entraîné avec les dénombrements sur la peau et sur textile.

Calcul des coefficients de corrélation

Nom du coureur	Note pyrazine	Note acide acétique	Note acide octènoïque	Note acide isovalérique	Note nonanal	Dénombr peau	Dénombr textile
Ludovic	0,9	1,1	0	0	0	1973	703
Romain	0	0,7	2,4	0,6	0	10291	24
Jean-Noël	0	1	0,5	1	0,7	888	49
Fred T	0	1,6	0	1,6	0	130	33
Nicolas	0	1,5	0,9	0	0,6	863	160
Guillaume S	1,2	0,6	0,6	0	0	107	1
Rémi	0	1,3	1,3	0,9	0,6	812	0
Benjamin B	0,5	0,7	0,7	0	0,9	11220	89
François D	0	1,1	1,1	0	0,5	67333	143
Etendue	1,2	1	2,4	1,6	0,9	6,72E+04	7,03E+02
Moyenne	0,29	1,07	0,83	0,46	0,37	1,04E+04	1,34E+02
Ecart-type	0,47	0,36	0,73	0,60	0,36	2,18E+04	2,21E+02
r dénombr peau	-0,24	-0,08	0,24	-0,33	0,17		
r dénomb textile	0,40	0,11	-0,43	-0,41	-0,25		

Annexe 9

Calcul du coefficient de corrélation entre les notes attribuées par le panel restreint et les dénombrements réalisés sur textile et sur la peau.

Sujet	Note méthode restreinte	Dénomb Peau	Dénomb textile	Log dénombrement peau	Log dénombrement textile
1	2	92	4	0,60	1,96
2	6	107	1	0,00	2,03
~~3~~	~~1~~	~~130~~	~~12~~	~~1,08~~	~~2,11~~
4	10	130	33	1,52	2,11
5	10	130	653	2,81	2,11
6	4	752	117	2,07	2,88
7	4	812	1	0,00	2,91
8	5	863	160	2,20	2,94
9	10	888	49	1,69	2,95
10	8	1973	703	2,85	3,30
11	9	10291	24	1,38	4,01
12	10	11220	89	1,95	4,05
13	10	13917	45	1,65	4,14
14	10	67333	143	2,16	4,83
Coefficient de corrélation avec note de l'échelle restreinte		0.39	-0.18	0.71	0.39

Annexe 10

Calcul du seuil de détection de la TTGE

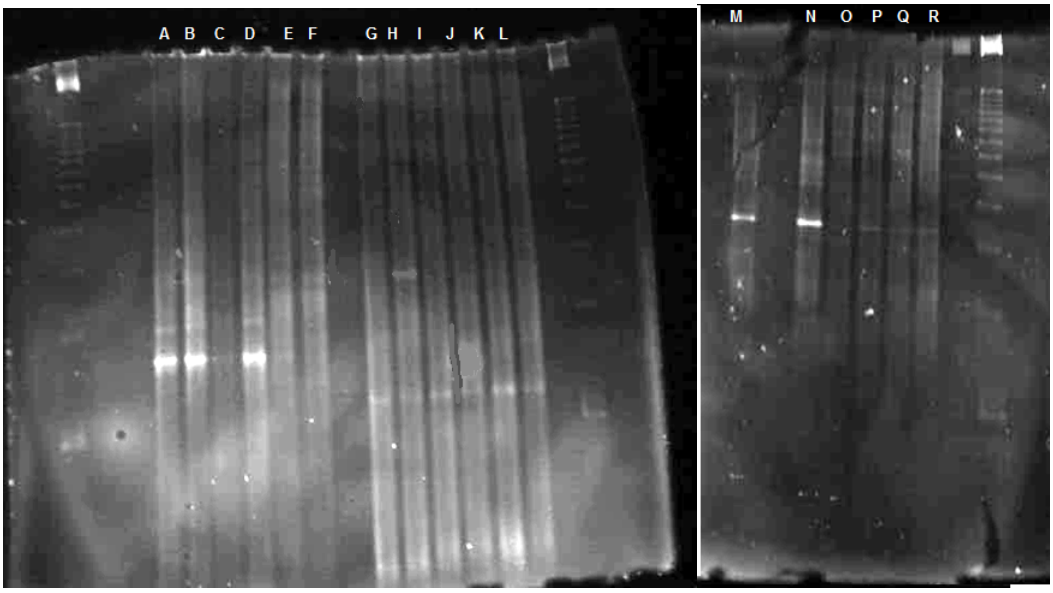
Annexe 10 a

Dénombrement sur boîtes de la suspension mère

Souche	Dilution adéquate au dénombrement	Valeurs obtenues	Moyenne	Concentration bactérienne de la suspension mère
C.jeikeium	10^{-6}	{37, 54, 48}	47	$4,7 \pm 0,8 .10^{8}$ UFC/mL
C.minutisimum	10^{-5}	{160, 184, 165}	170	$1,7 \pm 0,1 .10^{8}$ UFC/mL
S.epidermidis	10^{-6}	{50, 74, 82}	69	$6,9 \pm 0,2 .10^{8}$ UFC/mL

Annexe 10 b

Photographies en couleurs inversées sous UV (exposition 3.000s) de 2 gels de polyacrylamide soumis à une tension de 40V et un gradient de température de 62°C à 66.8°C, 0.2°C/h. appareil Optibiogaz.



Annexe 10 c

Intensité en UA des bandes observées pour les souches pures aux différentes concentration et rapport signal/bruit observé sur la piste

Puit	Souche	Quantité de bactéries déposées	Intensité en unités d'aires arbitraires	Intensité du bruit	Rapport signal sur bruit
A	Corynebacterium minutissimum	$8,5 .10^5$ UFC	3815	65	58,7
B		$8,5 .10^4$ UFC	3873	41	94,5
C		$8,5 .10^3$ UFC	292	57	5,1
D		$8,5 .10^2$ UFC	4667	78	59,8
E		$8,5 .10^1$ UFC	186	51	3,6
F		$8 .10^0$ UFC	102	150	0,7
G	Staphylococcus epidermidis	$3,5 .10^6$ UFC	1213	126	9,6
H		$3,5 .10^5$ UFC	605	61	9,9
I		$3,5 .10^4$ UFC	665	59	11,3
J		$3,5 .10^3$ UFC	734	64	11,5
K		$3,5 .10^2$ UFC	1289	74	17,4
L		$3,5 .10^1$ UFC	487	24	20,3
M	Corynebacterium jeikeium	$2,4 .10^6$ UFC	1387	123	11,3
N		$2,4 .10^5$ UFC	2186	101	21,6
O		$2,4 .10^4$ UFC	208	41	5,1
P		$2,4 .10^3$ UFC	182	35	5,2
Q		$2,4 .10^2$ UFC	45	100	0,5
R		$2,4 .10^1$ UFC	103	38	2,7

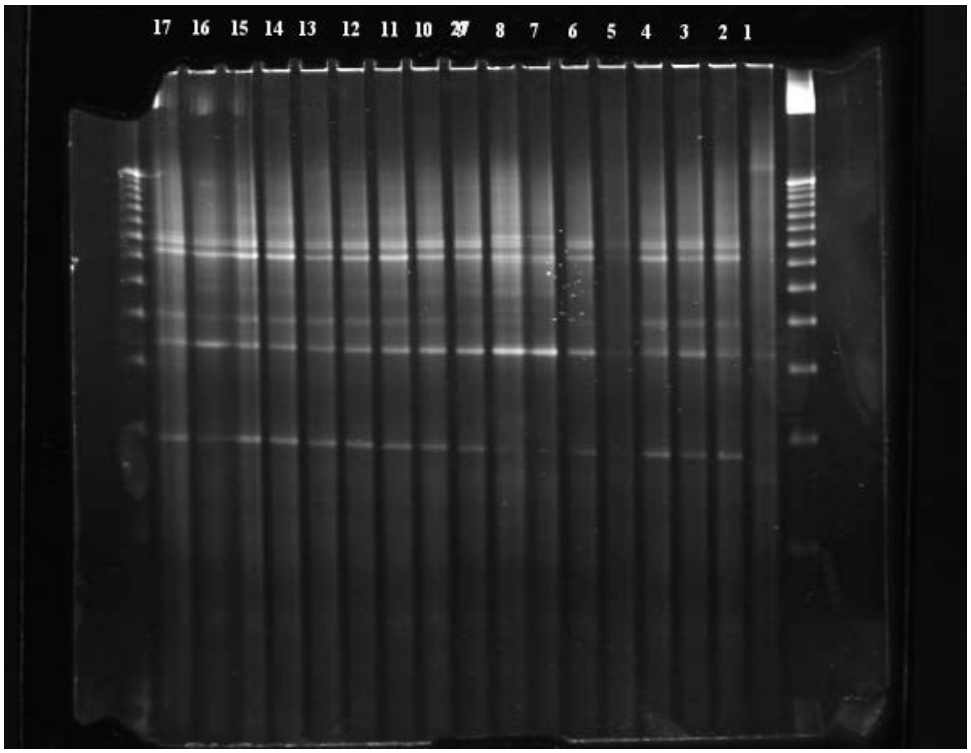
Annexe 11

Gels de TTGE utilisés pour caractériser la flore du sujet (chapitre 4) et les transfert bactériens

Annexe 11 a

Gel de TTGE N°1

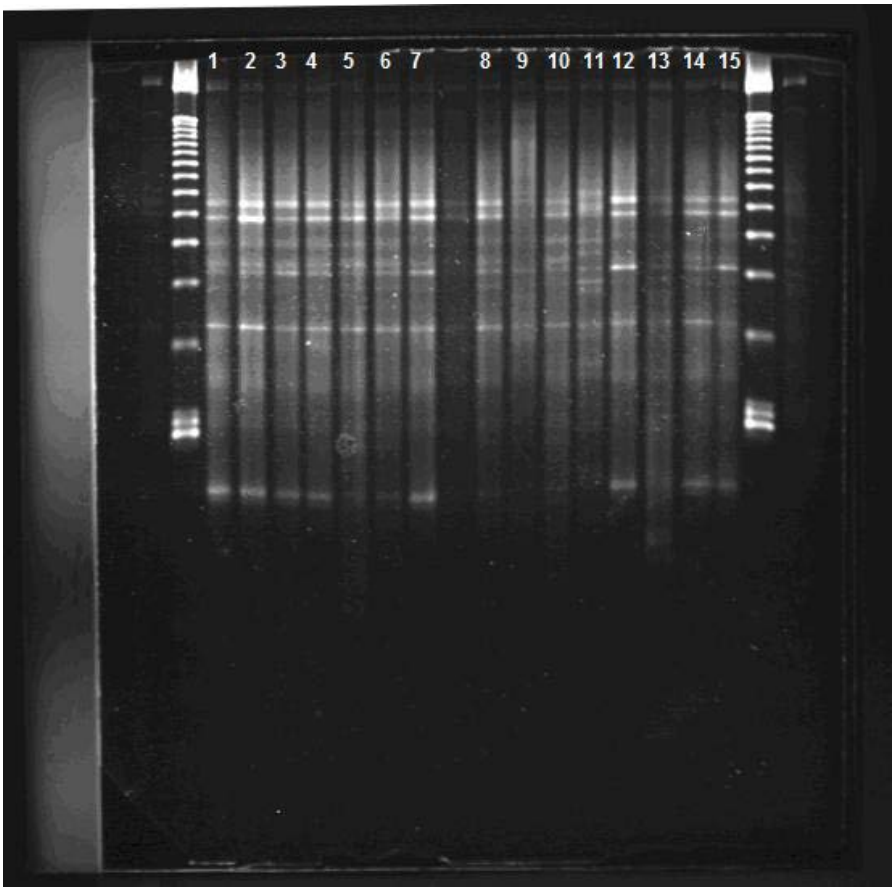
N° de puits	Coté	Date	Localisation
1	Gauche	05/05/2010	PET
2	Gauche	05/05/2010	Aisselle
3	Droite	05/05/2010	PA
4	Droite	05/05/2010	Aisselle
5	Gauche	28/04/2010	Coton
6	Gauche	28/04/2010	Aisselle
7	Gauche	12/04/2010	Aisselle
8	Droite	28/04/2010	Aisselle
9	Gauche	19/04/2010	PA
10	Droite	19/04/2010	Coton
11	Gauche	21/04/2010	PET
12	Droite	21/04/2010	PA6,6-EA
13	Gauche	23/04/2010	Aisselle
14	Gauche	23/04/2010	PA 6 ,6
15	Droite	23/04/2010	Aisselle
16	Droite	23/04/2010	Coton
17	Droite	05/05/2010	PA6,6 EA



Annexe 11 b

Gel de TTGE N°2

N° de puits	Coté	Date de collecte	Localisation
1	Gauche	23/04/2010	Aisselle
2	Gauche	23/04/2010	PA 6,6
3	Droite	28/04/2010	Aisselle
4	Gauche	07/05/2010	Aisselle
5	Gauche	07/05/2010	PA 6,6-EA
6	Droite	05/05/2010	Aisselle
7	Droite	05/05/2010	PA 6,6-EA
8	Gauche	05/05/2010	Aisselle
9	Gauche	05/05/2010	PET
10	Droite	07/05/2010	Aisselle
11	Droite	07/05/2010	PET
12	Gauche	28/04/2010	Aisselle
13	Gauche	28/04/2010	Coton
14	Droite	23/04/2010	Aisselle
15	Droite	23/04/2010	Coton



Annexe 12

Coefficients de corrélation entre les bandes observées sur gels de TTGE et les notes olfactives

Bande n°	PET	PA66	PAEA	coton	coefficient de corrélation
1					
2	39	689	387	677	-0,48
3	50	1065	815	921	-0,55
4	162	154	282	794	-0,77
5	97	1030	504	188	0,17
6'	0	301	219	233	-0,49
7	0	0	0	0	NS
8	0	0	288	0	-0,50
9	29	0	60	93	-0,86
10	55	0	0	0	NS
11	0	0	76	0	NS
12	0	0	0	0	NS
note olfactives	10	8	1	0	

Annexe 13

Chromatogrammes et identification des molécules détectées par indice de Kovatz sur les 8 composants testés dans le chapitre 5

Annexe 13 a : Composant 1

La figure suivante présente les chromatogrammes obtenus pour le composant 1 (100 % PET) à 20 minutes de séchage sur les 2 colonnes.

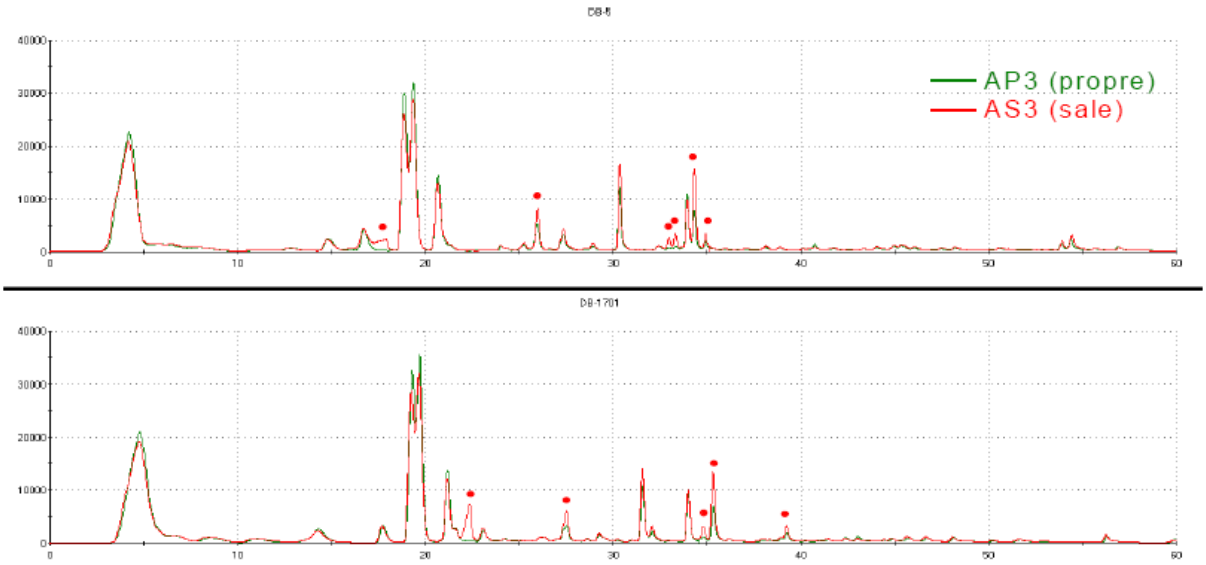


Figure 50 : Chromatogrammes obtenus sur les 2 colonnes chromatographiques (DB 5, apolaire, et DB1701, légèrement polaire).
Le signal du composant 1 (100 % PET) propre est tracé en vert, le signal du composant 1 usagé, séché 20 minutes, est tracé en rouge.

Tableau 48 : Composés chimiques détectés sur le composant 1 identifiés par leurs indices de Kovatz

Tr DB5	Tr DB1701	Ik DB5	Ik DB1701	Identification
17,5	22,2	840	969	Butyrate
21	22,9	896	986	Heptanal
27,6	35,9	1037	1245	Gaïacol
25,9	27,5	995	1088	Octanal
28,8	30,3	1062	1156	2-octènal
30,2	31,5	1097	1193	Nonanal
32,8	33,9	1163	1259	2-nonenal
34,4	35,3	1199	1296	Décanal
36,9	37,8	1273	1372	2-décènal
38,1	38,8	1301	1400	Undécanal
41,6	42,4	1399	1501	Dodécanal

Annexe 13 b : Composant 2

La figure suivante présente les chromatogrammes obtenus pour le composant 2 (100 % PA) à 20 minutes de séchage sur les 2 colonnes.

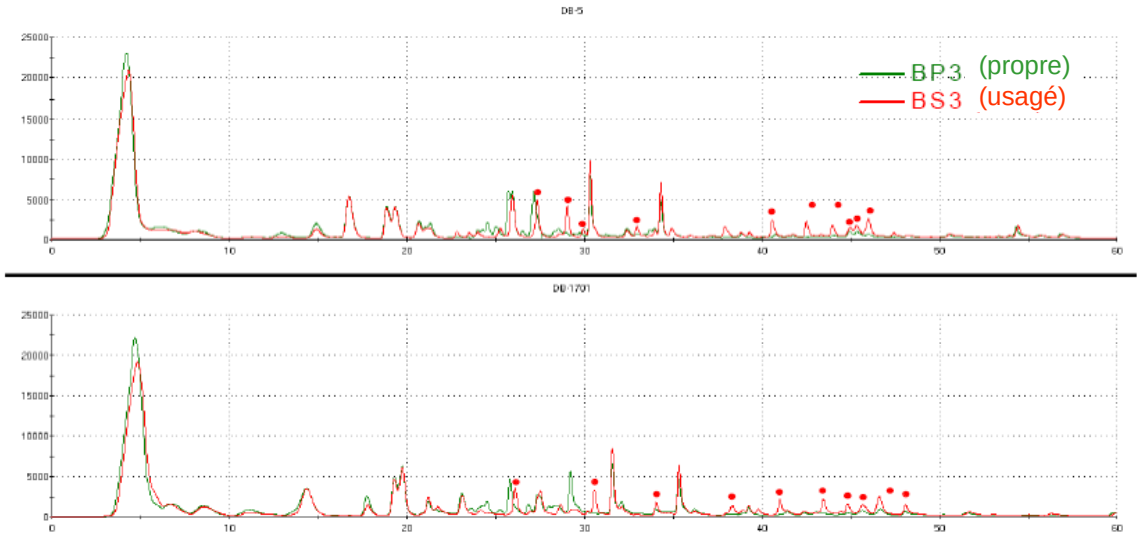


Figure 51 : Chromatogrammes obtenus pour le composant 2 sur les 2 colonnes chromatographiques
Le signal du composant 2 (100 % PA) propre est tracé en vert, le signal du composant 1 usagé, séché 20 minutes, est tracé en rouge

Tableau 49 : Composés chimiques détectés sur le composant 2 identifiés par leurs indices de Kovatz

Tr DB5	Tr DB1701	Ik DB5	Ik DB1701	Identification
22,8	26,1	928	1051	Hexadiènal
27,4	30,5	1024	1163	Heptadiènal
28,8	30,3	1062	1156	2-octènal
20,7	21,2	887	946	Acétate d'isopentyle
34,4	35,3	1199	1296	Décanal
39,3	39,7	1331	1421	Oxodécanal
34	34	1190	1261	Octanoate d'éthyle
38,1	38,8	1301	1400	Undécanal
41,6	42,4	1399	1501	Dodécanal
43,9	44,8	1464	1577	2-dodécènal
40,5	40,9	1367	1458	Méthyldodécanal
45,3	45,7	1512	1607	Tridécanal
44,9	45,6	1495	1602	Méthyltridécanal

Annexe 13 c : Composant 3

La figure suivante présente les chromatogrammes obtenus pour le composant 3 (77 % PA, 23 % EA) à 20 minutes de séchage sur les 2 colonnes.

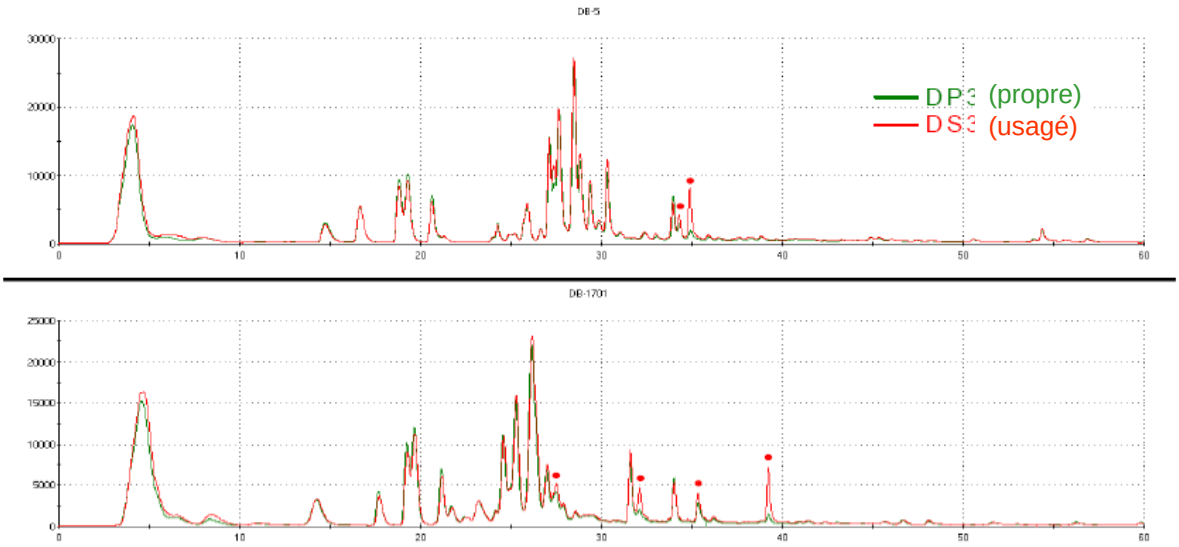


Figure 52 : Chromatogrammes obtenus pour le composant 3 sur les 2 colonnes chromatographiques Le signal du composant 3 (77 % PA, 23 % EA) propre est tracé en vert, le signal du composant 1 usagé, séché 20 minutes, est tracé en rouge.

Tableau 50 : Composés chimiques détectés sur le composant 3 identifiés par leurs indices de Kovatz

Tr DB5	Tr DB1701	Ik DB5	Ik DB1701	Identification
45,3	45,7	1512	1607	Tridécanal
44,9	45,6	1495	1602	Méthyltridécanal

Annexe 13 d : Composant 4

La figure suivante présente les chromatogrammes obtenus pour le composant 4 (100 % coton) à 20 minutes de séchage sur les 2 colonnes.

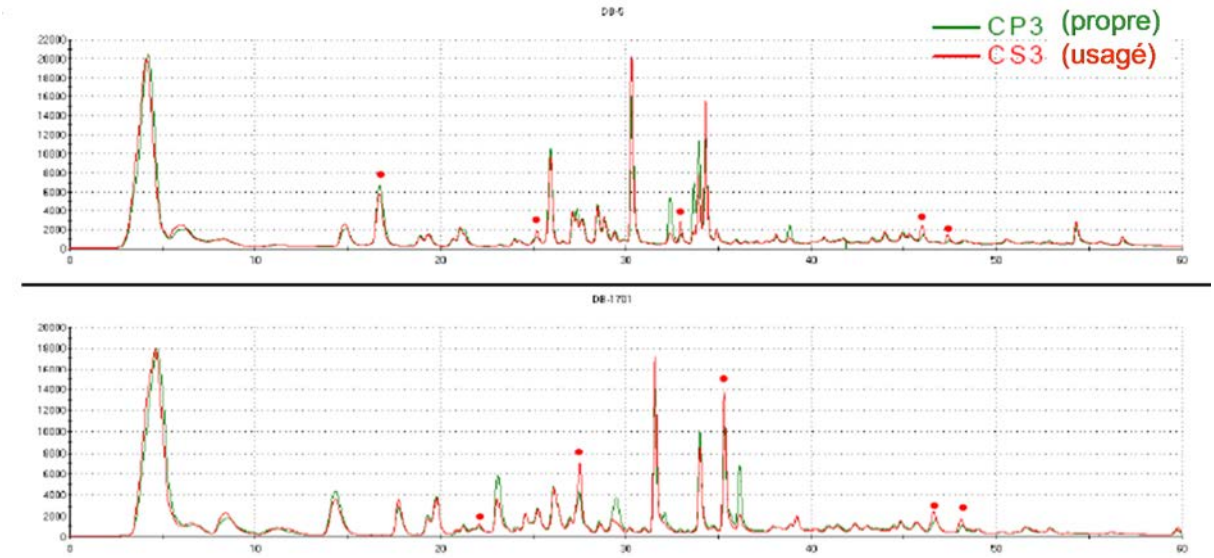


Figure 53 : Chromatogrammes obtenus pour le composant 4 sur les 2 colonnes chromatographiques
Le signal du composant 4 (100 % Coton) propre est tracé en vert, le signal du composant 1 usagé, séché 20 minutes, est tracé en rouge.

Tableau 51 : Composés chimiques détectés sur le composant 4 identifiés par leurs indices de Kovatz

Tr DB5	Tr DB1701	Ik DB5	Ik DB1701	Identification
25,9	27,5	995	1088	Octanal

Annexe 13 e : Composant 5

La figure suivante présente les chromatogrammes obtenus pour le composant 5 à 20 minutes de séchage sur les 2 colonnes.

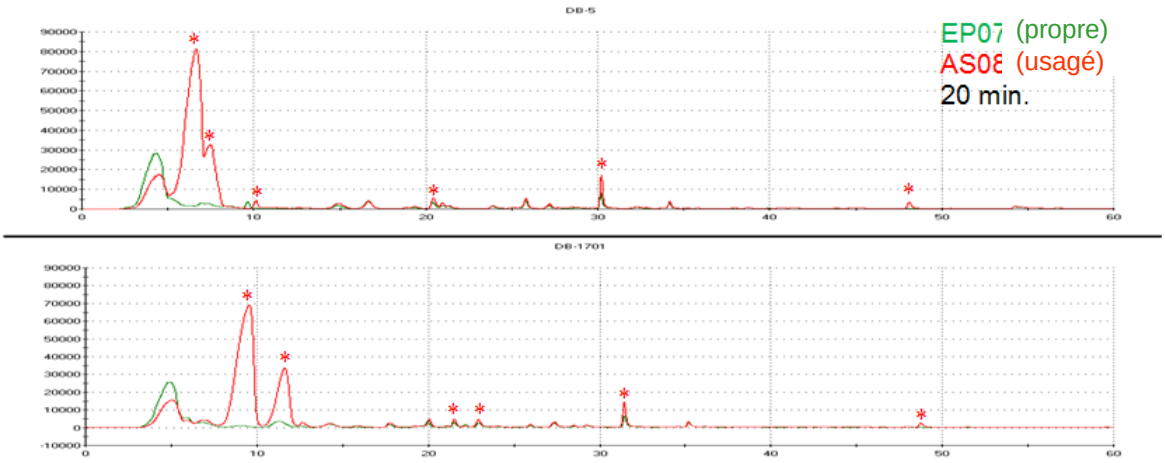


Figure 54 : Chromatogrammes obtenus pour le composant 5 sur les 2 colonnes chromatographiques
Le signal du composant 5 (45 % PET, 55 % PA) propre est tracé en vert, le signal du composant 5 usagé, séché 20 minutes, est tracé en rouge.

Tableau 52 : Composés chimiques détectés sur le composant 5 identifiés par leurs indices de Kovatz

Tr DB5	Tr DB1701	Ik DB5	Ik DB1701	Identification
7,5	11,63	660	782	Butanol
6,6	9,54	632	743	2-méthylpropanol
14,9	17,76	795	885	Hexanal
21	22,9	896	986	Heptanal
20,4	21,52	887	958	Butyrate de propyle
25,9	27,5	995	1088	Octanal
30,2	31,5	1097	1193	Nonanal
32,8	33,9	1163	1259	2-nonenal
34,4	35,3	1199	1296	Décanal
36,9	37,8	1273	1372	2-décènal
38,1	38,8	1301	1400	Undécanal

Annexe 13 f : Composant 6

La figure suivante présente les chromatogrammes obtenus pour le composant 6 à 20 minutes de séchage sur les 2 colonnes.

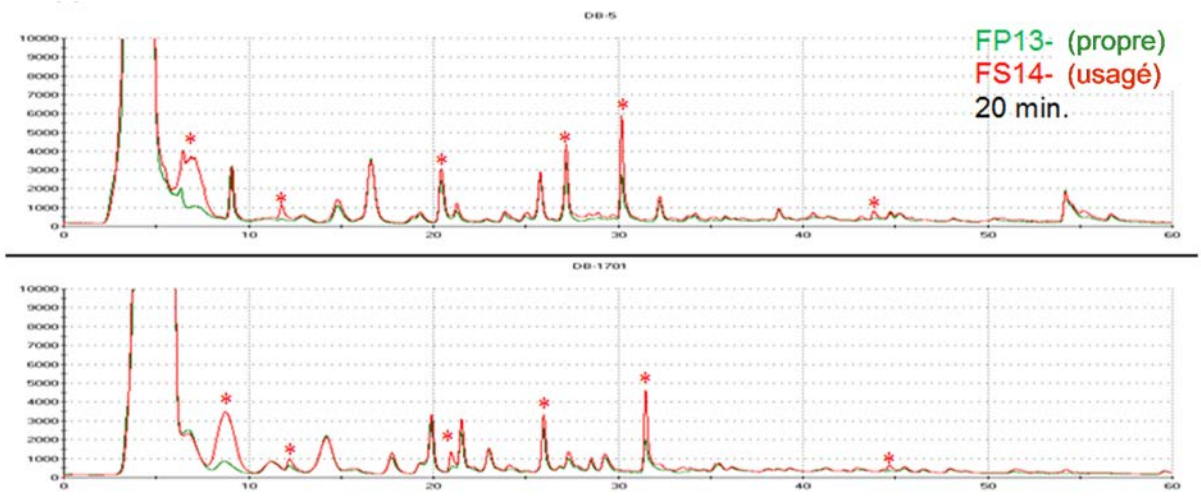


Figure 55 : Chromatogrammes obtenus pour le composant 6 sur les 2 colonnes chromatographiques
Le signal du composant 6 (85 % PET, 15 % EA) propre est tracé en vert, le signal du composant 6 usagé, séché 20 minutes, est tracé en rouge.

Tableau 53 : Composés chimiques détectés sur le composant 6 identifiés par leurs indices de Kovatz

Tr DB5	Tr DB1701	Ik DB5	Ik DB1701	Identification
11,8	12,2	747	792	Sulfure de diméthyle
4,5	5,9	470	641	Triméthylamine
-	21	-	946	1,2-butanediol
20,4	21,52	887	958	Butyrate de propyle
30,2	31,5	1097	1193	Nonanal
34,4	35,3	1199	1296	Décanal
36,9	37,8	1273	1372	2-décènal
34	34	1190	1261	Octanoate d'éthyle
27,2	26	1026	1055	Limonène
45,3	45,7	1512	1607	Tridécanal

Annexe 13 g : Composant 7

La figure suivante présente les chromatogrammes obtenus pour le composant 7 à 20 minutes de séchage sur les 2 colonnes.

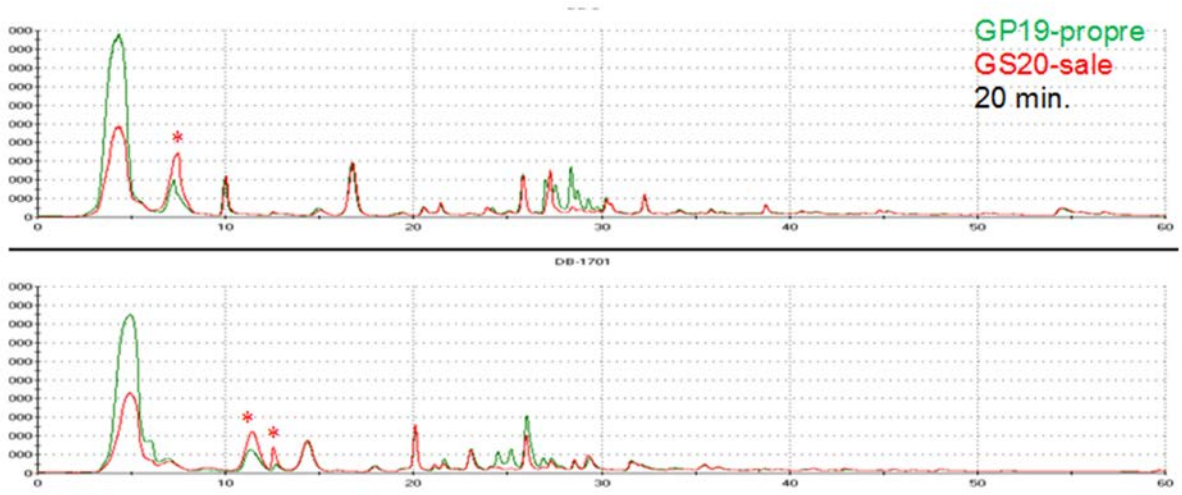


Figure 56 : Chromatogrammes obtenus pour le composant 7 sur les 2 colonnes chromatographiques Le signal du composant 7 (37 % PET, 44 % PA, 22 % EA) propre est tracé en vert, le signal du composant 1 usagé, séché 20 minutes, est tracé en rouge.

Tableau 54 : Composés chimiques détectés sur le composant 7 identifiés par leurs indices de Kovatz

Tr DB5	Tr DB1701	Ik DB5	Ik DB1701	Identification
7,5	11,63	660	782	Butanol
11,08	-	737	-	3-méthylbutanol
30,2	31,5	1097	1193	Nonanal
36,9	37,8	1273	1372	2-décènal

Annexe 13 h : Composant 8

La figure suivante présente les chromatogrammes obtenus pour le composant 8 à 20 minutes de séchage sur les 2 colonnes.

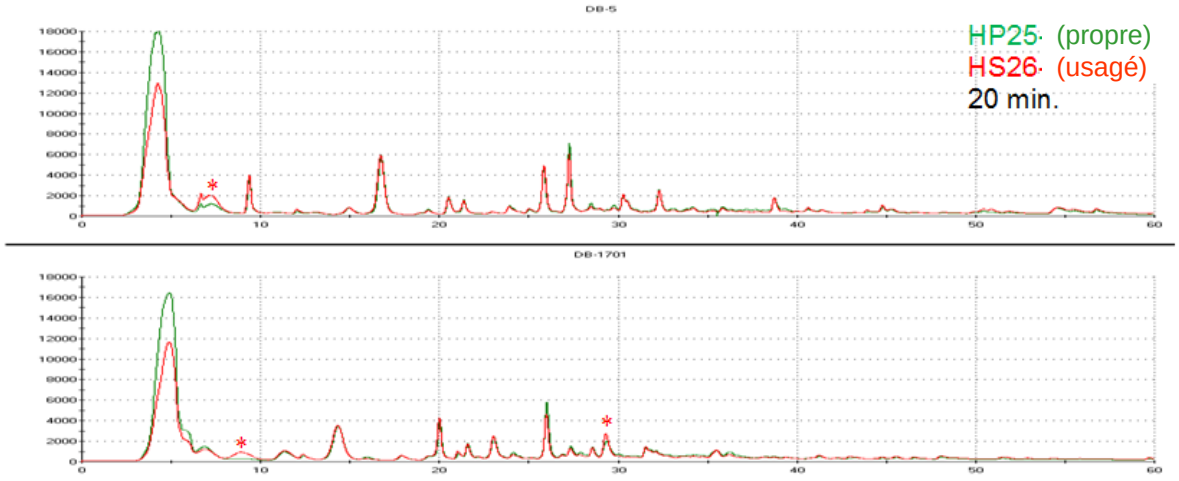


Figure 57 Chromatogrammes obtenus pour le composant 8 sur les 2 colonnes chromatographiques
Le signal du composant 8 (78 PET, 22 % EA) propre est tracé en vert, le signal du composant 1 usagé, séché 20 minutes, est tracé en rouge.

Tableau 55 : Composés chimiques détectés sur le composant 8 identifiés par leurs indices de Kovatz

Tr DB5	Tr DB1701	Ik DB5	Ik DB1701	Identification
11,8	12,2	747	792	Sulfure de diméthyle
7,1	8,9	645	732	3-méthylbutanal
30,2	31,5	1097	1193	Nonanal
34,4	35,3	1199	1296	Décanal
36,9	37,8	1273	1372	2-décènal

Annexe 14

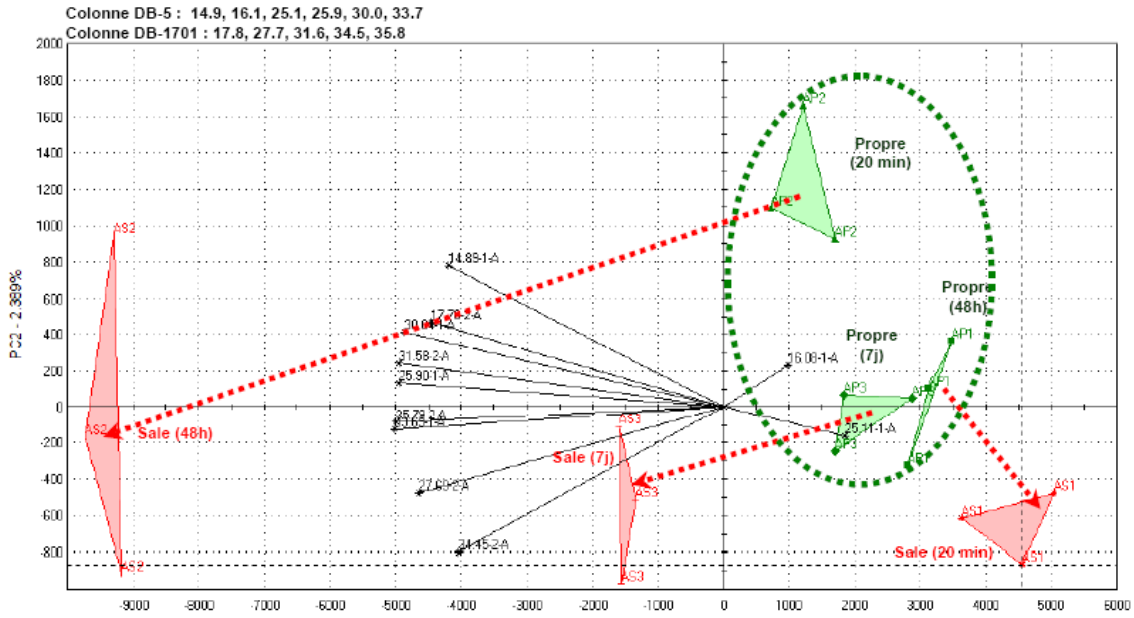
Récapitulatif des molécules détectées sur les 8 composants testés

		Composant 1	Composant 2	Composant 3	Composant 4	Composant 5	Composant 6	Composant 7	Composant 8
	PET	100	0	0	0	45	85	37	78
	PA 6,6	0	100	77	0	0	0	0	0
	PA	0	0	0	0	55	0	44	0
	EA	0	0	23	0	0	15	22	22
	coton	0	0	0	100	0	0	0	0
nb C	**Composé identifié**								
2	Diméthylsulfide						X		X
3	Triméthylamine						X		
4	Butyrate	X							
4	Butanol					X		X	
5	3-méthylbutanol							X	
5	3-méthylbutanal								X
4	2-méthylpropanol					X			
4	1,2-butanediol						X		
6	Hexanal					X			
6	Hexadiènal		X						
6	Guaïacol	X							
7	Heptanal	X				X			
7	Heptadiènal		X						
7	Butyrate de propyle					X	X		
8	Octanal	X			X	X			
8	2-octènal	X	X						
8	Acétate d'isopentyle		X						
9	Nonanal	X				X	X	X	X
9	2-nonenal	X				X			
10	Décanal	X	X			X	X		X
10	2-décènal	X				X	X	X	X
10	Oxodécanal		x						
11	Undécanal	X	X			X			
12	Dodécanal	X	x						
12	2-dodécènal		X						
13	Méthyldodécanal		X						
13	Tridécanal		X	X			X		
14	Méthyltridécanal		X	X					
10	Octanoate d'éthyle		X				X		
10	Limonène						X		
//	Aldéhyde inconnu		X (3)		X (2)	X	X (1)		
//	Autre inconnu		X (4)			X	X (3)	(X) 6	X (3)

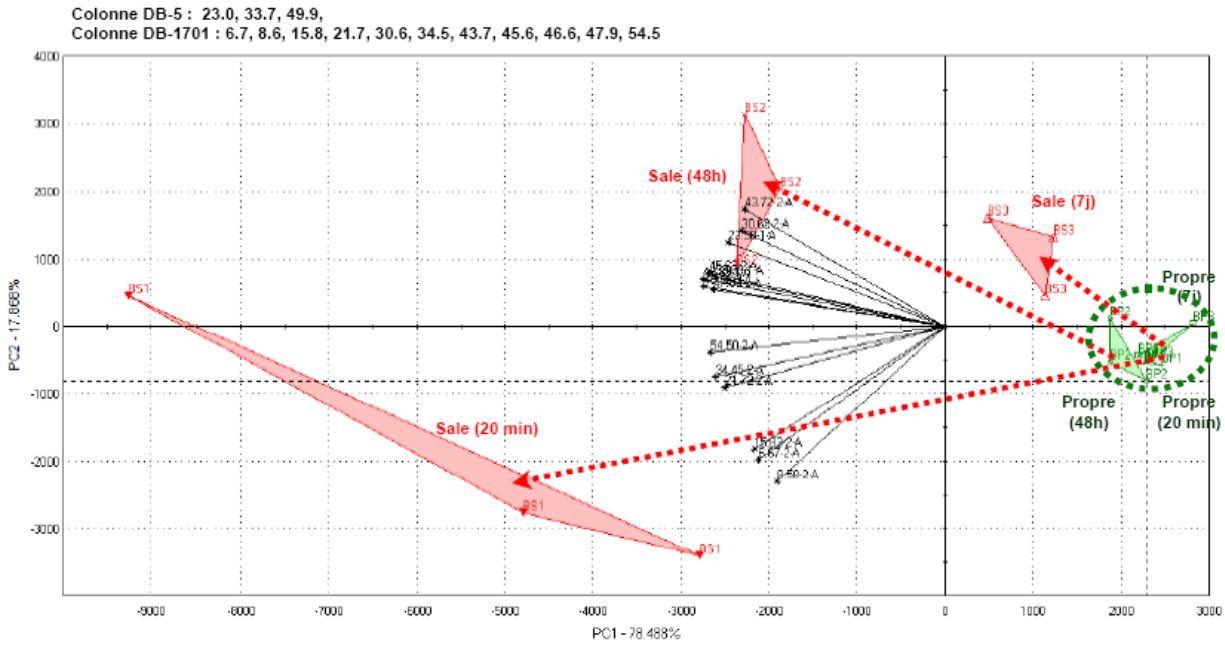
Annexe 15

Résultats des ACP réalisés sur les 8 composants testés

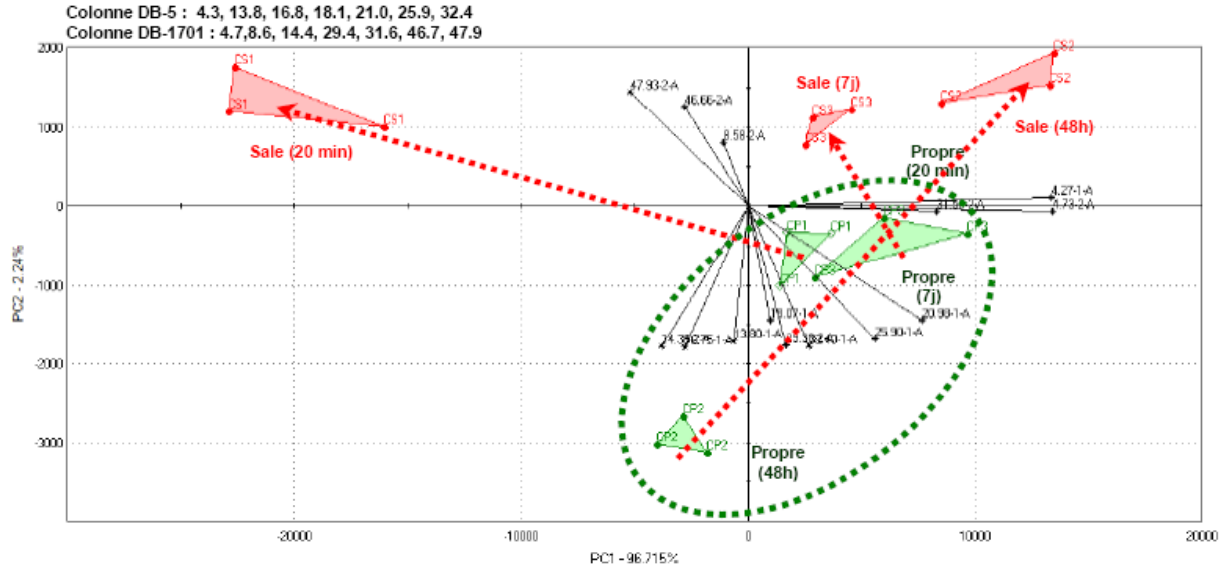
Annexe 15 a : Carte olfactive du composant 1



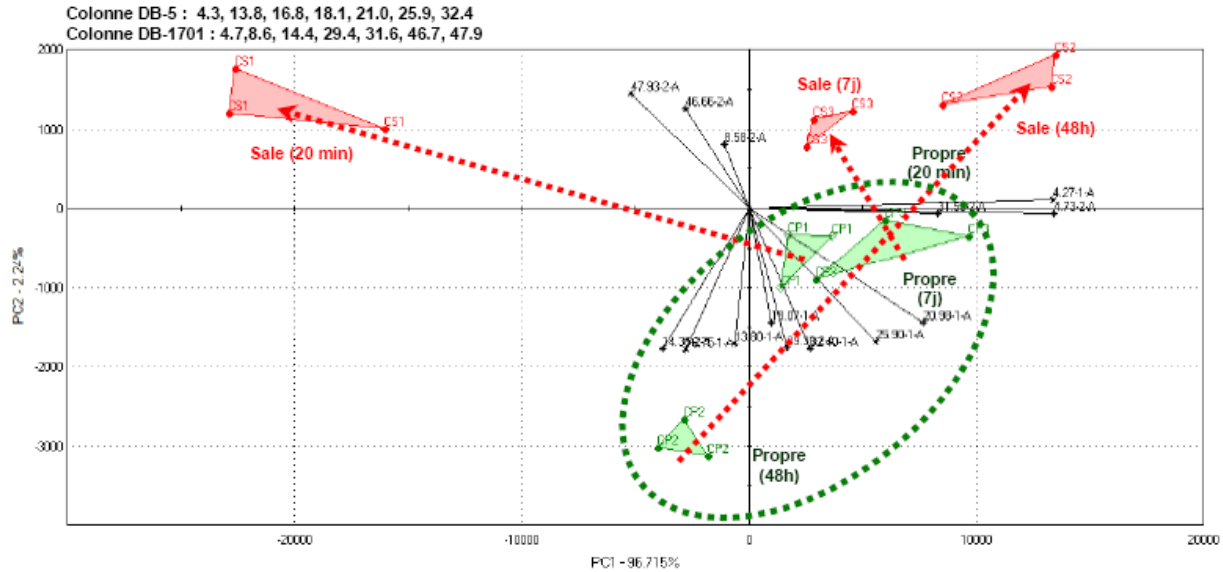
Annexe 15 b : Carte olfactive du composant 2



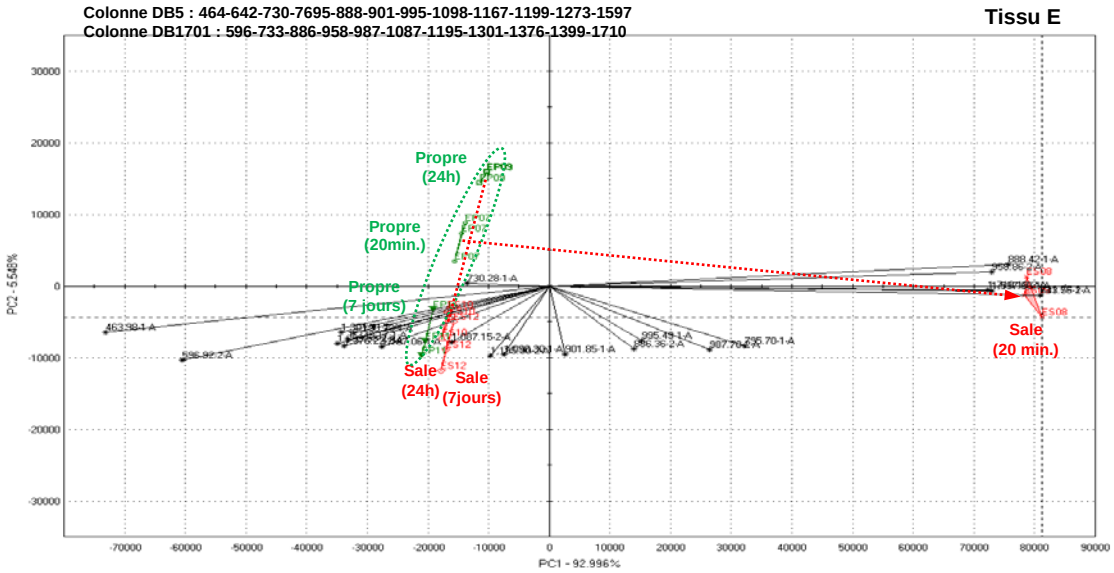
Annexe 15 c : Carte olfactive du composant 3



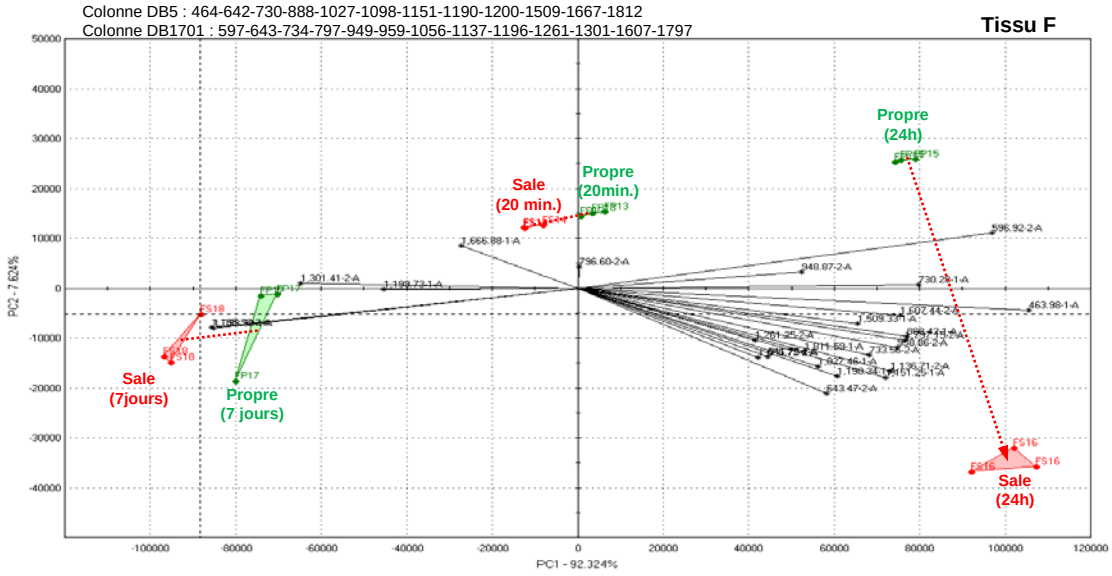
Annexe 15 d : Carte olfactive du composant 4



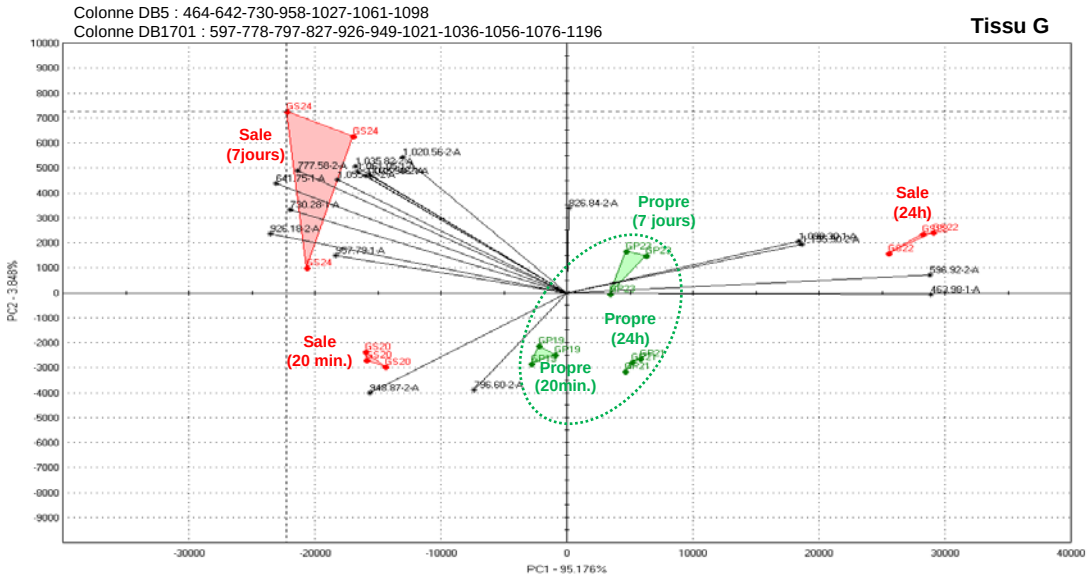
Annexe 15 e : Carte olfactive du composant 5



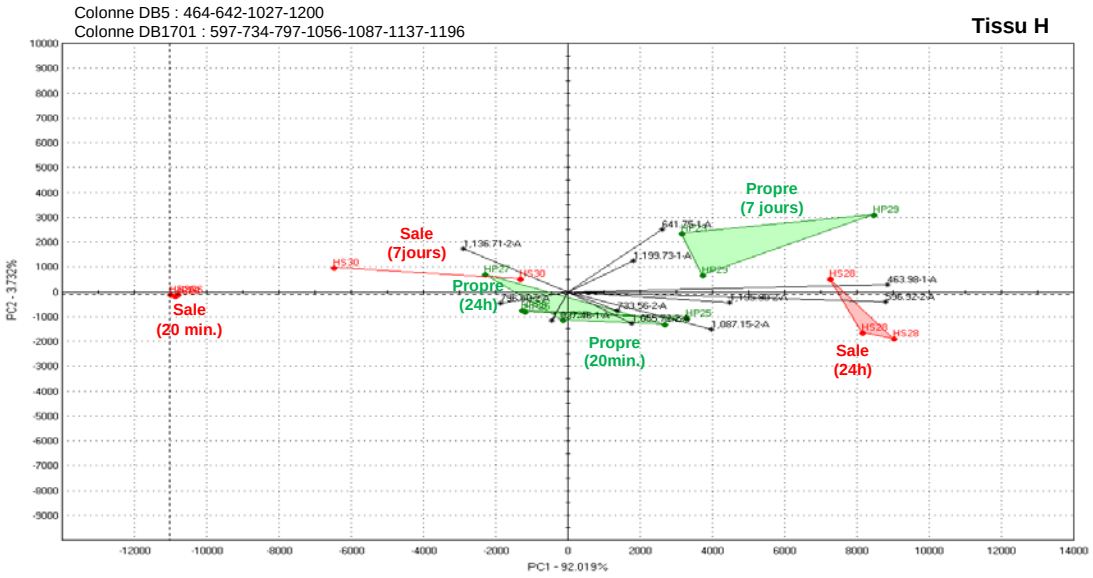
Annexe 15 f : Carte olfactive du composant 6



Annexe 15 g : Carte olfactive du composant 7



Annexe 15 h : Carte olfactive du composant 8



TITRE :

ETUDE DE LA PRODUCTION ET DE L'EMANATION DE COMPOS2S VOLATILS MALODORANTS SUR TEXTILE A USAGE SPORTIF

RESUME :

Si la sueur fraîchement émise par le corps humain est inodore, la dégradation de celle-ci par la flore bactérienne cutanée produit des composés volatils malodorants, responsables des odeurs de transpiration. Les odeurs de transpiration apparaissent également sur les vêtements au cours de leur utilisation, particulièrement sur les textiles réalisés en fibres synthétiques. Ce travail a pour but d'améliorer la compréhension du phénomène d'émanation d'odeurs en étudiant l'effet du sujet testé, l'effet de la flore bactérienne et l'effet du textile sur les émissions de composés volatils malodorants.

L'intérêt de ce travail réside dans l'approche globale de la problématique des odeurs de transpiration et dans la diversité des méthodes de mesure mises en place, tant dans l'étude de la flore microbiologique que dans les méthodes de mesures des composés odorants émis.

Dans un premier temps, le dénombrement simultané de la flore bactérienne sur la peau et sur le vêtement a été réalisé sur un échantillon de 15 sujets à l'issue d'un exercice physique. Cette expérimentation a permis d'évaluer le taux de transfert bactérien moyen lors d'une activité sportive et d'étudier son rôle dans l'émission d'odeurs.

Ensuite, afin d'affiner ces résultats, une méthode basée sur la biologie moléculaire a été mise en place pour réaliser le suivi qualitatif de la stabilité de la flore commensale axillaire d'un sujet pendant 3 mois. Le transfert bactérien spécifique entre la peau du testeur et le vêtement a été étudié pour 4 matières textiles sélectionnées (dont le coton et le PET). Ceci a permis de déterminer le rôle du transfert bactérien spécifique dans l'émission des odeurs à partir de textile.

Enfin, le dernier chapitre est consacré à l'étude de l'émission de composés volatils et odorants à l'aide de mesures olfactives et d'un nez électronique au cours du temps par 8 composants

textiles sélectionnés. Après traitement statistique par analyse en composante principale et étude détaillée des mesures, 9 composés chimiques ont été identifiés comme indicateurs d'un comportement textile malodorant. Ces derniers pourraient être utilisés dans la mise en place d'une méthode ciblée de mesure physico-chimique des mauvaises odeurs.

Ce travail a permis de déterminer l'impact de chacun des facteurs sujet, flore bactérienne et textile dans l'émission d'odeurs. En outre, ce travail ouvre des perspectives sur l'étude des contaminations bactériennes par contact, mais également dans l'étude des odeurs, sur les phénomènes de désorption de molécules volatiles à partir de différentes matrices textiles et sur les solutions pouvant être envisagées pour limiter les émissions odorantes à partir de textiles.

Mots-clés : Flore bactérienne, contamination bactérienne, fermentation, transpiration, peau, aisselle, odeurs, composés organiques volatils, COV, textile, tricot, fibres synthétiques, PET, PA, EA, coton, transfert, sport, activité sportive, ADNr16s, TTGE, panel sensoriel, GC-MS, GC-FID, nez électronique, analyse de variance, ANOVA, analyse en composante principale, ACP

TITLE :

PRODUCTION AND EMISSION OF MALODOROUS COMPOUNDS ON TEXTILE FOR SPORT

SUMMARY :

Fresh human sweat is odorless. Odoriferous volatile compounds are produced by the metabolism of bacteria living on the skin, generating strong malodor. Sweaty body odors do also appear on clothes during use, and especially on synthetic fabrics. The aim of this document is to improve understanding of odor emission by investigating subject effect, microbiota effect and fabric effect on the emission of odoriferous volatile compounds.

Odors of perspiration are hereby globally approached with a wide use of methods and experimental devices, for microbial flora study as well as for odoriferous volatile compounds emission study.

First, microflora enumeration has been simultaneously processed on the skin and on the fabric after exercise for 15 subjects. This experiment allowed an evaluation of the average bacterial transfer yield during physical activity and the beginning of the investigation of its effect on odor emission.

A molecular biology methodology has then been developed in order to refine these results. Monitoring of qualitative composition of the microbiota has been performed to study the stability of the armpit's ecosystem on a subject during 3 months. Specific microbial transfer from subject's skin to clothe has been performed for 4 textile fabrics (including cotton and PET). This leaded to characterize the effect of specific bacterial transfer on odor emission from fabric.

The last chapter is dedicated to the study of the emission of odoriferous volatile compounds over time using olfactory measurements and electronic nose for 8 selected fabrics. Principal component analysis targeted 9 chemical compounds that have been selected as malodorous

behavior indicators for a given fabric. Those 9 compounds could be used for setting up a fitted physicochemical method of malodor.

To conclude, this study helped to understand the effect of 3 factors in odor perception from a fabric after sport : subject, microbial flora and fabric. Perspectives have been charted on contact microbial contamination, but also on odor, and especially on desorption of odoriferous volatile molecules from a textile or knitted matrix. The solutions that could be used to limit malodorous emission from fabrics have also been discussed.

Keys words : Microbiota, microbiome, bacterial contamination, fermentation, sweat, sweating, perspiration, armpit, odors, odoriferous volatile compounds, human body odors, HBO, volatile organic compounds, VOC, textile, knit, synthetic fibers, PE, PA, EA, cotton, transfer, sport, ADNr16s, TTGE, sensory panel, GC-MS, GC-FID, E-nose, electronic nose, variance analysis, ANOVA, principal component analysis, PCA

Nancy-Université
INPL

AUTORISATION DE SOUTENANCE DE THESE DU DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

o0o

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :
Monsieur Hervé PREVOST, Professeur, ENITIAA/ENV, Nantes

Madame Laurence SCHACHER, Professeur, ENSISA, Mulhouse

Le Président de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, autorise :

Madame LÉAL Françoise

à soutenir devant un jury de l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE, une thèse intitulée :

« Etude de la production et de l'émanation de composés volatils malodorants sur textile à usage sportif »

en vue de l'obtention du titre de :

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Intitulé du doctorat : « **Procédés Biotechnologiques et Alimentaires**»

Fait à Vandoeuvre, le 25 octobre 2011
Le Président de l'I.N.P.L.,
F. LAURENT

Pour le Président par délégation
Le Directeur Général des Services
de l'INPL,

J.Y. RIVIERE

INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE – NANCY –

LE DEVELOPPEMENT DURABLE c'est aussi notre culture

Institut National Polytechnique de Lorraine
inpl@inpl-nancy.fr | www.inpl-nancy.fr

2 av. de la Forêt de Haye | BP 3
54501 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex
FRANCE
Tél. : +33(0)3 83 59 59 59
Fax : +33(0)3 83 59 59 55