



HAL
open science

Transport d'une suspension active de bactéries en milieu confiné

Axel Klein

► **To cite this version:**

Axel Klein. Transport d'une suspension active de bactéries en milieu confiné. Mécanique des fluides [physics.class-ph]. Université de Lorraine, 2021. Français. NNT : 2021LORR0137 . tel-03378189

HAL Id: tel-03378189

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-03378189v1>

Submitted on 14 Oct 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



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>



École doctorale SIMPPÉ : Sciences et Ingénierie des Molécules des Produits des Procédés et de l'Énergie

THÈSE

pour l'obtention du grade de

Docteur de l'Université de Lorraine

Spécialité : Mécanique et Énergie

Transport d'une suspension active de bactéries en milieu confiné

Soutenu le 9 Juillet 2021 par

Axel KLEIN

Membres du jury

Rapporteurs	Cécile COTTIN-BIZONNE Hamid KELLAY	Directrice de recherche, IML, Université de Lyon Professeur, LOMA, Université de Bordeaux
Examineurs	Carine DOUARCHE Claire GAIANI	Professeure associée, FAST, Université Paris Sud Professeure, LIBio, Université de Lorraine
Directeur de Thèse	Mathieu JENNY	Maitre de Conférences, LEMTA, Université de Lorraine
Co-directeur de thèse	Nicolas LOUVET	Maitre de conférences, LEMTA, Université de Lorraine
Invité	Frédéric Borges	Maitre de Conférences, LIBio, Université de Lorraine

Remerciements

Mes premiers remerciements vont naturellement à Mathieu Jenny et Nicolas Louvet, respectivement directeur et co-directeur de thèse, de m'avoir accordé leur confiance pour la réalisation de cette thèse.

Je tiens particulièrement à te remercier, Nicolas, pour le soutien scientifique que tu m'as apporté au cours de ces dernières années. Du stage de Master jusqu'à la rédaction du manuscrit et la soutenance de thèse, ta pédagogie et tes nombreux conseils n'ont été que positifs pour moi. Je tiens encore plus à te remercier pour le soutien psychologique ; ta bonne humeur est contagieuse et tu as toujours su trouver les mots justes pour me remonter le moral dans les moments les plus compliqués.

Je suis reconnaissant envers Cécile Cottin-Bizonne et Hamid Kellay d'avoir accepté de rapporter mon travail avec tant de remarques constructives. Un grand merci à Carine Douarche et Claire Gaiani, examinatrices, avec qui j'ai apprécié les échanges pertinents et fructueux lors de la soutenance de thèse.

Je tiens à remercier Anne-Marie Revol-Junelles, directrice du laboratoire LIBio, de m'avoir permis de procéder aux cultures bactériennes au sein de son établissement. Je remercie dans son ensemble toutes les personnes que j'ai pu y croiser et je pense notamment à Annelore, Sylvie, Myriam, Cécile et Alexis. J'ai adoré travailler à vos côtés, vous m'avez tous accueilli chaleureusement et vous avez toujours été là pour répondre à mes questions (souvent autour de la centrifugeuse). Je n'oublierai jamais ces échanges enrichissants et joyeux du vendredi matin avant cette période de covid. Merci à vous.

Il m'est évidemment inconcevable de ne pas te remercier, Frédéric Borges, pour tout le temps que tu m'as consacré et les conseils prodigués. Sans toi rien de tout cela n'aurait été possible.

Je remercie également les équipes administratives et techniques du LEMTA sans qui le bon déroulement d'une thèse est difficile. Je pense notamment à Simon Becker avec qui j'ai pu échangé, entre autres, de nombreuses discussions autour de la PIV et de l'holographie. Ton investissement et ton savoir-faire sont remarquables.

Une pensée pour tous les (ex)doctorants et post-doctorants que j'ai pu rencontrer. Vous êtes nombreux avec qui j'ai passé de très bons moments et qui ont égayé mon séjour au LEMTA. En commençant par les plus anciens, mes amis, Morgan, Max, Mathilde, Juan-Da et Giuseppe. Vous êtes maintenant un peu éparpillés en France mais j'attends

avec impatience nos retrouvailles autour d'un verre.

Un grand merci à tous ceux ayant fait partie de ma promotion, le couple de barbus musclés Mehdi & Lucas, Julian, Anas, Romain, Mylène, Arthur et Alexandre. Merci à Arthur dont l'humeur Brésilienne fait chaud au cœur.

Merci finalement à mes trois collègues de bureau, Rémi, Feryal et Zarina, qui ont su apporter un vent de fraîcheur et de bonne humeur pour me soutenir lors de cette dernière année de thèse. Je vous souhaite le meilleur pour la suite.

Je ne peux continuer ces remerciements sans citer, évidemment, la crème de la crème, mes amis de longue date. On s'est rencontré au lycée et depuis on ne se quitte plus. Je ne le montre peut-être pas toujours mais vous êtes mon moteur, des personnes inestimables. Je pourrai écrire une thèse sur chacun d'entre vous, vous êtes tellement complexes et riches à votre façon. Beaucoup trop de choses à raconter, beaucoup de choses vécues et encore beaucoup d'autres à vivre. Gautier, François, Antho (bon ok nous on s'est connu en maternelle), Alex et Aywerick (?) je vous adore.

Et il y a toi, Lucas, mon meilleur ami. Dès notre première rencontre à l'IUT ça a fait mouche (ou WoW plutôt). Je déborde de souvenirs avec toi, des rires encore et encore et puis un peu de vaisselle parfois. Des moments inoubliables entre les Ardennes et l'Allemagne, la Moselle et les Alpes. Notre suprématie légitime au Cranium, Garou, les CV, le jeu de PS3 ; bref la liste est longue et tu l'auras compris, je suis heureux de t'avoir dans ma vie.

Je remercie du fond du cœur mes parents, Brigitte et Thierry, pour tout ce que vous m'avez inculqué, c'est à vous que je dois ce travail de thèse. Vous avez toujours été là, vous vous êtes tellement investi pour vous assurer que je ne manque jamais de rien. Vous êtes en or. Je vous aime.

Un gros merci à ma petite sœur Marie, toi aussi je t'aime !

Et toujours une pensée pour toi, Papi.

Je vais conclure ces remerciements par toi, Marion. Tu me remplis de bonheur, je suis fier et heureux de partager ma vie avec toi. Tu m'as supporté durant la rédaction du manuscrit et je sais que ça n'a pas été chose facile. Tu me rends juste meilleur chaque jour. Merci.

TABLE DES MATIÈRES

Table des figures	4
Introduction	5
1 État de l'art	9
1.1 La bactérie <i>Escherichia coli</i>	10
1.1.1 Généralités	10
1.1.2 Nage aux faibles nombres de Reynolds	12
1.1.2.1 Approche mécanistique	12
1.1.2.2 Approche statistique	15
1.2 Dynamique de nage en écoulement cisailé	17
1.2.1 À l'échelle de la bactérie	19
1.2.1.1 Rhéotaxie	19
1.2.1.2 Nage aux parois	20
1.2.1.3 Accumulation aux surfaces	23
1.2.2 À l'échelle de la suspension	25
1.2.2.1 Les mouvements collectifs	25
1.2.2.2 La rhéologie active	26
1.3 Positionnement de l'étude	28
2 Dispositif expérimental et caractérisation de l'écoulement	29
2.1 Le banc expérimental	30
2.1.1 Cellule microfluidique et contrôle de l'écoulement	30
2.1.2 Erreurs et incertitudes de mesure	32
2.1.2.1 Imprécisions sur le gradient de pression imposé	32
2.1.2.2 Variation temporelle du gradient de pression hydrostatique	33
2.2 La Vélocimétrie par Tracking de Particules (PTV)	35
2.2.1 Principe	35
2.2.2 Choix des traceurs	36
2.2.3 Mesure de vitesse en capillaire	37

2.2.4	Traitement d'images et suivi Lagrangien de particules	37
2.2.5	Courbe d'écoulement locale	39
2.3	Rhéologie locale du milieu de mobilité et validation	41
3	Dynamique de nage à l'équilibre	45
3.1	Préparation de la suspension	46
3.1.1	La culture d' <i>E. coli</i>	46
3.1.2	Le milieu de mobilité	47
3.1.3	Détermination de la fraction volumique bactérienne	48
3.2	Propriétés de nage	50
3.2.1	Le tracking	50
3.2.1.1	Reconstruction de trajectoires	50
3.2.1.2	Mesures de vitesses	52
3.2.1.3	Dynamique bactérienne	54
3.2.2	La Microscopie Dynamique Différentielle	60
3.2.2.1	Principe	60
3.2.2.2	Cas de colloïdes et validation de la méthode	62
3.2.2.3	Dynamique bactérienne	64
3.2.3	Tracking et/ou DDM? : Discussions	67
4	Dynamique bactérienne sous cisaillement	71
4.1	Introduction	72
4.2	Une zoologie de trajectoires	75
4.2.1	Traitements de données et analyse de trajectoires	75
4.2.2	Classification des trajectoires	75
4.2.2.1	À la paroi	76
4.2.2.2	Loin des parois	79
4.3	Transport bactérien	82
4.3.1	Dans la direction orthogonale à l'écoulement	83
4.3.2	Dans la direction longitudinale à l'écoulement	88
4.4	Distribution bactérienne	92
4.4.1	À l'équilibre	93
4.4.2	En écoulement	97
	Conclusion	103
	Bibliographie	107

TABLE DES FIGURES

1.1	Schéma de la bactérie <i>Escherichia coli</i>	10
1.2	Schéma descriptif du processus de nage de run & tumble.	11
1.3	Schéma d'un flagelle.	12
1.4	La chiralité à l'origine de la propulsion : conséquence de l'anisotropie de la trainée.	13
1.5	Champ de vitesse moyen créé par une bactérie en mouvement.	14
1.6	Distribution des angles de réorientation lors d'un tumble.	16
1.7	Schéma descriptif des orbites de Jeffery.	18
1.8	Schéma descriptif d'une particule active sous écoulement de Poiseuille.	18
1.9	Mécanismes physiques responsables de la rhéotaxie.	20
1.10	<i>E. coli</i> décrit des trajectoires circulaires aux parois.	21
1.11	Effets du cisaillement sur la dynamique de nage d' <i>E. coli</i> à la paroi.	22
1.12	Profil de concentration d'une suspension d' <i>E. coli</i> entre deux plaques parallèles.	23
1.13	Distribution spatiale des vitesses obtenue par μ -PIV pour une suspension d' <i>E. coli</i> à $\phi = 8\%$	26
1.14	Comportement rhéologique d'une suspension d' <i>E. coli</i>	27
2.1	Photo du banc expérimental.	30
2.2	Photo d'un capillaire en verre collé sur une plaque de support de microscope.	31
2.3	Schéma du dispositif expérimental.	32
2.4	Champ de vitesses 3D d'un écoulement d'eau dans un capillaire rectangulaire.	34

2.5	Évolution de l'erreur $\Delta H(t)/\Delta H_0$ au cours du temps sur le ΔP imposé initialement.	35
2.6	Schéma de la mesure de vitesses en capillaire et plan de mesure isovitesse.	38
2.7	Étapes du traitement d'images.	38
2.8	Profils de vitesse expérimentaux du milieu de mobilité.	42
2.9	Rhéogramme du milieu de mobilité.	43
3.1	Croissance de la bactérie <i>Escherichia coli</i> et distribution de taille avant et après incubation.	48
3.2	Évolution de la fraction volumique ϕ en fonction de l'absorbance.	49
3.3	Traitement d'images réalisé sur le logiciel ImageJ.	51
3.4	Trajectoires typiques de la bactérie <i>Escherichia coli</i> ATCC9637 motile et non-motile.	52
3.5	Histogrammes des vitesses instantanées avant et après traitement d'images.	53
3.6	Impact du choix du pas de temps sur le calcul des vitesses moyennes.	54
3.7	Schéma illustrant la décorrélation de l'orientation.	55
3.8	Fonction d'autocorrélation des orientations et densité de probabilité des orientations.	56
3.9	Déplacement quadratique moyen.	57
3.10	Schéma indiquant la détection des réorientations sur la longueur de la trajectoire.	58
3.11	Le tumble responsable d'une brusque variation de la vitesse instantanée et de l'angle de nage.	59
3.12	Fluctuations d'intensités $D(\mathbf{p}, \Delta t)$ à différents pas de temps.	61
3.13	DICF et ISF pour une suspension colloïdale.	63
3.14	Bruit et paramètre de forme extrait de l'ajustement de la DICF.	63
3.15	DICF et ISF pour la suspension d' <i>Escherichia coli</i>	64
3.16	Représentation des résultats expérimentaux de l'ISF avec mise à l'échelle des axes.	66
3.17	Fraction de bactéries motiles α , vitesse moyenne v_0 , variance σ et coefficient de diffusion de bactéries non-motiles D^* en fonction de q	66

4.1	Schéma récapitulatif d' <i>E. coli</i> sous un écoulement de Poiseuille.	72
4.2	Time-lapse de trajectoires bactériennes en paroi et dans le volume à différents Pe_s et Pe_f	74
4.3	Schéma d'une trajectoire bactérienne.	75
4.4	Évolution du taux de trajectoires par catégories en fonction du Pe_f en proche paroi pour différents Pe_s	76
4.5	Tracé de trajectoires à la paroi pour différents Pe_f à $Pe_s = 1.6$	78
4.6	Évolution du taux de trajectoires par catégories en fonction du Pe_f au centre du canal pour différents Pe_s	80
4.7	Tracé de trajectoires en volume ($z \approx h/2$) pour différents Pe_f à $Pe_s = 1.6$	81
4.8	Densité de probabilité $P(\psi)$ pour différents Pe_f à différentes positions du capillaire.	82
4.9	Vitesses orthogonales à l'écoulement pour différents Pe_f à $Pe_s = 0.95$	84
4.10	Densité de probabilité de v_y^i sur la paroi supérieure d'un canal à $Pe_s = 0.6$ pour différents Pe_f	85
4.11	Densité de probabilité de v_y^i à deux positions différentes au sein de la cellule microfluidique en fonction du Pe_f	86
4.12	Évolution de v_y en fonction de la position dans le canal et du taux de cisaillement local.	86
4.13	v_y/v_0 en fonction du cisaillement local $\dot{\gamma}$ pour de multiples Pe_f et Pe_s	87
4.14	Densités de probabilité des vitesses v_x^i en paroi et en volume à différents Péclets hydrodynamique.	88
4.15	La nage à contre-courant	89
4.16	Débit et profils de vitesse bactériens à différents Pe_f	90
4.17	Densités de probabilité des vitesses v_x^i en paroi et en volume à différents Péclets hydrodynamique.	91
4.18	Évolution du nombre de bactéries présentes dans le plan focal en fonction du temps et pour différentes position dans le capillaire.	92
4.19	Profils de concentrations à différents Pe_s	94
4.20	Concentration bactérienne en paroi et épaisseur de la couche limite de concentration à différents Pe_s	96

4.21	Évolution du profil de concentration bactérienne et de la concentration pariétale en fonction du Pe_f	98
4.22	Schéma récapitulatif de la distribution bactérienne sous écoulement.	98
4.23	Épaisseur de la couche limite normalisée à différents Pe_s^* en fonction de Pe_f et Pe_s^*/Pe_f	99
4.24	Trajectoire bactérienne en 3D reconstruite par holographie.	105
4.25	Mesure de profils de vitesses d'une suspension d' <i>E. coli</i> à $\phi = 0.4$ % par μ -PTV.	106

INTRODUCTION

Bien qu'imperceptibles par l'œil humain, les microorganismes sont omniprésents dans l'environnement où l'on peut les retrouver sous différentes formes telles que les champignons, les archées ou encore les bactéries. Leurs habitats sont variés et parfois extrêmes ; ils occupent aussi bien les eaux marines que les eaux douces, les sols et sous-sols, le système digestif ou bien la surface de la peau. Ils fascinent et constituent un pan très actif de la recherche scientifique. Ces systèmes se veulent, à l'origine, être étudiés par les microbiologistes mais suscitent aujourd'hui l'intérêt auprès de physiciens, mathématiciens, chimistes, médecins ou ingénieurs. Bon nombre de ces microorganismes ont développé des mécanismes leur permettant de se mouvoir de manière autonome au sein de leur milieu dans le but ultime d'atteindre une niche écologique adaptée et idéale à leur prolifération. La colonisation de nouveaux milieux par ces microorganismes peut toutefois se révéler problématique pour l'Homme notamment dans les domaines de la médecine ou de l'industrie. Cette motilité peut en effet être source de contamination de matériel médical ou de tissus biologiques par des bactéries mais aussi être le facteur clé quant au possible développement de biofilms au sein de procédés industriels qui viendraient amoindrir leur efficacité. Outre ces effets néfastes, ils sont également source d'inspiration que l'on cherche à mimer et tirer profit de ces moyens de locomotion à l'échelle microscopique pour nous servir dans le développement de nouvelles micro et nano-technologies comme la conception de micro-robots destinés à être vecteurs de cargaisons médicamenteuses. À plus grande échelle, on peut imaginer traiter et dépolluer des sols excavés ou bien des nappes phréatiques en utilisant ces microorganismes pour transformer les substances toxiques en substances non-toxiques.

Avant de pouvoir appliquer de tels procédés, il est nécessaire d'améliorer notre compréhension du transport de ces bactéries motiles sous écoulement. Pour cela, il est essentiel d'identifier les différents mécanismes physiques mis en jeu lorsqu'une bactérie se voit exposée à des forces hydrodynamiques externes afin d'évaluer sa réaction à l'écoulement et son intensité. De nombreuses questions peuvent alors éveiller notre curiosité : Comment le champ de vitesse externe impacte-t-il le comportement de nage du

microorganisme ? Le confinement favorise-t-il la colonisation de ces milieux et donc la prolifération bactérienne ? Comment interagit la bactérie avec son environnement, au voisinage de surfaces ou bien avec d'autres microorganismes et quelles en sont les conséquences sur le transport ? Ces interrogations sont multiples et beaucoup d'entre elles restent ouvertes. La communauté scientifique tente aujourd'hui d'y apporter des réponses en enrichissant les données expérimentales qui alimentent les modèles théoriques et numériques.

Pour étudier ces systèmes, les (bio)-physiciens s'inspirent de modèles biologiques bien connus des microbiologistes tels que la bactérie *Escherichia coli*. En plus d'une documentation scientifique importante à son sujet, la culture de ces microorganismes est possible en laboratoire. Son comportement individuel de nage a été largement étudié et est, actuellement, relativement bien compris des physiciens. Les travaux présentés dans la suite de ce manuscrit lui seront entièrement consacrés. Cette bactérie, au corps ellipsoïdal, se meut au moyen de flagelles rotatifs qui, regroupés, lui permettent de générer de nets déplacements. Dans un fluide à l'équilibre sa nage, bien que balistique aux temps courts, s'avère être diffusive aux temps longs ; on la qualifie et modélise alors comme étant aléatoire mais avec persistance dont les propriétés et grandeurs la caractérisant lui sont propres. Comment un écoulement viendrait-il alors modifier ses propriétés de nage ? Des physiciens, expérimentateurs et numériciens, ont mis en avant certains comportements originaux comme la rhéotaxie à l'origine d'une nage à contre-courant en surface, ou bien encore l'accumulation de bactéries à leur proximité. Les études sont principalement focalisées sur le comportement et la dynamique de nage en surface où leurs interactions avec celle-ci sont notables. La littérature ne fait part que de très peu de documentation sur la dynamique bactérienne sous cisaillement en volume, *i.e.* suffisamment loin des parois pour négliger les interactions avec celles-ci. Le comportement des bactéries et les propriétés de transport en volume sont d'un grand intérêt et permettront d'enrichir notre compréhension de la migration des bactéries préférentiellement vers les surfaces.

C'est dans ce contexte que viennent s'inscrire ces travaux de thèse expérimentaux. Par des techniques de microscopie optique et de microfluidique, nous suivons les déplacements de bactéries *E. coli* afin de caractériser leurs propriétés de nage et de transport sous écoulement aussi bien en paroi qu'en volume en explorant une large gamme de cisaillements tout en étant capable de faire varier le confinement. Afin de présenter ces résultats ainsi que la démarche suivie, nous avons organisé le manuscrit en quatre chapitres.

Le premier chapitre vise à introduire la bactérie *E. coli* aussi bien en tant qu'objet biologique que physique. Nous y discuterons des études expérimentales et numériques traitant de la dynamique bactérienne en proche paroi et sous écoulement. Nous évoquerons la notion d'interaction qui est fondamentale aux surfaces et qui est responsable de nombreuses phénoménologies. À l'échelle de la suspension, des interactions entre micronageurs peuvent naître des mouvements collectifs qui, sous cisaillement, mènent à une

modification du comportement rhéologique de la suspension.

Le second chapitre est consacré à la description du banc expérimental, conçu dans le but de visualiser ces microorganismes au travers de puces microfluidiques. Nous y développerons la méthode employée pour générer l'écoulement ainsi que de ses limites.

Dans le chapitre suivant, nous présenterons le protocole de culture mis en place pour permettre la motilité de la souche *Escherichia coli* que nous utiliserons ensuite. Nous y mentionnerons également la composition du fluide suspendant assurant la motilité bactérienne en condition anaérobie. Finalement, nous y présenterons deux méthodes que nous avons adoptées pour caractériser en détail la dynamique de la suspension de bactéries dans un fluide au repos.

Au cours du dernier chapitre, nous nous intéresserons alors à l'impact d'un écoulement sur le transport des bactéries et son évolution avec différentes valeurs de Péclet hydrodynamique et de Péclet de confinement. Lorsque cela sera possible, nous comparerons nos résultats expérimentaux avec les résultats issus de travaux théoriques et numériques.

1

ÉTAT DE L'ART

Sommaire

1.1	La bactérie <i>Escherichia coli</i>	10
1.1.1	Généralités	10
1.1.2	Nage aux faibles nombres de Reynolds	12
1.1.2.1	Approche mécanistique	12
1.1.2.2	Approche statistique	15
1.2	Dynamique de nage en écoulement cisailé	17
1.2.1	À l'échelle de la bactérie	19
1.2.1.1	Rhéotaxie	19
1.2.1.2	Nage aux parois	20
1.2.1.3	Accumulation aux surfaces	23
1.2.2	À l'échelle de la suspension	25
1.2.2.1	Les mouvements collectifs	25
1.2.2.2	La rhéologie active	26
1.3	Positionnement de l'étude	28

1.1. La bactérie *Escherichia coli*

1.1.1. Généralités

Escherichia coli (*E. coli*) est une bactérie unicellulaire appartenant à la famille des entérobactéries. Sa présence au sein du système digestif des mammifères ont fait d'elle un sujet largement étudié au sein de la communauté scientifique aussi bien pour ses aspects bénéfiques que pathogènes pour l'Homme. Elle fait partie intégrante du microbiote intestinal et joue un rôle essentiel au sein du processus de digestion tels que la fermentation, l'absorption ou l'assimilation des nutriments et assure également la synthèse de certaines vitamines.

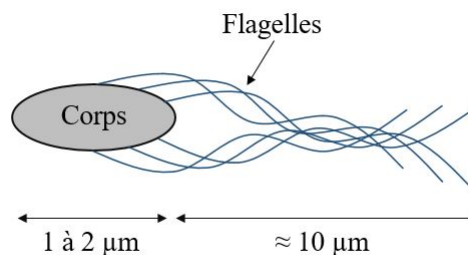


Figure 1.1: Schéma de la bactérie *Escherichia coli*.

Le corps d'*E. coli* est de forme ellipsoïdale, souvent comparée à un bâtonnet, dont la longueur varie de 1 à 3 μm pour un diamètre $\sim 1 \mu\text{m}$ (Fig. 1.1). L'ADN ainsi que le cytoplasme, dont la fonction est architecturale et organisationnelle, sont protégés du milieu extracellulaire par la membrane plasmique. Cette membrane plasmique assure l'intégrité de la cellule (variations osmotiques/ charges ioniques) et joue le rôle de barrière sélective en contrôlant l'entrée nutritive et le rejet des déchets. Cette paroi est recouverte de pilis assurant la transmission du matériel génétique entre cellules et facilitant l'adhésion de la cellule aux surfaces.

E. coli est une bactérie ayant la possibilité de se mouvoir au sein de son milieu grâce à la synthèse de flagelles. La motilité est la faculté pour un microorganisme à se déplacer de façon autonome. Cette motilité bactérienne permet alors de répondre à d'éventuelles carences chimiques (O_2 , nutriments, température, ...) qu'elle pourrait rencontrer dans son milieu pour migrer vers des endroits plus propices à son développement : phénomène appelé chimiotaxie.

Ces flagelles, dont le nombre moyen est de 4 [1], sont répartis sur l'ensemble du corps de la bactérie et mesurent 10 μm de long pour 20 nm de diamètre. Ils sont composés de trois systèmes distincts qui sont le filament, le crochet et la structure basale (Fig. 1.3).

La structure basale est ancrée à la membrane et joue le rôle de moteur. Elle fonctionne comme un stator actionné par un rotor. Le stator (L et P-ring) connecte l'ensemble du moteur au filament par l'intermédiaire du crochet et agit comme une bague permettant la rotation de la bielle. La bielle est connectée à la partie rotor via le MS-ring actionné par le C-ring. Le complexe protéique Fli constituant le C-ring contrôle directement le sens de rotation des flagelles [2-4].

La structure du filament est principalement composée d'une protéine, la flagelline [5]. Cette protéine, à l'origine de la forme hélicoïdale prise par le flagelle lors de sa rotation, est primordiale pour permettre la nage d'*E. coli*.

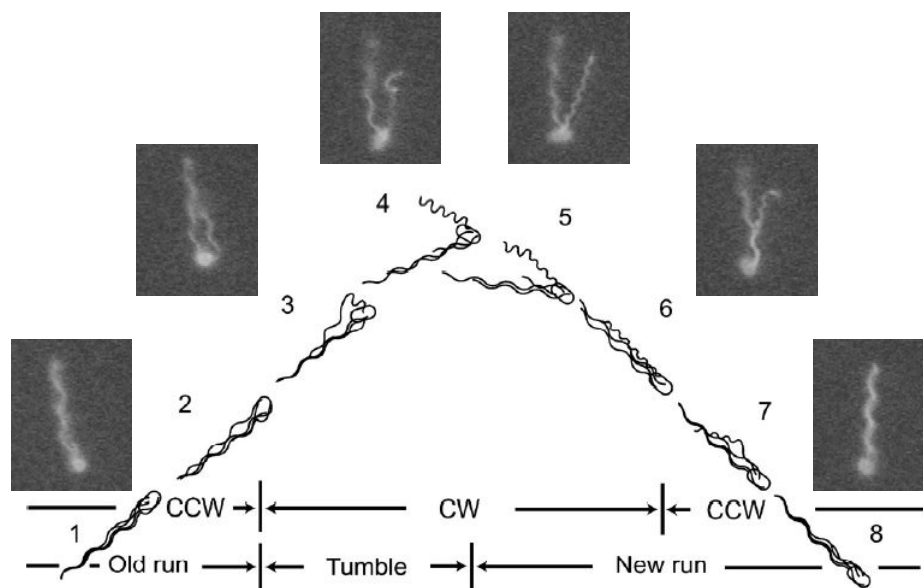


Figure 1.2: Schéma descriptif du processus de nage de run & tumble [6].

Chaque moteur entraîne la rotation d'un seul flagelle. Si l'ensemble de ces moteurs tournent dans le sens anti-horaire (CCW pour *Counter ClockWise*), les flagelles vont se regrouper pour ne former qu'une seule entité et va propulser la bactérie vers l'avant (Fig. 1.2 étapes 1, 2, 5, 6, 7 et 8). Si un ou plusieurs de ces moteurs changent de sens de rotation (sens horaire, CW pour *ClockWise*), le ou les flagelles en question vont se désynchroniser du reste des flagelles tournant en sens anti-horaire. La bactérie va alors se réorienter (Fig. 1.2 étapes 3 et 4). L'alternance de ces deux processus de nage (propulsion et réorientation) est communément retrouvée dans la littérature sous le nom de « run & tumble ». Les vitesses de nage d'*E. coli* sont comprises entre 10 et 30 $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$.

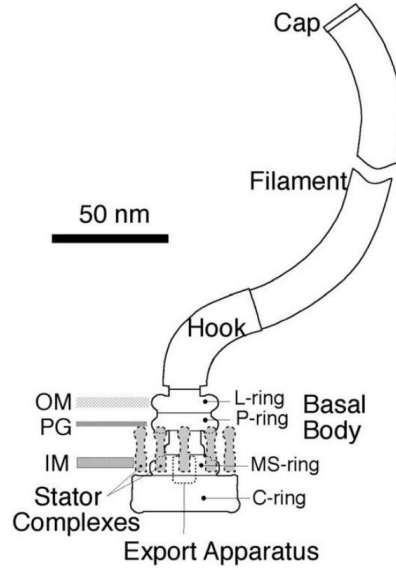


Figure 1.3: Schéma d'un flagelle [4].

1.1.2. Nage aux faibles nombres de Reynolds

La physique régissant la nage à l'échelle microscopique est bien différente de celle que l'on côtoie ou observe dans la vie de tous les jours. Contrairement à l'Homme, aux poissons ou aux oiseaux qui vont exercer des forces et des moments sur le fluide pour se mouvoir, les microorganismes ne peuvent pas compter sur l'inertie pour permettre leur nage. En effet, les nombres de Reynolds typiques pour la bactérie *E. coli* dans de l'eau ($\rho = 1000 \text{ kg.m}^{-3}$, $\eta = 10^{-3} \text{ Pa.s}$) sont très faibles de l'ordre de $10^{-4} - 10^{-5}$.

1.1.2.1. Approche mécanistique

À ces régimes, la motilité est gouvernée par les équations de Stokes :

$$-\nabla P + \eta \nabla^2 \mathbf{u} = 0 \quad (1.1a)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = 0 \quad (1.1b)$$

où P et \mathbf{u} sont la pression et le champ de vitesse du fluide.

L'absence de l'inertie induit une réversibilité de l'équation de Stokes et une indépendance en temps. Cette propriété de réversibilité est bien expliquée au travers de l'exemple de la coquille Saint-Jacques proposé par Purcell [7]. Dans le monde macroscopique, elle se déplace par des mouvements réciproques ou symétriques en ouvrant lentement puis en fermant rapidement sa coquille ce qui a pour conséquence d'expulser

l'eau. Cette même méthode de nage, mais cette fois à très petits nombres de Reynolds, ne permettrait pas d'effectuer de nets déplacements translationnels tout simplement en raison de la réversibilité de l'équation de Stokes. En conséquence, un déplacement dans une direction à une vitesse uniforme \mathbf{v} serait inévitablement suivi par un déplacement dans la direction opposée à une vitesse $-\mathbf{v}$: le microorganisme se retrouverait à nouveau exactement à la position initiale au début du mouvement. Ce raisonnement est le même sur la pression, les forces ou bien les couples exercés.

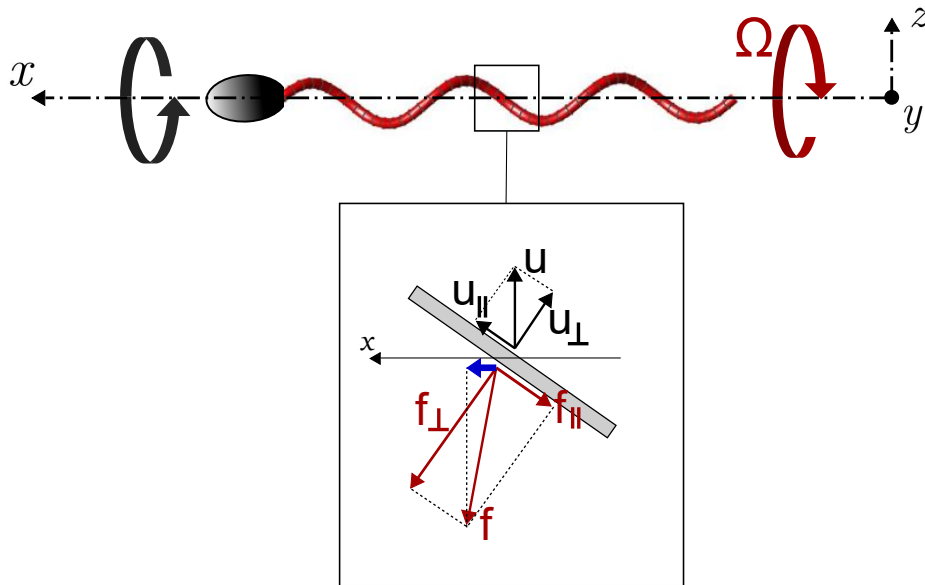


Figure 1.4: La chiralité à l'origine de la propulsion : conséquence de l'anisotropie de la trainée. Les sens de rotation du corps (horaire) et des flagelles (anti-horaire, de vitesse angulaire Ω) sont indiqués respectivement par les flèches noires et rouges. Dans l'encadré est présenté un segment de ce flagelle de taille infinitésimale ainsi que sa vitesse (en noir) et les forces (en rouges) agissant sur lui. La flèche bleue indique le sens de la force de propulsion. Ce schéma est extrait et modifié de [8].

Pour surmonter ce phénomène d'amortissement visqueux, les microorganismes ont donc dû s'adapter et développer des stratégies de nage pour permettre la motilité. Chez la bactérie *Escherichia coli*, l'asymétrie du mouvement est assurée par la chiralité des flagelles. Un flagelle peut être assimilé à un corps mince (rapport d'aspect ≈ 100) et ainsi être décomposé en une infinité de segments droits (encadré de la Figure 1.4). Chaque segment se déplace à une vitesse u ($u \propto \Omega$) dont la direction va pointer alternativement vers les y positifs puis négatifs en fonction de sa position sur le flagelle et va se voir confronté à une résistivité hydrodynamique due aux frottements avec le fluide. Les composantes de la vitesse u_{\parallel} et u_{\perp} respectivement parallèle et perpendiculaire au segment, induisent alors des forces de trainée de composantes $f_{\parallel} \propto \eta \xi_{\parallel} \Omega$ et $f_{\perp} \approx 2f_{\parallel}$ dont la résultante est f . C'est sur cette résultante f que la chiralité joue un rôle primordial en lui assurant de

ne pas être colinéaire avec la vitesse u du segment. De ce fait, f possède une composante non-nulle selon x et donc selon la direction de nage. Cette composante est la force de propulsion f_{prop}^i indiquée par la flèche bleue.

En revenant à une échelle plus macroscopique, ce sont donc les forces de traînée anisotropes qui adviennent sur l'ensemble du flagelle qui permettent finalement de générer une force nette de propulsion $F_{prop} = \sum_i f_{prop}^i$ ($F_{prop} \approx 0.1 - 1$ pN dans l'eau [9]). L'efficacité d'un tel mécanisme de propulsion est de l'ordre d'1 % [7].

La nage serait impossible sans la présence du corps bactérien. De la même façon que la force de propulsion est compensée par la force de traînée, le couple exercé par la rotation anti-horaire des flagelles (de fréquence ≈ 100 Hz) est compensé par la rotation horaire du corps (≈ 20 Hz) [10].

Lors de la nage, *E. coli* va donc pousser le fluide vers l'avant de la cellule avec une force équivalente et opposée à celle créée par le flagelle et ce par le simple mécanisme d'action-réaction. Un terme est souvent retrouvé dans la littérature définissant ce comportement de nage; on dit de ces bactéries qu'elles sont des « *pushers* »¹. En champ lointain, la bactérie agit sur le fluide comme un dipôle de forces ou *stresslet* à l'origine d'un champ hydrodynamique répulsif à l'avant et l'arrière de la cellule et attractif sur ses flancs (Fig. 1.5A). L'intensité de ce champ hydrodynamique décroît avec la distance en r^{-2} (Fig. 1.5B) [11]. Les rotations en sens inverse du corps et des flagelles agissent sur le fluide comme un dipôle de moments, un *rotlet* qui décroît en r^{-3} [12].

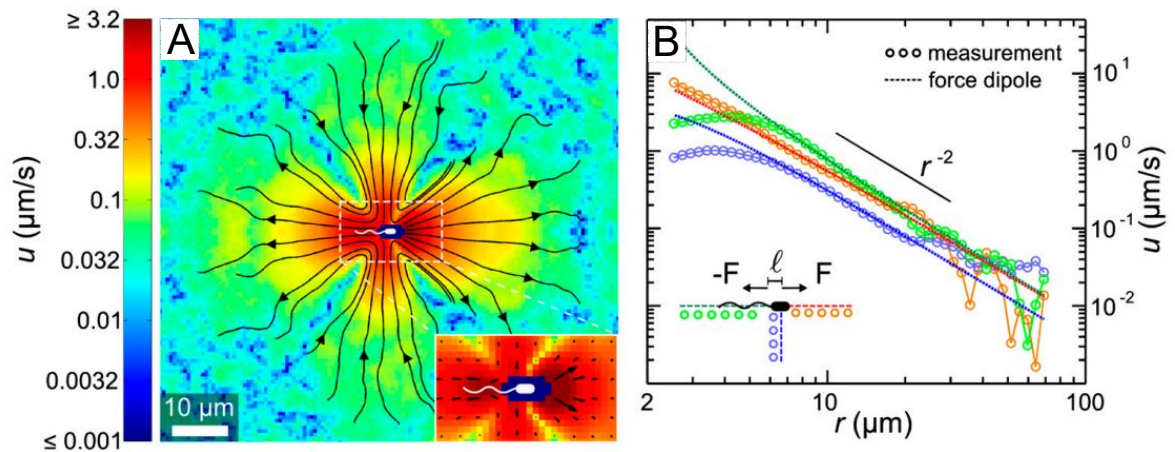


Figure 1.5: Champ de vitesse moyen créé par une bactérie en mouvement [11]. **A** Mesure expérimentale. Les lignes en noir indiquent la direction locale de l'écoulement. Inset : Zoom en proximité de la bactérie. **B** Évolution de la vitesse avec la distance r au centre de la bactérie.

1. À l'inverse, les « *pullers* » comme *Chlamydomonas reinhardtii* « tirent » le fluide vers elles.

1.1.2.2. Approche statistique

Plusieurs grandeurs peuvent caractériser la nage run & tumble d'*E. coli*. La plus évidente et que nous avons déjà mentionnée est la vitesse v_0 mais d'autres grandeurs intrinsèques renseignent plus en détail sur la dynamique : le temps d'un run entre deux réorientations t_r , la longueur de ce run l_{run} , le temps sur lequel s'effectue un tumble t_{tumble} ou bien l'angle de ce tumble θ . En 1972, Berg suit les déplacements en 3D d'*E. coli* dans un milieu homogène d'un point de vue chimique afin de négliger tout effet de chimiotaxisme [1] et extrait ces différentes grandeurs. Pour la souche sauvage d'*E. coli* AW405, il mesure $t_r \sim 1$ s et $t_{\text{tumble}} \sim 0.15$ s avec un angle moyen $\langle \theta \rangle = 68 \pm 36^\circ$ pour une vitesse de nage $v_0 \sim 15 \mu\text{m.s}^{-1}$.

En se basant sur ces grandeurs expérimentales, Lovely propose un modèle capable de caractériser la dynamique de nage. Il définit alors un coefficient de diffusion translationnel [13] :

$$D_t = \frac{v_0^2 t_c}{3} = \frac{v_0^2 t_r}{3(1 - \langle \cos \theta \rangle)} \quad (1.2)$$

La première égalité laisse apparaître un temps t_c ($t_c = t_r / (1 - \langle \cos \theta \rangle)$) qui définit un temps caractéristique pour lequel la bactérie conserve la mémoire de son orientation initiale. Il marque la transition du comportement balistique de la nage aux temps courts $< t_c$ à un comportement diffusif aux temps longs $> t_c$. Il est à noter que ce modèle est construit sur la base de certaines hypothèses, mais s'avère être largement utilisé dans la communauté scientifique afin de caractériser l'activité bactérienne. Dans ce milieu chimiquement homogène, la dynamique de la bactérie est donc une marche aléatoire avec persistance. En considérant la nage parfaitement isotrope dans le milieu, les équations de Langevin permettent de déduire le déplacement quadratique moyen $r^2(\Delta t)$ de la bactérie et peut s'écrire :

$$r^2(\Delta t) = \underbrace{6D_B \Delta t}_{\text{Terme passif}} + \underbrace{6D_t \Delta t (1 - \exp(-\Delta t / t_c))}_{\text{Terme actif}} \quad (1.3)$$

Ici, $r(t)$ est la distance parcourue entre deux positions de la bactérie séparées d'un pas de temps Δt . Ce déplacement quadratique moyen peut être vu comme la surface que va explorer une bactérie au cours du temps.

Cette équation est divisée en deux termes. Les bactéries de taille microscopique sont inévitablement soumises à l'agitation thermique du fluide environnant. Cette contribution est mise en évidence par le terme de gauche, le terme passif, où D_B représente le coefficient de diffusion Brownien $D_B = k_b T / (6\pi\eta a)$; à température T ambiante dans un fluide de viscosité $\eta = 10^{-3}$ mPa.s et a la taille du corps bactérien, $D_B \sim 0.4 \mu\text{m}^2.\text{s}^{-1}$.

Dans notre cas, ce coefficient est dominé d'un facteur 50 à 100 par le coefficient de diffusion actif D_t . Dans la suite du manuscrit, nous négligerons donc ce terme passif.

Le second terme du membre de droite, appelé terme « actif », rend compte de la dynamique de run & tumble et met en avant ces deux caractéristiques. En effet, en effectuant un développement limité d'ordre 2 de ce terme, on remarque deux tendances : (i) Aux temps courts ($\Delta t < t_c$), on a $r^2(\Delta t) = v_0^2 \Delta t^2$ synonyme d'un processus ballistique. (ii) Aux temps longs ($\Delta t > t_c$), $\exp(-\Delta t/t_c) \rightarrow 0$. On a alors $r^2(\Delta t) = 6D_t \Delta t$ décrivant un processus diffusif.

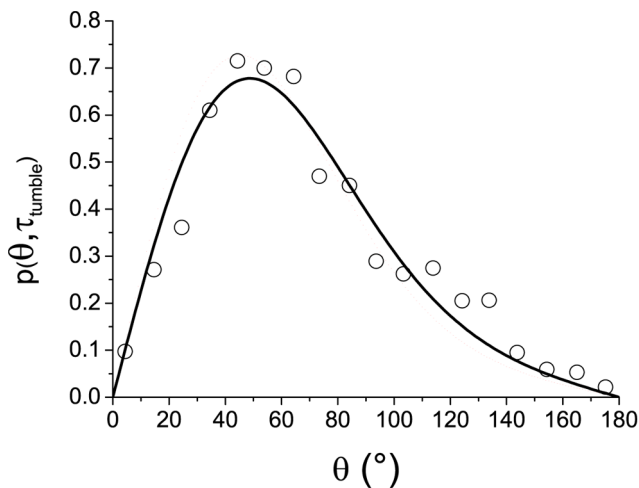


Figure 1.6: Distribution des angles de réorientation lors d'un tumble [14]. Les points représentent les résultats expérimentaux obtenus à partir de 1200 événements de tumbling. En trait continu un ajustement proposé par la solution de Saragosti avec $D_r = 3.5 \text{ rad}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ [15].

Nous avons vu que le coefficient de diffusion translationnel proposé par Lovely peut également s'exprimer en fonction de l'angle de tumbling θ (seconde égalité de l'équation 1.2). Dans son article [1], Berg trace la distribution obtenue expérimentalement de cet angle (Symboles en Fig. 1.6. Saragosti part alors du postulat qu'il est possible de modéliser ces réorientations (aléatoires avec persistance) par un unique coefficient de diffusion rotationnel [15]. Il définit $p(\theta, \psi, t)$ comme la densité de probabilité d'une particule d'avoir une orientation suivant un angle polaire θ et un angle azimutale ψ à un temps t ; son évolution temporelle est alors donnée par la contrepartie rotationnelle de la loi de Fick translationnelle :

$$\frac{\partial p}{\partial t} = D_r \nabla^2 p \quad (1.4)$$

où D_r est le coefficient de diffusion rotationnel d'unité $\text{rad}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. En considérant la particule alignée avec l'axe polaire à $t = 0$, la probabilité est alors représentée par un Dirac : $p(\theta, \phi, t = 0) = \delta(\theta)$. Il donne alors une solution analytique de $p(\theta, t)$ par un

développement en harmonique sphérique qui dépend de D_r . Il ajuste ainsi les valeurs expérimentales de Berg en laissant D_r en paramètre libre. Le meilleur ajustement est alors donné pour $D_r = 3.5 \text{ rad}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ (trait continu Fig. 1.6). À titre comparatif, le coefficient de diffusion rotationnel d'une particule passive (bâtonnet) de longueur $l \sim 10 \text{ }\mu\text{m}$ est $D_r^{\text{batonnet}} \sim k_b T / (\eta l^3) \sim 10^{-3} \text{ rad}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

De cette distribution, il en déduit la fonction d'autocorrélation des orientations :

$$\langle \cos \theta \rangle(t) = \exp(-2D_r t) \quad (1.5)$$

Puisque les tumbles bactériens peuvent correctement être décrits par un processus de diffusion rotationnel, D_t peut également être exprimé en fonction de D_r :

$$D_t = \frac{v_0^2 t_r}{3(1 - \langle \cos \theta \rangle)} \approx \frac{v_0^2 t_r}{6D_r t_{\text{tumble}}} \quad (1.6)$$

Berg [1] montre également que la chimiotaxie impacte directement la dynamique bactérienne. Si une bactérie se montre favorable à une certaine espèce chimique, elle va alors avoir tendance à s'orienter préférentiellement dans la direction de ce gradient chimique. Elle va donc adapter sa dynamique de nage et augmenter son temps de run t_r , intrinsèquement sa longueur de run, au détriment de son temps de réorientation t_{tumble} afin d'atteindre plus rapidement cet endroit plus propice. En d'autres termes, l'angle de tumble entre deux runs va se voir modifié et donc inévitablement le coefficient de diffusion rotationnel D_r le sera aussi.

1.2. Dynamique de nage en écoulement cisailé

Nous présentons dans cette partie les différents mécanismes physiques opérants sur une bactérie autopropulsée lorsque celle-ci est soumise à un écoulement cisailant pour le cas d'une suspension diluée, négligeant ainsi les interactions entre nageurs.

Avant de s'intéresser au cas de la bactérie active qui se révèle relativement complexe, il est nécessaire de décrire en amont l'influence d'un écoulement cisailé sur le cas d'une particule passive dont la morphologie se rapproche de celle d'*E. coli*. Considérons pour cela une ellipsoïde. Sous écoulement cisailant, elle est advectée et décrit une rotation périodique autour de son centre de masse appelée « orbites de Jeffery ». Cette dynamique a été pour la première introduite par Jeffery [16] puis reprise par Bretherton [17]. La figure 1.7 présente ce cas pour une ellipsoïde dont l'orientation est représentée par le trait rouge. La vitesse angulaire dépend de l'orientation de la particule avec le cisaillement. De plus,

elle passe d'autant plus de temps alignée avec l'écoulement que son rapport d'aspect est important. Sa dynamique orientationnelle est décrite par l'équation de Bretherton-Jeffery :

$$\dot{\mathbf{p}} = (\mathbf{I} - \mathbf{p}\mathbf{p})(\xi\mathbf{E} + \Omega)\mathbf{p} \quad (1.7)$$

avec $\mathbf{E} = (\nabla\mathbf{u} + \nabla\mathbf{u}^T)/2$ le tenseur des taux de déformation et $\Omega = (\nabla\mathbf{u} - \nabla\mathbf{u}^T)/2$ le tenseur des taux de rotation de l'écoulement externe. $\xi = (\kappa^2 - 1)/(\kappa^2 + 1)$ est la constante de Bretherton où $\kappa = l/a$ est le rapport d'aspect de l'ellipsoïde de longueur l et de diamètre a .

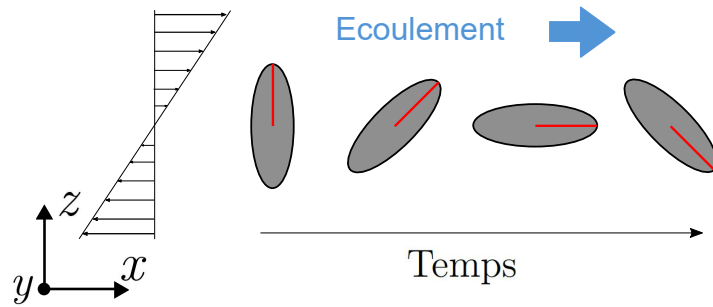


Figure 1.7: Schéma descriptif des orbites de Jeffery ayant lieu sur une ellipsoïde passive sous un écoulement cisailant. Son orientation est indiquée par le trait rouge.

Dans le cas d'une particule active, comme par exemple une bactérie, à la vitesse de translation de l'ellipse passive (définie par celle de l'écoulement u_x) et son orientation (orbites de Jeffery) viennent s'ajouter, respectivement, les dynamiques translationnelle et rotationnelle de la bactérie.

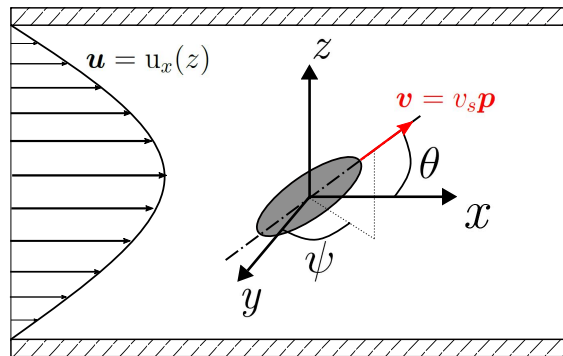


Figure 1.8: Schéma descriptif d'une particule active sous écoulement de Poiseuille, modifié de [18].

Tous ces éléments peuvent alors être retrouvés au travers du modèle cinétique proposé par Ezhilan et Saintillan [18-20]. Ce modèle réside sur un équilibre des flux dans lequel le

microorganisme est modélisé par un corps mince (ellipsoïde) nageant à une vitesse $\mathbf{v} = v_s \mathbf{p}$ (Fig. 1.8). La distribution de ces micronageurs artificiels au sein d'un écoulement (ex. Poiseuille) est capturée par la densité de probabilité $\Psi(\mathbf{x}, \mathbf{p}, t)$ de trouver une particule à une position $\mathbf{x} = (x, y, z)$ avec une orientation $\mathbf{p} = (\sin \theta \cos \psi, \sin \theta \sin \psi, \cos \theta)$ au temps t satisfaisant l'équation de Fokker-Planck :

$$\frac{\partial \Psi}{\partial t} + \nabla_x \cdot (\dot{\mathbf{x}} \Psi) + \nabla_p \cdot (\dot{\mathbf{p}} \Psi) = 0 \quad (1.8)$$

où $\dot{\mathbf{x}}$ et $\dot{\mathbf{p}}$ correspondent aux flux de vitesses translationnel et angulaire définis comme :

$$\dot{\mathbf{x}} = v_s \mathbf{p} + \mathbf{u} - D_t \nabla_x \ln \Psi \quad (1.9)$$

$$\dot{\mathbf{p}} = \xi(\mathbf{I} - \mathbf{p}\mathbf{p}) \cdot \mathbf{E} \cdot \mathbf{p} + \frac{1}{2} \boldsymbol{\Omega} \times \mathbf{p} - D_r \nabla_p \ln \Psi \quad (1.10)$$

On retrouve bien les différents éléments caractéristiques de la dynamique d'*E. coli* : l'équation 1.9 capture sa vitesse de nage v_s dont la direction est dénotée par \mathbf{p} , la vitesse externe de l'écoulement \mathbf{u} et un terme supplémentaire incluant un coefficient de diffusion translationnel. Le mouvement de rotation des particules est capturé au travers de l'équation 1.10 qui inclut l'équation de Bretherton-Jeffery sur les deux premiers termes du membre de droite (développé ici pour un écoulement de Poiseuille) et le processus aléatoire de réorientation de la bactérie *via* le coefficient D_r dans le dernier terme.

1.2.1. À l'échelle de la bactérie

1.2.1.1. Rhéotaxie

Les bactéries sont sensibles à de nombreux effets provenant de leur environnement auxquels elles réagissent, c'est le taxisme. La réponse à ce taxisme peut être « directe » (chimiotaxisme [21], phototaxisme [22]) car la bactérie ressent et répond aux stimuli extérieurs ou « indirecte » résultat de forces extérieures (magnetotaxisme [23], gyrotaxisme [24]). Il a été reporté que les microorganismes, à l'image des poissons [24] ou certains insectes [23], présentent également un comportement en réponse au gradient de vitesses auquel ils peuvent être confrontés, c'est la rhéotaxie. Ce phénomène a été observé pour la première fois en 1961 pour des spermatozoïdes et favoriserait leur remontée au niveau de la paroi utérine jusqu'à l'ovule [25, 26].

Aux forces et aux couples ayant lieu lors de la nage d'*E. coli* (*cf.* section 1.1.2.1) viennent s'ajouter des forces externes, hydrodynamiques, de l'écoulement. Ces forces

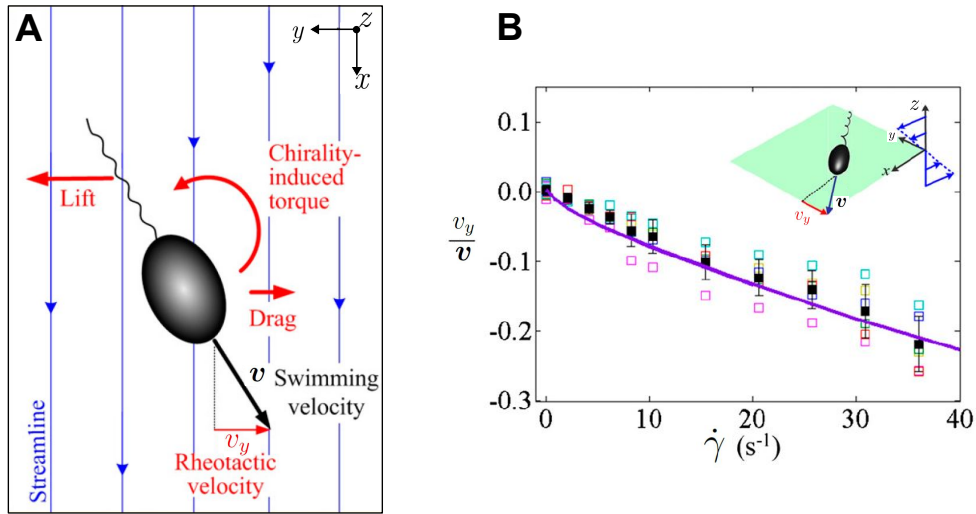


Figure 1.9: **A** Mécanismes responsables de la rhéotaxie. **B** La vitesse de rhéotaxie est dépendante du cisaillement $\dot{\gamma}$. Les deux schémas sont empruntés de [27] et modifiés selon les notations utilisées pour le manuscrit.

hydrodynamiques sur les flagelles sont à l'origine d'une force nette de portance (en raison de leur chiralité et du gradient de vitesse ressentis en z) normale au plan de cisaillement (Fig. 1.9A). Cette force provoque une dérive des flagelles au travers des lignes de courant selon y . Le corps n'étant pas chiral n'est pas soumis à cette force mais uniquement sa force de frottements avec le fluide. Le sens de ces forces de frottement ou traînée s'oppose à celui de la portance. Le corps agit alors comme un point de pivot ou une « ancre » comme le métaphorisent Marcos *et. al* [27]. Ces deux forces produisent un couple qui tend alors à éloigner l'orientation bactérienne de l'axe de l'écoulement pour la réorienter perpendiculairement avec celui-ci (Fig. 1.9A). Ils observent également que la vitesse de cette dérive, v_y , est d'autant plus importante que les taux de cisaillement $\dot{\gamma}$ sont importants (Fig. 1.9B) et que le signe de la vitesse de rhéotaxie est du même signe que celle du cisaillement ; par exemple en écoulement de Poiseuille, le cisaillement est symétrique par rapport au centre du canal où il change de signe de part et d'autre de ce point central.

1.2.1.2. Nage aux parois

La proximité d'une surface engendre une rupture de l'axisymétrie des forces de propulsion dont la chiralité est à l'origine responsable. En effet, deux phénomènes physiques entrent alors en compétition sur la bactérie. La rotation des flagelles (flèche noire Fig. 1.11A) à proximité de la paroi induit une force parallèle à la surface mais orthogonale au mouvement de translation de la cellule (grande flèche verte). Puisque la rotation du corps contre-balance la rotation des flagelles, le corps induit une force égale et opposée à

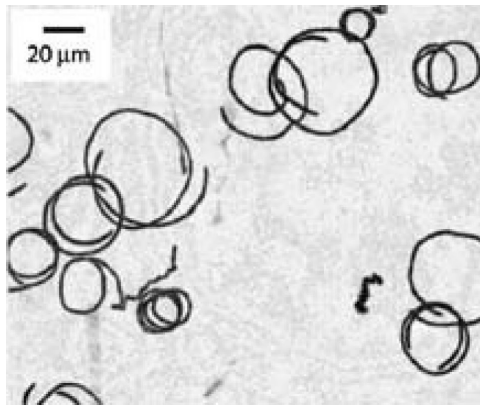


Figure 1.10: *E. coli* décrit des trajectoires circulaires aux parois. Image extraite de [28].

la force ayant lieu sur les flagelles (petite flèche verte). De ce fait, la surface est responsable de l'émergence d'un couple (flèche en pointillés rouges) actant sur la cellule. Cette interaction est donc responsable d'une nage circulaire aux parois (Fig. 1.10). Nous avons vu au début de ce chapitre que lorsqu'*E. coli* est en mouvement, son corps tourne dans le sens horaire (CW) et anti-horaire (CCW) pour les flagelles : la nage circulaire s'effectuera toujours sur la droite en se plaçant dans le référentiel de la bactérie. La bactérie est alignée parallèlement avec la surface avec un angle $\theta = 0$ dont la configuration est stable². Le champ de vitesse développé à la paroi est également un dipôle de forces dont la portée décroît en r^{-3} et donc plus rapidement qu'en l'absence d'interactions [11].

Sous écoulement, la bactérie fait également l'objet de l'effet de rhéotaxie à la paroi. La nage de la bactérie subit, en plus du phénomène d'interaction avec la surface, le couple hydrodynamique externe (couple représenté par les flèches en pointillés bleus Fig. 1.11C et D). Tout comme il l'a été présenté dans la section précédente, l'effet de rhéotaxie induit une composante de la vitesse selon y sur le schéma. Cette vitesse de rhéotaxie v_y est alors indiquée par une flèche jaune (Fig. 1.11C) et pousse alors *E. coli* à dériver dans cette direction.

Un certain nombre de travaux portent sur l'étude de la rhéotaxie à la paroi pour *E. coli* [30-32]. Nous allons ici nous intéresser aux travaux de A. Mathijssen *et. al* publiés récemment dans lesquels ils observent quatre régimes chacun délimités par un taux de cisaillement critique $\dot{\gamma}^c$.

Régime I : Aux plus faibles intensités d'écoulement, les trajectoires sont majoritairement circulaires et présentent une légère dérive sur la droite (Fig. 1.11E).

Régime II : À un premier $\dot{\gamma}^{c1} \gtrsim 1.5 \text{ s}^{-1}$, une mixité de trajectoires se dessine avec la persistance de trajectoires circulaires et l'apparition de trajectoires s'opposant à la

2. En réalité, la bactérie n'est pas parfaitement alignée avec cette surface mais présente un léger angle avec celle-ci. Son corps « pointe » dans la direction de la surface [29, 30].

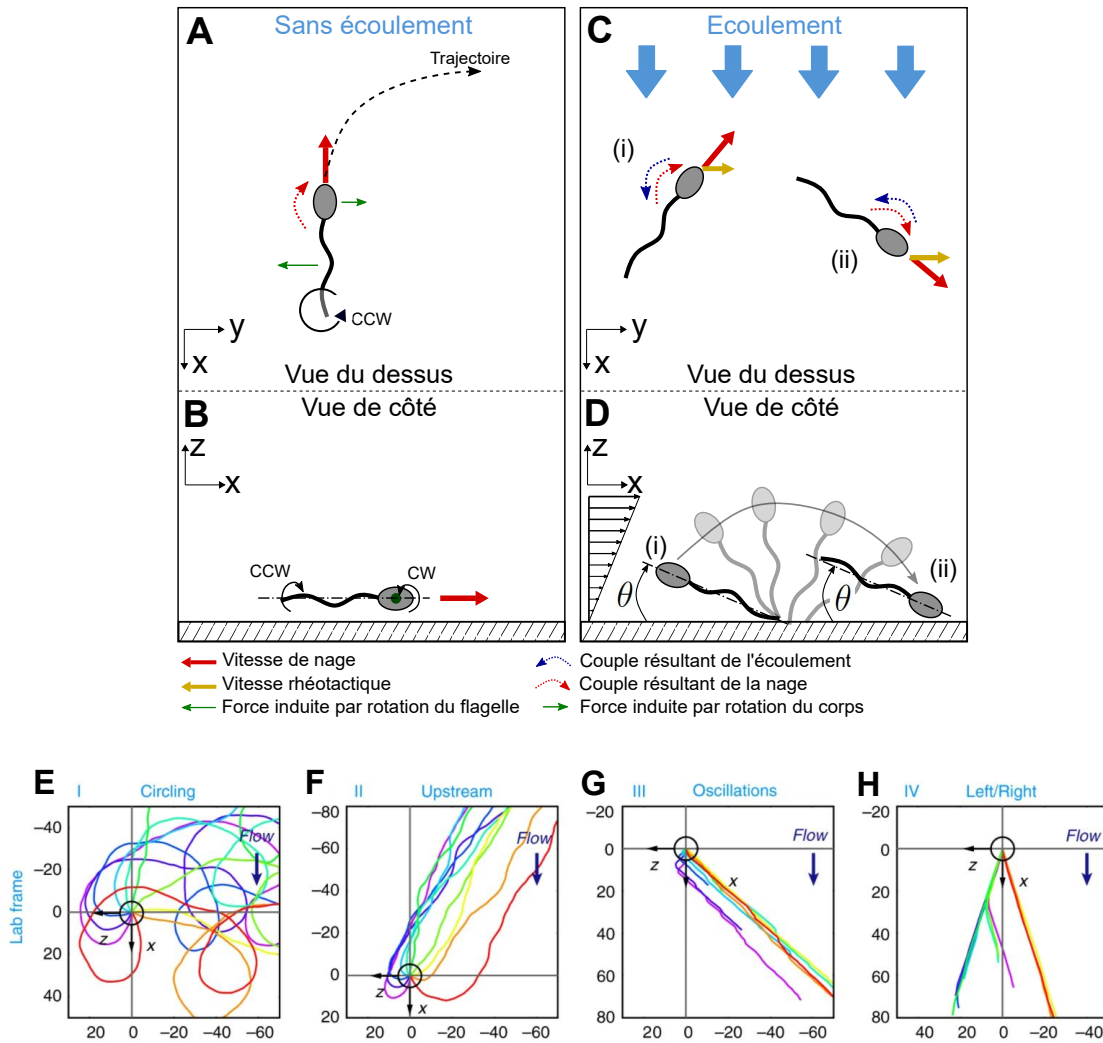


Figure 1.11: Effets du cisaillement sur la dynamique de nage d'*E. coli* à la paroi. **A** Nage circulaire en l'absence d'écoulement (vue du dessus). **B** Vue de profil. Le corps bactérien décrit un angle θ avec la paroi. **C** Les cisaillements induisent un couple hydrodynamique qui rentre en compétition avec le couple naturel de la nage. La bactérie dérive selon $+y$ à une vitesse v_y : c'est la vitesse de rhéotaxie (flèche jaune). L'intensité de l'écoulement peut amener la bactérie à pivoter et nager à contre courant (ii). **D** Conséquence des forts gradients de vitesse sur θ ; les bactéries sont en équilibre instable. **E**, **F**, **G** et **H** Quatre régimes de rhéotaxie de surface dépendants du cisaillement : **E** $\dot{\gamma} < \dot{\gamma}^{c1}$, **F** $\dot{\gamma}^{c1} < \dot{\gamma} < \dot{\gamma}^{c2}$, **G** $\dot{\gamma}^{c2} < \dot{\gamma} < \dot{\gamma}^{c3}$ et **H** $\dot{\gamma} > \dot{\gamma}^{c3}$. La figure supérieure est modifiée de [30], la figure inférieure est tirée de [31].

direction de l'écoulement, *i.e.* nage à contre-courant, avec toujours une dérive sur la droite. Avec l'intensité de l'écoulement grandissante, le couple hydrodynamique augmente également et fait pivoter la bactérie face à l'écoulement (Fig. 1.11C(i) & Fig. 1.11F).

Régime III : À $\dot{\gamma}^{c2} \gtrsim 15 \text{ s}^{-1}$, les forces de l'écoulement « décrochent » et soulèvent le

corps de la paroi augmentant ainsi l'angle θ (Fig. 1.11D(i)) et rend cette configuration instable. Les effets de Jeffery vont réorienter la bactérie dans le sens de l'écoulement (Fig. 1.11C (i) \rightarrow (ii)) et la plaquer à nouveau à la paroi avec un angle $\theta > 0$ (Fig. 1.11D(ii)); configuration également instable. Le couplage de la rhéotaxie et de l'écoulement va à nouveau faire pivoter le nageur à contre-courant comme discuté pour le régime II et ainsi de suite. La répétition de ces événements fait naître un régime oscillatoire (Fig. 1.11G).

Régime IV : À $\dot{\gamma}^{c3} \gtrsim 40 \text{ s}^{-1}$, les trajectoires sont orientées dans la direction de l'écoulement avec toujours cette dérive sur la droite. Le régime oscillatoire est toujours présent. Certaines bactéries sont capables à ces régimes de présenter dans de rares cas une dérive vers la gauche (Fig. 1.11H).

1.2.1.3. Accumulation aux surfaces

Une autre propriété intéressante découlant de la nage d'*E. coli* est l'accumulation en proche paroi (Fig. 1.12). L'adhésion de bactéries aux parois est souvent expliquée comme le résultat des forces électrostatiques et des forces de van der Waals entre la surface et la cellule [33]. Ces forces stériques ne sont pas négligeables mais le principal mécanisme se révèle être de nature hydrodynamique [29].

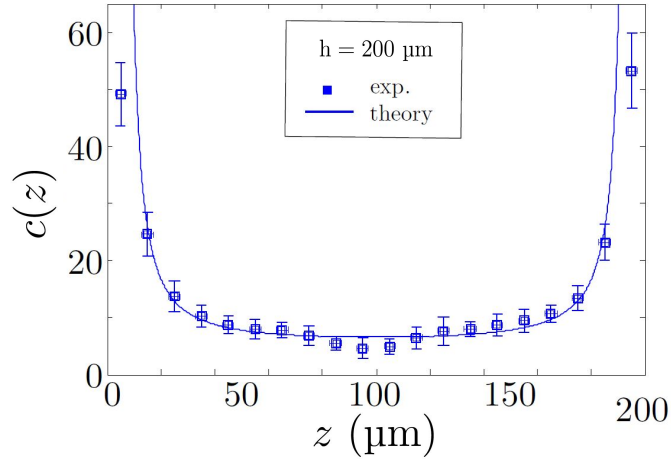


Figure 1.12: Profil de concentration d'une suspension d'*E. coli* entre deux plaques parallèles séparées d'une distance h . Résultats expérimentaux marqués par des points et les ajustements en traits continus. Figure extraite de [34] et modifiée avec les notations utilisées pour le manuscrit.

Nous l'avons vu plus haut (*cf.* section 1.1.2.1), le champ de vitesse autour d'*E. coli* est approximé à un dipôle de forces. Une bactérie nageant parallèlement et à proximité d'une surface va « voir » son image et ressentir le champ hydrodynamique d'un dipôle équivalent de l'autre côté de la paroi. La bactérie est soumise à une composante de la

vitesse dans la direction de l'image ce qui « l'aspire » et l'entraîne vers la surface. Cette vitesse est de l'ordre de $u_z \sim \lambda/\eta z^2$ en prenant z la distance avec la paroi et λ la force du dipôle. Considérer cette image fictive est nécessaire pour que le problème ait du sens d'un point de vue physique et de respecter la condition limite à la paroi.

Berke [34] propose un modèle hydrodynamique visant à interpréter ce processus d'interaction avec la paroi. Il montre que quelque soit l'angle d'attaque et dès lors que sa distance avec la surface z est de l'ordre la taille d'une bactérie ($l \sim 10 \mu\text{m}$), la bactérie sera inévitablement réorientée parallèlement à celle-ci à un temps caractéristique $\tau_{\parallel} \sim \eta l^3/\lambda \sim 1 \text{ s}$; temps caractéristique d'alignement beaucoup plus long pour une particule équivalente Brownienne $\tau_r^{\text{batonnet}} \sim D_r^{\text{batonnet}}{}^{-1} \sim 10^2 \text{ s}$. Il montre alors que la distribution de probabilité de la concentration de bactéries $c(z)$ entre deux plaques parallèles relève finalement de la compétition entre la vitesse d'attraction u_z et le coefficient de diffusion translationnel bactérien perpendiculaire à la surface D_t^z [34]. L'ajustement est représenté en traits pleins sur la figure 1.12. Il est à noter que son modèle ne prend pas en compte les effets stériques.

Le modèle cinétique de Saintillan présenté plus haut permet également la visualisation de cette accumulation aux surfaces mais cela, en négligeant complètement les interactions stériques et hydrodynamiques avec la paroi. À la paroi, le flux translationnel $\dot{\mathbf{x}}$ normal aux parois doit être nul pour respecter la condition aux limites d'imperméabilité. En injectant l'équation 1.9 à cette condition aux limites, un équilibre se fait entre la diffusion translationnelle et la nage de la bactérie normale à la surface :

$$D_t \frac{\partial \Psi}{\partial z} = v_s \cos \theta \Psi \quad \text{en } z = \pm h \quad (1.11)$$

Cela implique qu'une bactérie orientée vers la paroi supérieure ($\cos \theta > 0$ en $z = +h$) et vers la paroi inférieure ($\cos \theta < 0$ en $z = -h$) mènent vers un gradient de bactéries normal à la paroi, respectivement, positif ($\partial \Psi / \partial z > 0$) et négatif ($\partial \Psi / \partial z < 0$) résultant alors en une accumulation au niveau des surfaces.

Peu de données expérimentales alimentent la littérature sur ces profils de concentration en écoulement. Rusconi [35], observe que le taux de cisaillement est responsable de fortes hétérogénéités spatiales sur la distribution de bactéries au sein du canal. Il souligne l'émergence d'une zone de déplétion en concentration au centre du canal chez la bactérie *Bacillus subtilis*. Les bactéries sont piégées dans les zones à fort gradient où le temps caractéristique de l'alignement de la bactérie par l'écoulement $\sim \dot{\gamma}^{-1}$ est faible devant le temps caractéristique nécessaire à celle-ci pour se réorienter $\sim D_r^{-1}$. Quand bien même l'intensité de l'écoulement est faible voire nulle, la proximité avec la paroi ($\sim 10 - 20 \mu\text{m}$) diminue la fréquence des événements de tumbling de moitié en raison des interactions et les réorientations de tumbling se trouvent à être principalement parallèles à cette paroi

[36]. Le piégeage est donc d'autant plus prononcé.

1.2.2. À l'échelle de la suspension

La partie précédente visait à faire l'état de l'art de la bactérie *Escherichia coli*, des mécanismes permettant la nage et avait pour vocation d'expliquer les conséquences du cisaillement sur le comportement individuel. En physique, une phase dispersée (ensemble de bactéries) contenue au sein d'une phase continue est appelée suspension. Plus particulièrement, dans notre cas l'adjectif « active » est attribué à notre suspension. En effet, les micro-nageurs se meuvent au sein du fluide de manière complètement autonome sans qu'aucune contribution ou énergie extérieure ne soit apportée au système. Pour cela, ils puisent dans leur environnement, en permanence, les ressources chimiques qu'ils convertissent en énergie mécanique pour permettre leur motilité. L'apport continu d'énergie mécanique au sein de la suspension fait de ce système un système hors-équilibre.

Une suspension active est caractérisée par sa fraction volumique ϕ basée sur le volume du corps :

$$\phi = c\mathcal{V}_b \quad (1.12)$$

où c est la concentration bactérienne et \mathcal{V}_b le volume du corps ($\sim 1 \mu\text{m}^3$). Dans la suite du manuscrit, nous utiliserons cette définition de ϕ mais il est possible de trouver parfois une fraction volumique ϕ^{ex} où les auteurs vont plutôt choisir de prendre en compte le volume exclu dû à la présence des flagelles. Ce volume exclu est le volume d'une sphère équivalente dont le diamètre est la longueur l de la bactérie. La transition d'une suspension diluée où les bactéries ne se « voient » pas d'un point de vue hydrodynamique et une suspension semi-diluée se situe à $\phi^{ex} = \mathcal{O}(1)$ [9].

1.2.2.1. Les mouvements collectifs

Le champ hydrodynamique généré par *E. coli* lors de sa nage affecte aussi bien la diffusion de particules passives [37, 38] que la dynamique des autres microorganismes dans son voisinage. La combinaison des phénomènes stériques et des champs hydrodynamiques entre nageurs organise spatialement la suspension bactérienne en favorisant un alignement parallèle entre les bactéries [39]. À l'échelle de la suspension, ces interactions entre nageurs donnent naissance à des structures cohérentes et dynamiques dont la taille varie de 10 à plusieurs centaines de micromètres.

La formation de ces structures est graduelle avec la concentration et se manifeste tout d'abord par l'apparition de *clusters* dynamiques jusqu'à un régime abouti de bio-convection (Fig. 1.13) ; phénomène déjà bien connu pour la bactérie *Bacillus subtilis* [40, 41]. Au cours

de ses travaux de thèse, Gachelin [42] montre également que les longueurs de corrélation de ces structures augmentent linéairement avec la fraction volumique en cohérence avec ce que propose le modèle de Saintillan et Shelley [43].

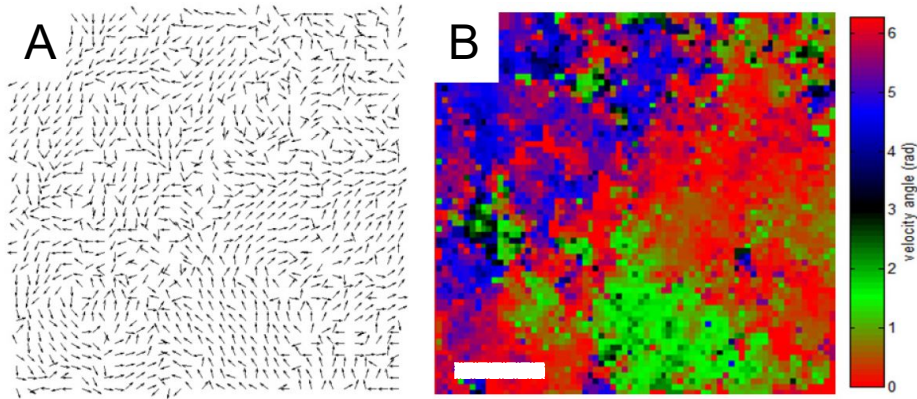


Figure 1.13: Distribution spatiale des vitesses obtenue par μ -PIV pour une suspension d'*E. coli* à $\phi = 8\%$ [42]. **A** Vecteurs vitesse. **B** Orientation des vitesses. La barre blanche représente $30\ \mu\text{m}$.

La littérature ne fait part que de très peu de résultats expérimentaux concernant *E. coli*. Beaucoup d'entre eux portent notamment sur la bactérie *B. subtilis* qui est également une bactérie de type *pusher*. Ces structures collectives prennent des aspects multiples tels que des vortex, des jets ou des tourbillons [44-47] et il n'y a aucune raison théorique pour que ces singularités ne surviennent que pour *B. subtilis*. Différents paramètres expérimentaux tels que le confinement [41, 48, 49], la géométrie ou bien la nature de l'interface (fluide, solide) [41, 50] peuvent conduire à diverses organisations macroscopiques et impacter sur l'organisation spatio-temporelle de la suspension.

Sous écoulement, ces comportements collectifs sont sans doute à l'origine des comportements rhéologiques singuliers que présentent les suspensions actives [51-54]. L'étude de ces mouvements d'ensemble est un premier pas dans la compréhension de la rhéologie « active » et du phénomène de « superfluidité » [53] retrouvé à ces régimes concentrés.

1.2.2.2. La rhéologie active

Les premières mesures de la viscosité d'une suspension active sont réalisées par Sokolov *et al* en 2009 [51]. Une goutte de suspension bactérienne est disposée entre 4 fibres étirées afin de former un film mince (d'épaisseur $\sim 200\ \mu\text{m}$). Ils mesurent la viscosité de ce film grâce à deux techniques. Une première consiste à mesurer la vitesse de décroissance d'un vortex initialement induit à ce film. Ils établissent alors une relation entre l'évolution temporelle des vitesses du vortex et la viscosité. Toujours sur ce même film, la seconde méthode consiste à mesurer le couple exercé par les bactéries sur une par-

ticule électromagnétique immergée dans le film. Ces deux méthodes donnent des résultats similaires et des valeurs de viscosité inférieures à celles du fluide suspensé, *i.e.* fluide en l'absence de bactéries, et ce jusqu'à un facteur 7.

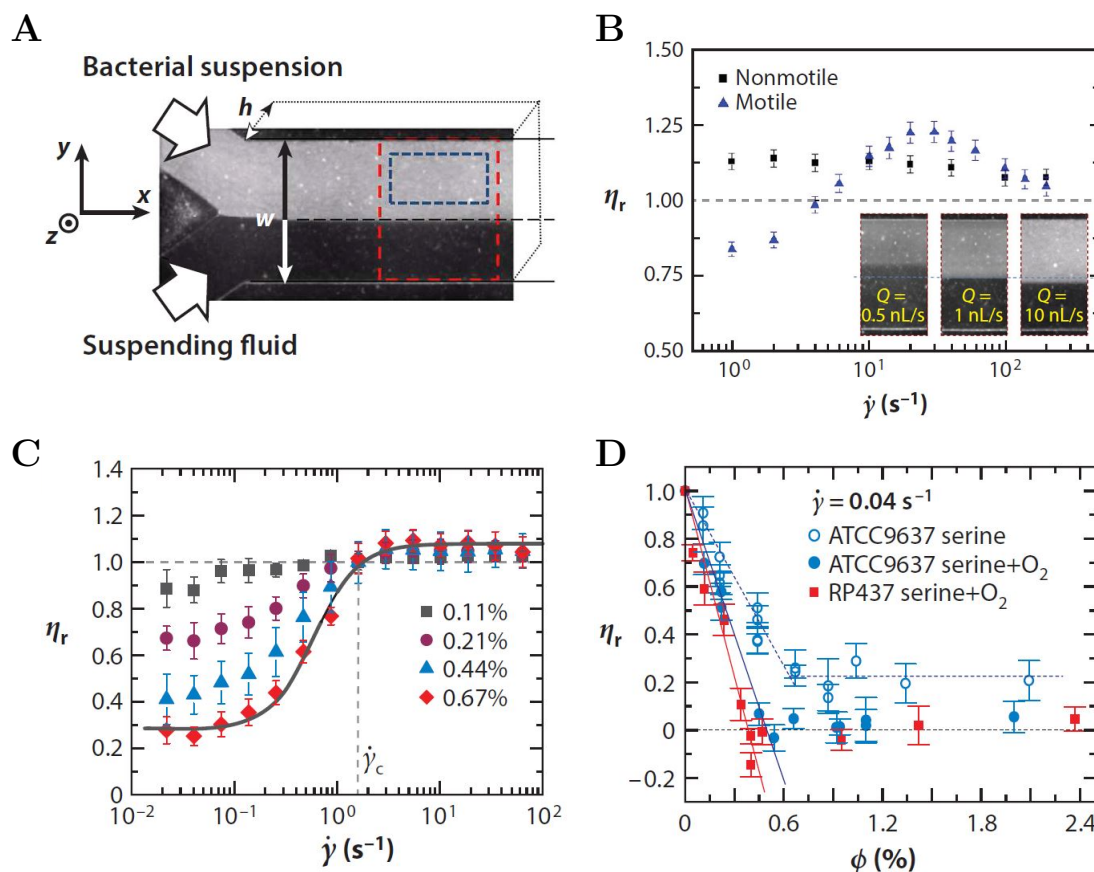


Figure 1.14: Comportement rhéologique d'une suspension d'*E. coli*. **A** Micro-rhéomètre : cellule microfluidique en forme de Y. **B** Évolution de la viscosité relative η_r d'une suspension d'*E. coli* en fonction du taux de cisaillement moyen de la suspension obtenue grâce au dispositif **A** [52]. **C** Évolution de la viscosité relative η_r d'une suspension d'*E. coli* en fonction du taux de cisaillement moyen de la suspension obtenue en rhéomètre de Couette et pour différentes fractions volumiques en bactéries ϕ [53]. **D** La diminution de viscosité dépend de l'activité bactérienne pouvant mener à des viscosités « négatives » [53].

Les années suivantes, le caractère non-Newtonien de la suspension est mesuré grâce à des techniques de microfluidique (Fig. 1.14A et B) [52] ou par rhéométrie en cellule de Couette [53] (Fig. 1.14C et D). Plus particulièrement grâce à cette dernière technique, Lopez observe à très faibles taux de cisaillements l'apparition d'un plateau Newtonien actif dont la valeur est très faible devant la viscosité du fluide suspensé. De plus, la valeur de ce plateau est d'autant plus faible que la concentration est importante (Fig. 1.14C). À faibles $\dot{\gamma}$ et sous condition oxygénée, la viscosité de la suspension active laisse apparaître des viscosités négatives (Fig. 1.14D) ; phénomène appelé par son auteur « superfluidité ».

Le couplage entre l'écoulement cisailant et la contribution hydrodynamique des bactéries motiles est à l'origine de cette rhéologie particulière. Cette contribution active peut être interprétée comme une contrainte active interne au fluide qui s'additionne au terme de contraintes visqueuses qui interviendrait naturellement dans le cas de particules passives [55]. En écoulement cisailant, un corps mince passif décrit les rotations périodiques de Jeffery et va de ce fait passer une majeure partie de son temps aligné et parallèle à l'écoulement. Cette propriété est différente pour une particule active, l'orientation est dépendante du processus de run & tumble mais la probabilité d'orientation se voit aussi être plus importante dans la direction du cisaillement (terme hors-diagonaux du tenseur des contraintes). Cette orientation a pour conséquence d'« étirer » le fluide dans cette même direction et exerce une contrainte active d'intensité $\sim -F_{prop}l$. Cette contrainte, indépendante de l'écoulement externe, s'oppose alors au terme de dissipation d'énergie par viscosité et vient à faciliter la déformation du fluide dans la direction du cisaillement et mène donc à une viscosité apparente plus faible.

1.3. Positionnement de l'étude

L'objectif de ce manuscrit vise à approfondir et enrichir nos connaissances sur le transport d'une suspension de bactéries *Escherichia coli* motiles en milieu confiné. Au long de l'*État de l'art*, nous avons exposé certains phénomènes et comportements typiques d'une suspension active en l'absence et en présence de forces hydrodynamiques externes. Bon nombre de ces phénomènes seront également retrouvés au cours de nos travaux. Nous verrons que certains d'entre eux ne sont pas influencés par la valeur de confinement de la suspension et ne dépendent alors que du taux de cisaillement à l'échelle locale. En revanche, le paramètre confinement influe notablement sur la répartition d'*E. coli* au sein de la cellule microfluidique lorsque la suspension est à l'équilibre. De nombreuses questions nous viennent alors à l'esprit : Comment influe le cisaillement sur la concentration bactérienne à la paroi ? Le couplage entre cisaillement et confinement est-il propice à une accumulation plus importante aux parois et donc au développement d'un biofilm ? Nous tenterons alors d'apporter des réponses à ces questions au long de ce manuscrit et notamment au cours du dernier chapitre.

2

DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL ET CARACTÉRISATION DE L'ÉCOULEMENT

Sommaire

2.1	Le banc expérimental	30
2.1.1	Cellule microfluidique et contrôle de l'écoulement	30
2.1.2	Erreurs et incertitudes de mesure	32
2.1.2.1	Imprécisions sur le gradient de pression imposé	32
2.1.2.2	Variation temporelle du gradient de pression hydro- statique	33
2.2	La Vélocimétrie par Tracking de Particules (PTV)	35
2.2.1	Principe	35
2.2.2	Choix des traceurs	36
2.2.3	Mesure de vitesse en capillaire	37
2.2.4	Traitement d'images et suivi Lagrangien de particules	37
2.2.5	Courbe d'écoulement locale	39
2.3	Rhéologie locale du milieu de mobilité et validation	41

2.1. Le banc expérimental

L'ensemble du système expérimental a été conçu dans l'optique de permettre la visualisation de la dynamique bactérienne sous un écoulement confiné purement laminaire. La microfluidique est une discipline visant à étudier ces écoulements au sein de canaux dont l'une des dimensions de la section est inférieure au millimètre. Les valeurs du nombre de Reynolds associé sont généralement faibles, bien inférieures à l'unité :

$$\text{Re} = \frac{\rho u D}{\eta} \ll 1 \quad (2.1)$$

où ρ est la masse volumique du fluide, η sa viscosité dynamique, u sa vitesse et D une longueur caractéristique. Dans l'ensemble de nos expériences, les nombres de Reynolds seront toujours à 10^{-2} .

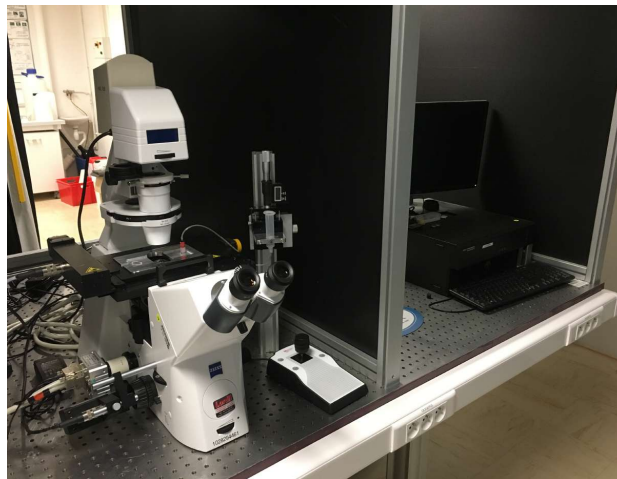


Figure 2.1: Photo du banc expérimental.

La cellule d'écoulement est placée sur une platine motorisée du microscope ZEISS Axio Observer (Fig. 2.1). La course en z de l'objectif permet le balayage sur la hauteur du capillaire et est contrôlée par un moteur directement intégré au microscope dont la résolution du pas est de $0.25 \mu\text{m}$. L'imagerie est possible grâce à une caméra CCD 8-bit dont la fréquence d'échantillonnage temporelle maximale est de 192 Hz en plein champ ($2320 \text{ px} \times 1726 \text{ px}$). L'ensemble de cette instrumentation est contrôlée par ordinateur grâce au logiciel *DANTEC*.

2.1.1. Cellule microfluidique et contrôle de l'écoulement

Les canaux que nous utilisons ici sont appelés « capillaires ». Ils possèdent une section rectangulaire avec un rapport d'aspect faible (hauteur/largeur=0, 1). Ils sont achetés

auprès de la société *VitroCom* et sont disponibles pour une grande gamme de hauteur h variant de 10 à plusieurs centaines de micromètres d'épaisseur. Ces puces microfluidiques sont disposées sur une plaque de support de microscope (Fig. 2.2) confectionnée au LEMTA. Cette plaque est percée en son centre afin de permettre l'imagerie via l'objectif de microscope. Deux connectiques sont collées aux extrémités du capillaire grâce à de la colle Epoxy afin d'assurer l'étanchéité du système. Elles permettent l'alimentation en liquide et, en fonction du besoin, on pourra venir y placer par la suite des réservoirs contenant la suspension à étudier.

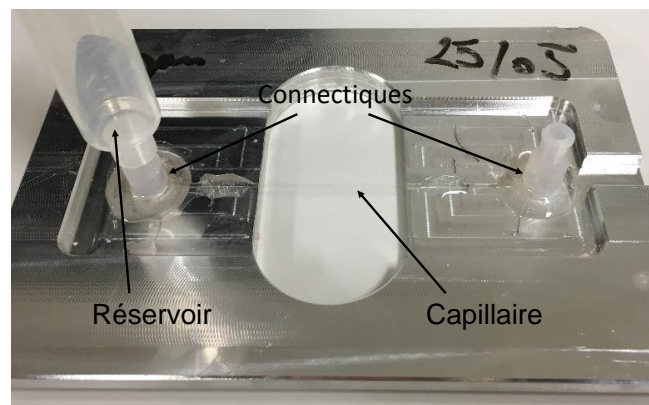


Figure 2.2: Photo d'un capillaire en verre collé sur une plaque de support de microscope.

Dans la littérature, il est courant d'utiliser un pousse-seringue pour imposer un débit et donc générer un écoulement au sein de cellules microfluidiques. Dans notre configuration et particulièrement à très bas débit, le pousse-seringue provoque des à-coups qui perturbent l'écoulement. Il est également compliqué de mesurer la pression aux bornes du dispositif car les pertes de charge engendrées par l'écoulement sont très faibles. Pour atteindre de très faibles vitesses d'écoulement de l'ordre de la vitesse de nage de la bactérie et permettre de déterminer la répartition de contraintes en tout point de l'écoulement, nous avons donc fait le choix d'une configuration en écoulement gravitaire. À titre indicatif, il est nécessaire de pouvoir imposer des ΔP de l'ordre du Pascal.

Pour cela, un des deux réservoirs est fixé à un support équipé d'une vis micrométrique disposée verticalement permettant d'imposer finement une différence de hauteur ΔH entre l'entrée et la sortie du capillaire de manière à générer ou non un écoulement (Fig. 2.3). Connaissant le ΔH , il est alors aisé de remonter à la différence de pression aux bornes de la cellule grâce au principe fondamental de l'hydrostatique dans le cas d'un fluide incompressible :

$$\Delta P = \rho g \Delta H \quad (2.2)$$

où ΔP désigne la différence de pression aux bornes de la cellule, ρ la masse volumique de la suspension et g l'accélération de la pesanteur. Typiquement pour de l'eau, un $\Delta P = 1$ correspond à un $\Delta H \sim 10^{-4}$ m.

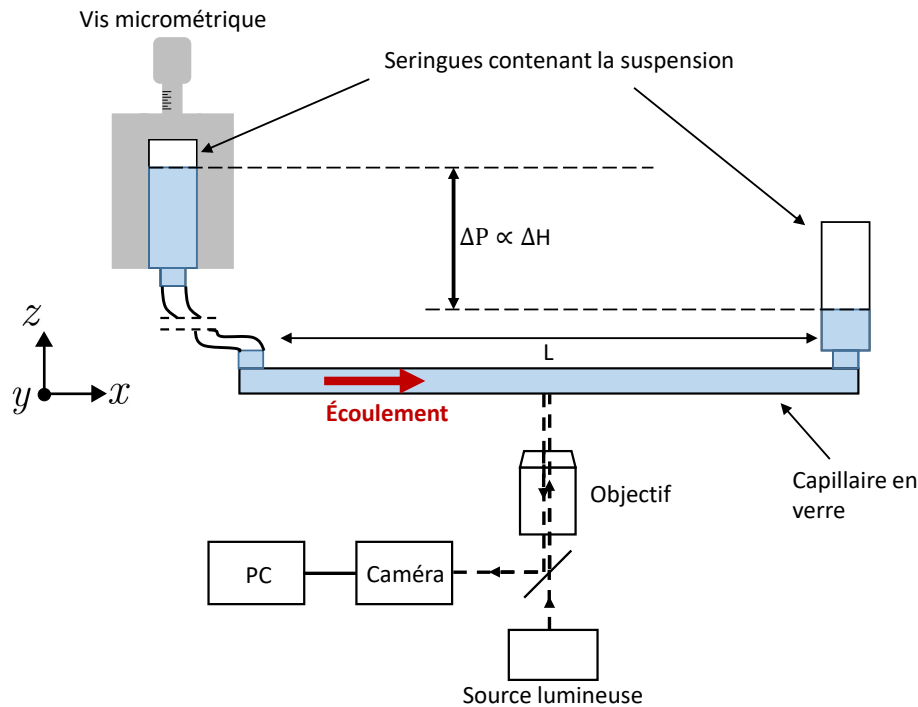


Figure 2.3: Schéma du dispositif expérimental.

2.1.2. Erreurs et incertitudes de mesure

2.1.2.1. Imprécisions sur le gradient de pression imposé

La différence de hauteur entre les deux surfaces des seringues d'entrée et de sortie est réglable au micromètre près grâce à la vis micrométrique numérique mentionnée précédemment.

Pour imposer un écoulement contrôlé et de manière précise, il faut tout d'abord équilibrer le niveau entre les deux réservoirs. Pour cela, nous prévisualisons la suspension à mi-hauteur du canal (où la vitesse de l'écoulement est maximale) à une fréquence de 1 Hz pour être suffisamment sensible aux mouvements d'ensemble dus à l'advection. Par observation d'une particule purement diffusante (bactérie inactive ou traceur) nous utilisons alors la vis micrométrique pour atténuer au mieux l'écoulement résiduel. C'est cette étape qui est susceptible de mener à des imprécisions sur le ΔP que l'on souhaite imposer notamment pour les capillaires de faibles hauteurs car moins sensibles aux variations

de pression. Quelque soit la taille du capillaire, l'écoulement résiduel est de l'ordre ou inférieur à $0.5 \mu\text{m.s}^{-1}$. Le cas le plus défavorable est naturellement le capillaire dont la dimension est la plus petite ($h = 30 \mu\text{m}$). Pour limiter ces erreurs, le plus petit ΔP que nous imposerons sera de 2 Pa pour des capillaires de $h = 50$ et $100 \mu\text{m}$ (erreur sur le ΔP imposé $< 1 \%$) et 5 Pa pour le capillaire de $30 \mu\text{m}$ (erreur sur le ΔP imposé $\sim 6 \%$). La limite haute du ΔH est uniquement fixée par la fréquence d'acquisition maximale que la caméra CCD peut atteindre.

En effet pour le cas le plus défavorable, c'est à dire pour le plus petit capillaire dont nous disposons ($h = 30 \mu\text{m}$), nous estimons l'erreur maximale sur l'équilibrage des pressions à $\sim 0.3 \text{ Pa}$ équivalent à un écoulement résiduel d'environ $0.3 \mu\text{m.s}^{-1}$.

2.1.2.2. Variation temporelle du gradient de pression hydrostatique

De part le système utilisé, le ΔH imposé initialement au début d'une expérience ne va pas rester constant au cours du temps : le réservoir d'entrée va se vider progressivement pour alimenter le réservoir situé en sortie. Le niveau entre les deux réservoirs tend à s'équilibrer et a pour conséquence de modifier le ΔH , donc le ΔP . L'erreur induite peut être approximée en calculant l'évolution temporelle de la différence de hauteur d'eau $H(t)$ dans les seringues.

De la conservation du débit entre les bornes du capillaire, on a :

$$\begin{cases} Q_e = \frac{dH_e}{dt}S \\ Q_s = -Q_e = \frac{dH_s}{dt}S \end{cases} \implies \frac{d(H_e - H_s)}{dt} = \frac{-2Q_e}{S} \quad (2.3)$$

où Q_e et H_e sont respectivement le débit et la hauteur de fluide en entrée ; Q_s et H_s en sortie et S la surface libre au sein de la seringue. À faible nombre de Reynolds et pour un fluide incompressible, la perte de charge aux bornes du capillaire est proportionnelle au débit et la relation (2.2) s'écrit :

$$\Delta P(t) = \rho g(H_s - H_e) = R_h Q(t) \quad (2.4)$$

avec R_h la résistance hydraulique. Pour des sections rectangulaires à fort rapport d'aspect, ce qui est toujours le cas dans nos expériences, la résistance hydraulique est approximée par $R_h = \frac{12\eta L}{h^3 w}$ avec η la viscosité dynamique du fluide, h la hauteur du capillaire, L sa longueur et w sa largeur. Il est important de souligner que l'erreur sur le calcul du débit est seulement de 0,2 % en utilisant l'approximation de Hele-Shaw pour des rapports d'aspect déjà égaux à 2 [56]. La figure 2.4 présente le champ de vitesses d'un écoulement d'eau dans un capillaire rectangulaire dont le rapport d'aspect est de 10, simulant nos

conditions expérimentales. Il apparaît nettement que si nous effectuons une mesure de vitesse suffisamment au centre du canal (selon w) nous pouvons nous affranchir des effets de bord ce qui peut se révéler utile lors de mesures de PIV/PTV car nous réduisons notre écoulement à un écoulement de Poiseuille 1D.

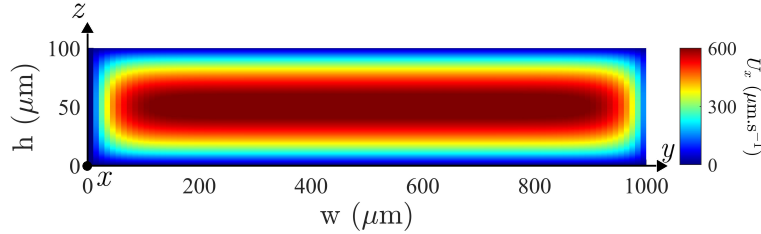


Figure 2.4: Champ de vitesses 3D d'un écoulement d'eau dans un capillaire rectangulaire obtenu sous MATLAB; $h = 50 \mu\text{m}$ et $\Delta P = 50 \text{ Pa}$.

En posant $H_e - H_s = \Delta H(t)$, (2.3) et (2.4) donnent :

$$\frac{d\Delta H(t)}{dt} = -\frac{2\rho g}{R_h S} \Delta H(t) \quad (2.5)$$

En intégrant cette dernière équation on obtient finalement la formulation de la variation de hauteur de fluide au cours du temps :

$$\Delta H(t) = \Delta H_0 \exp(-t/\mathcal{T}) \quad (2.6)$$

où $\mathcal{T} = \frac{R_h S}{2\rho g}$ est la constante de temps.

Pour un fluide donné, la variation de hauteur dans les réservoirs est donc uniquement liée aux paramètres géométriques du capillaire (h et L). Plus les hauteurs des capillaires sont importantes, plus la résistance hydraulique se voit être faible. Par conséquent, l'erreur de mesure croît lorsque l'épaisseur augmente.

La figure 2.5 présente l'erreur $1 - \Delta H(t)/\Delta H_0$ faite sur le ΔP pour $h = 30$; 50 et $100 \mu\text{m}$ sur une période d'une heure. Lors de nos expériences nous veillerons donc à ne pas dépasser 10 min d'expérience pour le capillaire $h = 100 \mu\text{m}$ afin de limiter l'erreur sur la vitesse à 5%.

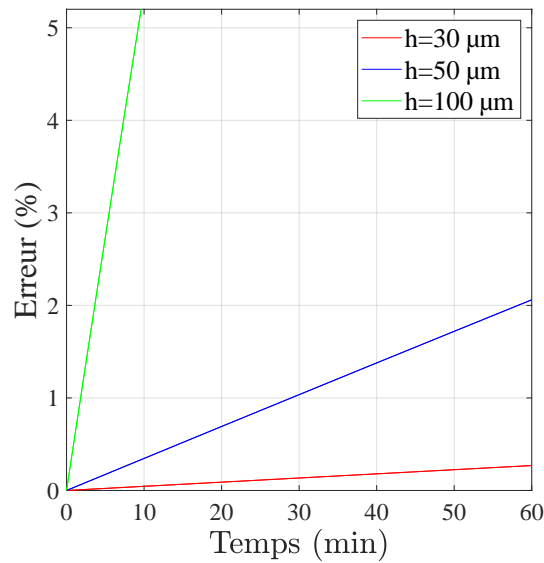


Figure 2.5: Évolution de l'erreur $1 - \Delta H(t)/\Delta H_0$ au cours du temps sur le ΔP imposé initialement. Cette erreur est tracée pour trois hauteurs de capillaire.

2.2. La Vélocimétrie par Tracking de Particules (PTV)

2.2.1. Principe

Le principe général de la μ -PTV est le même que la PTV classique. Il consiste à imager les déplacements de particules fluorescentes ou traceurs illuminés par un laser. La profondeur de champ de l'objectif (de l'ordre du μm) permet de filtrer spatialement les particules où seules celles qui seront présentes dans le plan focal seront visibles sur l'image. Nous utilisons un laser nd;YAG de longueur d'onde d'émission de 532 nm. L'ouverture de l'obturateur de la caméra CCD est synchronisée avec les pulses laser afin de permettre l'acquisition d'images à une fréquence d'échantillonnage prédéfinie par l'utilisateur. Il est nécessaire de porter un soin tout particulier au choix de cette fréquence d'échantillonnage et doit être adaptée avec la vitesse de l'écoulement. En effet, lors des manipulations, cette fréquence f est choisie de façon à ce que les traceurs se déplacent d'environ une fois leur taille entre deux images consécutives. Si ce déplacement est trop faible, l'erreur sur la détection de la position de la particule pourrait devenir prédominante devant son déplacement et s'il est trop important, une particule pourrait être confondue avec une autre particule sur l'image suivante.

2.2.2. Choix des traceurs

Le premier critère auquel il faut porter attention lors du choix des traceurs réside sur leur longueur d'onde d'excitation. Elle doit correspondre à la longueur d'onde d'émission du laser qui va alors engendrer la fluorescence. Les fluosphères INVITROGEN Nil-red présentent les caractéristiques adéquates avec une excitation à 535 nm et une émission à 575 nm. Pour ces longueurs d'onde, trois tailles de traceurs ont été choisies puis testées : 1, 2 et 10 μm de diamètre. Tous présentent un rapport signal/bruit élevé pour être retenus. Ils doivent tracer parfaitement le fluide sans pour autant perturber l'écoulement, notamment de par leur taille ou leur concentration, ce qui aurait alors pour conséquence de modifier la rhéologie du fluide. Pour cela les suspensions étudiées sontensemencées à une fraction volumique fixée à 0.01 %. Étant donné que nous nous retrouverons plus tard à travailler avec des capillaires dont la hauteur h est de 30 μm , les traceurs de 10 μm de diamètre ont été d'emblée éliminés car ils ne peuvent offrir une résolution spatiale suffisamment importante pour nous intéresser et pourraient même altérer l'écoulement.

Nous nous sommes également penchés sur la vitesse de sédimentation U_s des particules. Elle doit être faible devant la vitesse de l'écoulement u_x . La vitesse de sédimentation peut être déterminée en appliquant à la sphère le principe fondamental de la dynamique :

$$U_s = \frac{2}{9} \frac{gr^2}{\eta} (\rho_{\text{susp}} - \rho_{\text{sphere}}) \quad (2.7)$$

avec η la viscosité dynamique, g l'accélération de la pesanteur, r le rayon de la sphère et ρ_{susp} et ρ_{sphere} , respectivement, les masses volumiques de la suspension et de la bille de polystyrène. Pour des billes de 1 μm de diamètre, $U_s \approx 10 \text{ nm.s}^{-1}$ est très faible devant des vitesses d'écoulement allant de 5 à plusieurs centaines de $\mu\text{m.s}^{-1}$.

Un dernier point pouvant attirer l'attention est le phénomène de mouvement Brownien subi par la sphère. Il est quantifiable grâce au coefficient de diffusion Brownien D_B et met en avant la compétition entre les effets thermiques et les effets visqueux agissant sur la particule :

$$D_B = \frac{k_b T}{6\pi\eta r_{eq}} \quad (2.8)$$

avec k_b la constante de Boltzmann, T la température et r_{eq} le rayon équivalent. Connaissant ce coefficient, on peut déterminer le déplacement en 1D d'un traceur entre deux images : $\Delta x = \sqrt{2D_B \delta t}$. Si on considère à 1 seconde le temps δt d'acquisition entre deux images, soit la fréquence temporelle minimale que la caméra CCD peut atteindre, $\Delta x \approx 1 \mu\text{m}$ pour $r = 0.5 \mu\text{m}$. Ce déplacement est important en comparaison des vitesses d'écoulement étudiées mais la marche d'une particule soumise à l'agitation thermique

est complètement aléatoire; les probabilités qu'elle fasse un pas « en avant » ou « en arrière » sont égales et $\langle \Delta x \rangle \rightarrow 0$. En accumulant les statistiques au sein d'un écoulement uniforme, la vitesse moyenne résultante ne sera alors que très peu biaisée par le mouvement Brownien individuel.

2.2.3. Mesure de vitesse en capillaire

Pour reconstruire le profil de vitesse, nous balayons le capillaire sur sa hauteur grâce à la platine motorisée en z (Fig. 2.6A). Les mesures sont réalisées dans la zone centrale du capillaire selon l'axe y pour négliger les effets des parois latérales et suffisamment loin de l'entrée pour considérer le profil comme établi ($x \approx 5$ cm et $y \approx w/2$). Dans notre configuration, à chaque plan (x,y) correspond une isovitesse (Fig. 2.6B). La fréquence d'acquisition est adaptée à chacune de ces positions z pour respecter les critères sur les déplacements d'une particule entre deux images. À chacun de ces pas une centaine d'images est enregistrée dans le but de raffiner les données statistiques. Nous utilisons ici un objectif $\times 40$ avec une faible profondeur de champ (≈ 1 μm) afin de limiter la détection de particule hors du plan focal. Les positions des parois inférieure et supérieure du capillaire sont repérables, au μm près, grâce à certains traceurs fluorescents adsorbés sur celles-ci. On se considère focalisé à la paroi lorsque l'intensité du traceur est maximale. Pour connaître l'altitude à laquelle le plan de focalisation se situe, il est important de prendre en compte les différents indices de réfraction des milieux que traverse le faisceau lumineux. Pour un pas d_{physique} inscrit sur le logiciel, le pas réel est donné par :

$$dz = \frac{n_{\text{fluide}}}{n_{\text{air}}} d_{\text{physique}} \quad (2.9)$$

2.2.4. Traitement d'images et suivi Lagrangien de particules

Après l'acquisition d'images, une étape importante pour la suite de l'analyse est le traitement d'images réalisé grâce au logiciel *MATLAB*. La première étape de traitement vise à éliminer le bruit de fond généré à la fois par le capteur lui même ainsi que par la lumière environnante. Pour cela, une moyenne des niveaux de gris pixel par pixel est effectuée sur une même série d'images et résulte en une image moyenne ensuite soustraite à l'image étudiée (Fig. 2.7B). Ce processus permet également d'éliminer les poussières ou autre objet immobile indésirable pour l'exploitation des données. Un filtre gaussien de 3×3 px et de déviation standard de 0.75 est appliqué à l'ensemble de l'image dans le but de la lisser et de toujours amoindrir le bruit (Fig. 2.7C).

Une fois les images traitées, l'algorithme développé par John Crocker et David Grier

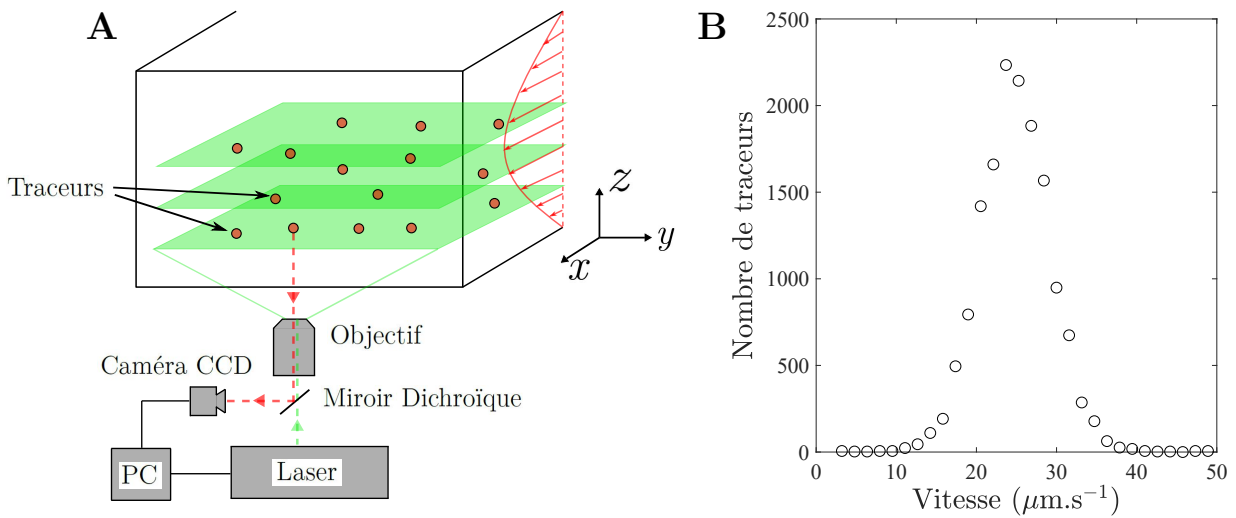


Figure 2.6: **A** Schéma du système de μ -PTV pour la mesure de vitesses en capillaire. **B** À chaque plan selon z correspond une isovitesse.

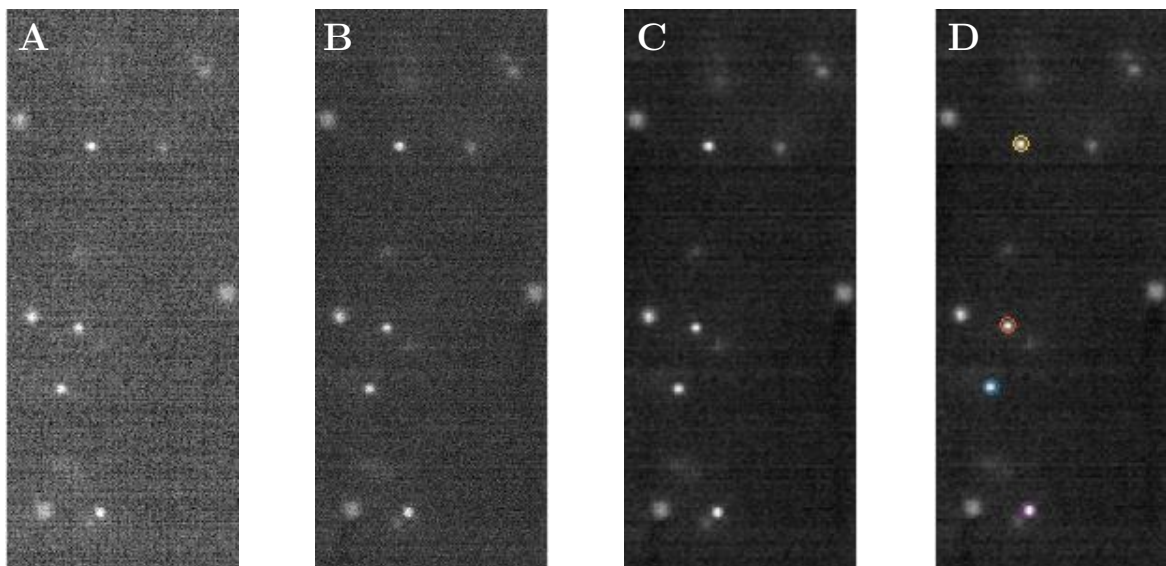


Figure 2.7: Les différentes étapes du traitement d'images : **A** Image brute, **B** Image moyenne soustraite, **C** Application du filtre gaussien, **D** Détection des positions.

[57] permet de détecter, avec une résolution sub-pixellaire, chaque particule suivant deux conditions imposées par l'utilisateur. La première est une condition sur la taille des particules à détecter et la seconde correspond à un seuillage sur les niveaux de gris. Ce seuillage est fixé à 75% de la valeur du pixel le plus intense présent sur l'image et permet d'éliminer les particules en-dehors du plan de focalisation (Fig. 2.7D). Finalement, l'algorithme reconstruit les trajectoires des particules détectées en identifiant les positions d'une même particule au cours du temps. Les traceurs étant fortement dilués et leurs déplacements d'une image à l'autre n'excédant pas une fois leur taille, l'erreur sur l'identification de la bonne trajectoire est faible voire nulle.

2.2.5. Courbe d'écoulement locale

À partir des profils de vitesses ainsi obtenus expérimentalement, il est possible de déterminer la courbe de rhéologie locale en calculant le cisaillement et la contrainte locale.

Le cisaillement local

Le cisaillement local $\dot{\gamma}$ correspond en tout point à la pente du profil de vitesse et est obtenu par dérivation de ce profil avec un schéma centré d'ordre 2 :

$$\dot{\gamma}(z) = \frac{u_x(z + dz) - u_x(z - dz)}{2dz} \quad (2.10)$$

où dz correspond à un pas expérimental.

La contrainte locale

L'écoulement d'un fluide est décrit par l'équation de conservation de quantité de mouvement donnée par la relation généralisée de Navier-Stokes :

$$\rho \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + \rho(\mathbf{u} \cdot \nabla) \mathbf{u} = -\nabla P + \rho \mathbf{f} + div(\bar{\sigma}) \quad (2.11)$$

Par la suite, nous nous limiterons à l'étude d'écoulements stationnaires où $\rho \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t}$ est nul. Nous travaillons également à très faibles nombres de Reynolds $Re \ll 1$, le terme inertiel $\rho(\mathbf{u} \cdot \nabla) \mathbf{u}$ est alors négligeable devant le terme des contraintes visqueuses $div(\bar{\sigma})$. Seule l'accélération de la pesanteur \mathbf{g} intervient dans le terme $\rho \mathbf{f}$ représentant les forces volumiques. N'échangeant aucune énergie avec l'écoulement, ce terme ne sera pas pris en compte par la suite. Finalement, cette équation se résume à :

$$\nabla P = div(\bar{\sigma}) \quad (2.12)$$

Elle est plus communément appelée équation de Stokes où ∇P représente les forces volumiques de pression et $\bar{\sigma}$ le déviateur du tenseur des contraintes.

L'écoulement étant unidirectionnel selon x et invariant suivant y (approximation de Hele-Shaw) et en considérant le fluide incompressible, l'équation de conservation de la masse s'écrit :

$$div \mathbf{u} = \frac{\partial u_x}{\partial x} = 0 \quad (2.13)$$

Le champ de vitesse n'est décrit alors que par une seule composante à une seule variable :

$$\mathbf{u} = u_x(z)\mathbf{e}_x \quad (2.14)$$

Dans le cas d'un fluide Newtonien avec des conditions aux limites de non-glissement, l'équation de conservation de quantité de mouvement dans ce type de géométrie donne alors le profil bien connu de Poiseuille :

$$u_x(z) = -\frac{\Delta P}{2\eta L}(z^2 - hz) \quad (2.15)$$

En prenant en compte toutes ces données et puisque la contrainte n'est fonction que des variables de la vitesse, par projection de l'équation (2.12) sur les axes on peut écrire :

$$\begin{cases} \frac{\partial P}{\partial x} = \frac{\partial \sigma_{xz}}{\partial z} \\ \frac{\partial P}{\partial z} = \frac{\partial \sigma_{zz}}{\partial z} \end{cases} \quad (2.16)$$

$$\quad (2.17)$$

Comme la contrainte ne dépend pas de x alors $\frac{\partial \sigma_{zz}}{\partial x} = 0$ et en effectuant un changement de variable tel que $P' = P - \sigma_{zz}$, le système précédent peut se réécrire comme :

$$\begin{cases} \frac{\partial P'}{\partial x} = \frac{\partial \sigma_{xz}}{\partial z} \\ \frac{\partial P'}{\partial z} = 0 \end{cases} \quad (2.18)$$

$$\quad (2.19)$$

Ici P' ne dépend pas de z et l'écoulement est invariant selon \mathbf{e}_y donc il ne dépend que de x . De (2.18), il vient que $\frac{\partial P'}{\partial x} = f(z)$. Par dérivation selon z , on a :

$$\frac{\partial}{\partial z} \frac{\partial P'}{\partial x} = \frac{\partial f(z)}{\partial z} \iff \frac{\partial}{\partial x} \frac{\partial P'}{\partial z} = \frac{\partial f(z)}{\partial z} \quad (2.20)$$

Et de (2.20), on peut alors facilement démontrer que la dérivé seconde en x de P' est nulle puisque $\frac{\partial P'}{\partial z} = 0$. Il vient :

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial x} \frac{\partial P'}{\partial z} = 0 &= \frac{\partial f(z)}{\partial z} \\ \iff f(z) &= Cste = \sigma_{xz} \end{aligned} \quad (2.21)$$

Par intégration de (2.18), on obtient :

$$\sigma_{xz}(z) = Az + B \quad (2.22)$$

La contrainte est symétrique par rapport au centre du canal, $\sigma_{xz}(z)$ est alors une fonction impaire et donc $B = 0$. En intégrant σ_{xz} entre les bornes du capillaire on obtient $A = \frac{\Delta P}{L}$ et finalement l'expression de la contrainte locale est donnée par :

$$\sigma(z) = \frac{\Delta P}{L} \left(z - \frac{h}{2} \right) \quad (2.23)$$

avec ΔP la différence de pression hydrostatique entre l'entrée et la sortie du capillaire, L sa longueur et h sa hauteur.

2.3. Rhéologie locale du milieu de mobilité et validation

Nous avons réalisé des profils de vitesse sur le milieu sur lequel nous travaillerons tout au long de ce travail de thèse : le milieu de mobilité. Il s'agit du milieu dans lequel seront suspendues les bactéries et sa caractérisation rhéologique est importante pour connaître son comportement sous cisaillement et en déterminer sa viscosité. La composition et l'intérêt de l'utilisation de ce milieu seront discutés dans le chapitre suivant en partie 3.1.2.

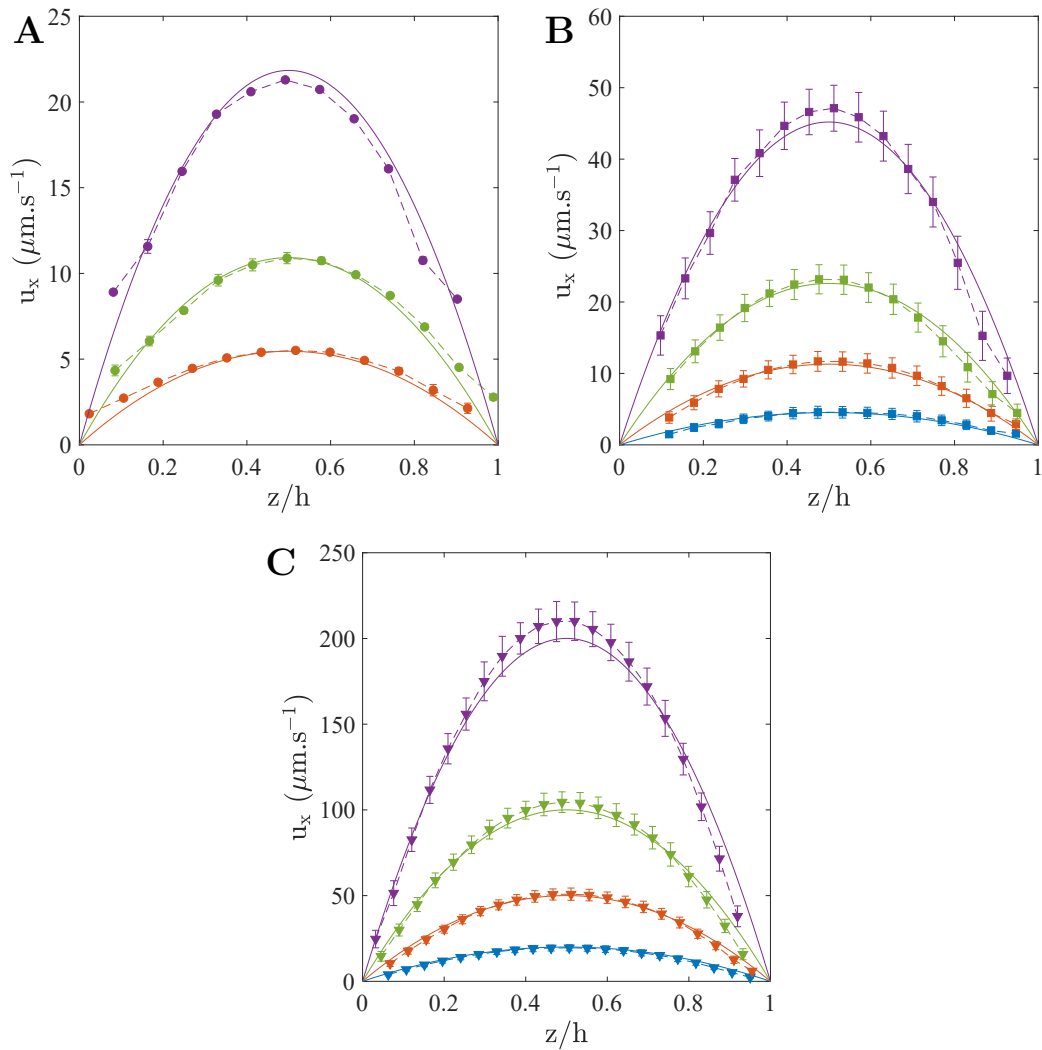


Figure 2.8: Profils de vitesse du milieu de mobilité. En symboles et pointillés correspondent les données expérimentales, en traits pleins la loi théorique de Hagen-Poiseuille 1D. Trois différentes hauteurs de capillaire sont présentées : **A** 30, **B** 50 et **C** 100 μm . Chaque couleur correspond à un ΔP : 2 Pa, 5 Pa, 10 Pa et 20 Pa.

Les profils de vitesse expérimentaux obtenus par PTV sont ainsi reportés sur la figure 2.8 où chaque point correspond à la vitesse moyenne des traceurs propre à chacun des plans de mesure réalisés. À chaque graphe **A**, **B** et **C** correspond, respectivement, une valeur de confinement équivalant à $h = 30, 50$ et $100 \mu\text{m}$. Pour ces différentes intensités d'écoulement, nous avons fait varier le ΔP de 2 à 20 Pa. Ces profils de vitesse expérimentaux ont l'allure d'une parabole, signature d'un fluide au comportement Newtonien, et nous permettent de les ajuster grâce à l'équation (2.15). Outre la validation de l'hypothèse de fluide Newtonien, l'ajustement permet également de déterminer la viscosité du milieu de mobilité. Cette viscosité, η , est laissée en paramètre libre pour chacun des profils. Des ces graphes, nous extrayons donc 11 valeurs de viscosité dont nous calculons la moyenne : $\eta = 1.22 \pm 0.14 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ en accord avec les données de la littérature [58,

59].

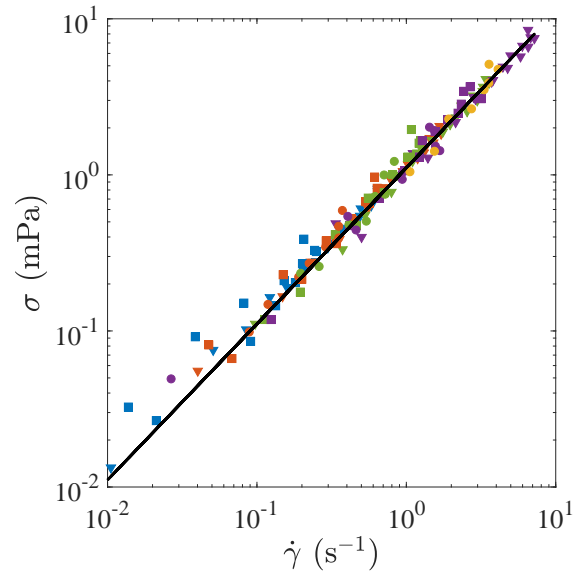


Figure 2.9: Rhéogramme obtenu des profils de vitesse expérimentaux. Le code couleur/symbole est identique à celui de la figure 2.8 : $\Delta P = 2 \text{ Pa}$, 5 Pa , 10 Pa et 20 Pa . Symboles ronds $h = 30 \text{ }\mu\text{m}$, carrés $h = 50 \text{ }\mu\text{m}$ et triangles $h = 100 \text{ }\mu\text{m}$. En trait noir, l'ajustement par régression linéaire des données avec pour pente la viscosité : $\eta = 1.22 \text{ mPa}\cdot\text{s}$

Une autre façon de présenter ces résultats consiste à tracer leurs courbes d'écoulement Fig. 2.9. Connaissant le ΔP , nous pouvons déterminer la contrainte locale au sein de l'écoulement grâce à l'équation (2.23) ainsi que le cisaillement local extrait des profils de vitesse pour finalement remonter à la rhéologie globale du fluide. L'ensemble des données est regroupée sur la figure 2.9. La contrainte évolue linéairement avec le cisaillement, typique d'un fluide Newtonien, avec pour pente la viscosité dynamique du fluide :

$$\sigma = \eta \dot{\gamma} \quad (2.24)$$

Cette dernière figure présente l'intérêt d'un tel dispositif. Il offre la possibilité d'explorer avec fiabilité une large gamme de cisaillements s'étalant sur trois ordres de grandeur tout en permettant d'atteindre des vitesses de cisaillement très faibles (jusqu'à 10^{-2} s^{-1}) très difficilement accessibles avec des rhéomètres classiques pour ces valeurs de viscosité.

En résumé

Au travers de ce chapitre, nous avons présenté le banc expérimental utilisé au cours de ce travail de thèse. Ce banc a été réfléchi dans l'optique de visualiser une suspension de bactéries ainsi que leur dynamique sous cisaillement.

Un premier défi était d'être capable d'imposer un écoulement dont les vitesses sont de l'ordre de la vitesse de nage bactérienne ($\sim 10 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) tout en connaissant la répartition de contraintes dans l'écoulement. Pour avoir accès à ce champ de contraintes, l'unique choix s'offrant à nous était alors d'imposer une différence de pression entre les deux extrémités de la cellule microfluidique. Afin de respecter ces deux conditions, nous avons opté de générer un écoulement par gravité. Nous avons montré que cet écoulement est stable et qu'il assure des résultats reproductibles. En conservant des cellules à géométrie rectangulaire pour l'ensemble de la campagne de mesures, nous préservons le champ de contraintes calculé précédemment, celui-ci n'étant que dépendant de la géométrie utilisée et non pas du fluide/suspension étudié.

Générer un écoulement de la sorte mène également à des erreurs et incertitudes que nous avons quantifiées. Un premier biais est indirectement provoqué par l'expérimentateur. Lors de l'équilibrage de la pression, un écoulement résiduel très difficilement corrigable subsiste pour les capillaires de petites tailles car très peu sensibles aux variations de pression. Dans le cas le plus défavorable, nous estimons cette erreur sur le ΔP d'environ 20 %.

Un second biais d'origine purement physique survient pour des capillaires dont la section, intrinsèquement le débit, est grandissante (à ΔP fixé). Le débit fixé initialement par le ΔP va alors évoluer au cours d'une expérience et par effet réciproque le ΔP . Pour un capillaire $h = 100 \mu\text{m}$, une erreur de 5 % sur le ΔP est induite au bout de 10 minutes d'expérience. En revanche, cette variation de hauteur entre les deux seringues est indépendante du gradient de pression.

Finalement, nous avons effectué la rhéologie du milieu de mobilité ; milieu dans lequel seront suspendues les bactéries. Son comportement rhéologique est Newtonien sur la gamme de cisaillement étudié et sa viscosité dynamique a été déterminée à 1.22 mPa.s.

3

DYNAMIQUE DE NAGE À L'ÉQUILIBRE

Sommaire

3.1 Préparation de la suspension	46
3.1.1 La culture d' <i>E. coli</i>	46
3.1.2 Le milieu de mobilité	47
3.1.3 Détermination de la fraction volumique bactérienne	48
3.2 Propriétés de nage	50
3.2.1 Le tracking	50
3.2.1.1 Reconstruction de trajectoires	50
3.2.1.2 Mesures de vitesses	52
3.2.1.3 Dynamique bactérienne	54
3.2.2 La Microscopie Dynamique Différentielle	60
3.2.2.1 Principe	60
3.2.2.2 Cas de colloïdes et validation de la méthode	62
3.2.2.3 Dynamique bactérienne	64
3.2.3 Tracking et/ou DDM? : Discussions	67

3.1. Préparation de la suspension

Comme il a été précisé lors du chapitre précédent, l'étude réalisée dans la suite de ce manuscrit portera sur la bactérie *Escherichia coli*. Le choix s'est porté sur cette bactérie car c'est l'un des microorganismes des plus étudiés par les microbiologistes. Sa découverte a été faite il y a plus d'un siècle, son génome a été entièrement séquencé et sa rapide division cellulaire facilite son étude expérimentale.

Malgré une documentation scientifique colossale, parvenir à préparer une suspension bactérienne en contrôlant la motilité bactérienne et sa reproductibilité n'est pas chose facile. Au cours de mon travail de thèse, ces deux variables ont posé de nombreuses difficultés. Pour tenter d'y remédier, nous avons été amené à essayer différentes souches d'*E. coli* (ATCC9637, ATCC11105, AB1157 et RP437), différentes méthodes de conservation des souches (AGAR solide à 4°C, congélation à -30°C et -80°C), différentes méthodes de culture en essayant plusieurs températures et vitesses d'agitation et puis différents milieu de mobilité en jouant sur sa composition (solutions tampon, NaCl, L-serine ou Glucose). C'est finalement la souche ATCC9637 qui a présenté les résultats les plus convaincants et que nous avons alors décidé de retenir.

Cette partie a pour vocation de présenter le protocole de culture mis en place afin d'obtenir une suspension de bactéries motiles ainsi que la composition du milieu de motilité retenue.

Il est important de noter que toutes ces étapes sont réalisées en conditions stériles sous flux d'air laminaire sous un poste de sécurité microbiologique (PSM) au sein du laboratoire *LIBio*.

3.1.1. La culture d'*E. coli*

La souche *E. coli* ATCC9637 a été commandée auprès de la société DSMZ GmbH et envoyée sous forme lyophilisée. Les bactéries sont réhydratées selon les instructions données par le fournisseur puis sont, dans un premier temps, cultivées en Erlenmeyer à 30 °C sous agitation orbitale (220 RPM) toute une nuit dans un milieu liquide riche : Luria-Bertani ou plus communément LB. Ce milieu possède tous les éléments chimiques nécessaires à la croissance bactérienne dans des conditions optimales sans pression de sélection. L'oxygénation continue de la suspension par agitation permet elle aussi de favoriser la multiplication cellulaire.

La seconde étape vise à aliquoter la suspension bactérienne afin d'obtenir des starters qui seront stockés à -80 °C. À cette température, la croissance bactérienne et le patrimoine génétique de la bactérie sont figés permettant une conservation dans le temps (plusieurs mois). Afin de limiter la formation de cristaux de glace susceptibles de percer les mem-

branes cellulaires et donc tuer les cellules, du glycérol est ajouté à cette première culture à hauteur de 20 % en volume.

La veille de chaque expérience, un starter est utilisé pourensemencer 30 ml de LB liquide en Erlenmeyer. Ce volume est incubé à 30 °C et 220 RPM toute une nuit (environ 15 heures); cette étape est nommée pré-culture. C'est une étape importante qui va permettre d'éliminer, lors de la culture, la phase latente de croissance bactérienne dont la durée peut être variable pour une même souche et mêmes conditions de culture. Le jour de l'expérience, 200 µl de cette pré-culture sont prélevés et injectés dans un nouveau milieu LB (dilution au 1/150) afin de relancer la croissance. Cet échantillon est placé en étuve thermostatée à 30 °C sous agitation à 220 RPM pendant 4h30 jusqu'à atteindre la fin de la phase exponentielle de croissance (Fig. 3.1). C'est à ce stade que la motilité de notre bactérie *E.coli* ATCC9637 est maximale; stade pouvant être variable selon la souche bactérienne [60].

La suspension est ensuite centrifugée à 2300 g pendant 10 minutes. Les bactéries forment alors un culot sur le fond du récipient. Cette étape de centrifugation est répétée une première fois afin de « laver » les bactéries. Pour cela, le surnageant est pipeté délicatement en prenant soin de ne pas décoller le culot. Du milieu de mobilité (que l'on appellera MM-P par la suite et dont le rôle et la composition sont donnés dans la partie suivante) y est ensuite ajouté. Le culot est resuspendu en remuant doucement le tube pour ne pas endommager les flagelles des bactéries ce qui pourrait alors affecter leur motilité. Ensuite, la suspension est laissée à incuber 1 h à 30 °C pour que les cellules puissent venir à bout de leur division cellulaire et générer une population dont la taille est uniforme : $2.02 \pm 0.33 \mu\text{m}$ contre $2.28 \pm 0.46 \mu\text{m}$ (Fig. 3.1b)). Un second lavage est effectué et, comme précédemment, le culot bactérien est suspendu en MM-P. Une fois toutes ces étapes achevées, la suspension est prête à être injectée dans la cellule d'écoulement.

3.1.2. Le milieu de mobilité

Le milieu de mobilité est le milieu dans lequel les mesures ont été menées tout au long de la thèse. Il a pour vocation de maintenir l'activité bactérienne constante au cours d'une expérience et d'inhiber la division cellulaire afin de travailler à fraction volumique constante. Ce milieu est composé d'eau bi-distillée à laquelle sont ajoutés :

- * 10 mM de K_2HPO_4 : source de potassium et de phosphore. Premier élément constituant le tampon phosphate permettant de fixer et maintenir le pH de la solution; $\text{pH}=7$ dans notre cas.
 - * 10 mM de KH_2PO_4 : second élément du tampon phosphate.
 - * 0.1 mM d'EDTA : est un agent chélatant. Il empêche aux ions métalliques de venir inhiber le fonctionnement du moteur protonique de la bactérie [61].
-

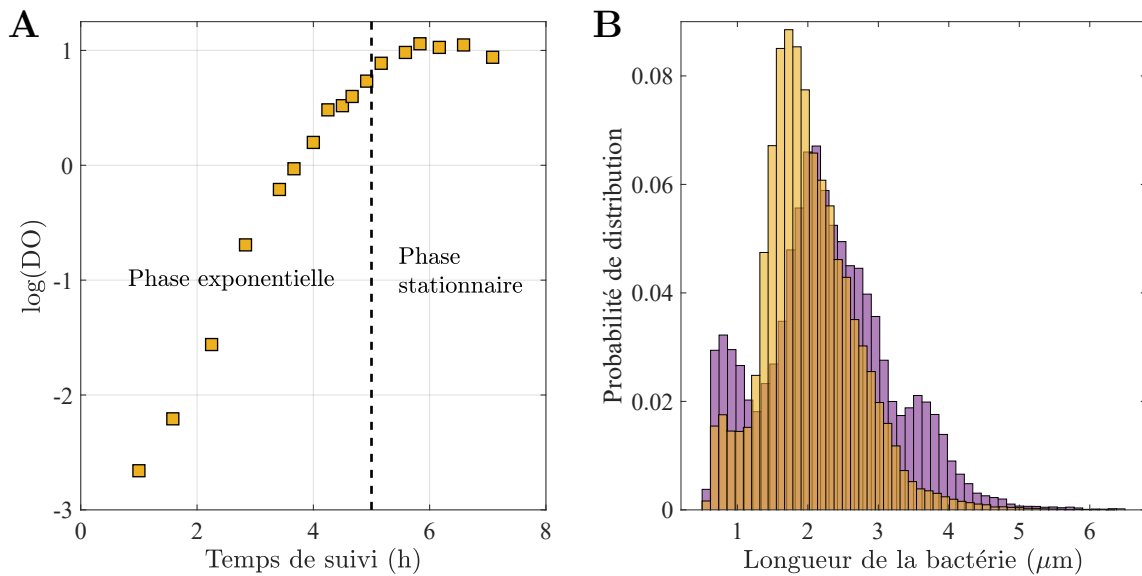


Figure 3.1: **A** Croissance de la bactérie *E. coli* ATCC9637. **B** Distribution de la taille des bactéries avant (violet) et après (jaune) une heure d'incubation.

- * 67 mM de NaCl : régule la pression osmotique.
- * 10 mM de Glucose : il est source d'énergie pour la bactérie. Il est essentiel pour maintenir l'activité bactérienne constante sur quelques heures afin de pouvoir procéder aux expériences [61].

La masse volumique des bactéries ($\sim 1010 \text{ kg/m}^3$) étant plus dense que celle du MM, elles ont tendance à sédimenter. Pour limiter cet effet, 2/3 en volume de Percoll est ajouté [34]. Ce produit est constitué de nanoparticules de silice colloïdales recouvertes par du polyvinylpyrrolidone (PvP). Il a la faculté d'être non-toxique pour les micro-organismes et est couramment utilisé pour la séparation de cellules par gradient de densité. Dans notre cas, il ajuste la densité du liquide avec celle des bactéries. On appellera ce milieu final, milieu de mobilité-Percoll (MM-P).

Avant chaque expérience, 0,005% massique de PvP-40 kDa est également ajouté afin d'empêcher l'adhésion d'*E. coli* aux parois du dispositif expérimental. Le PvP-40 kDa est préparé à l'avance et est concentré à 5% dans de l'éthanol pur et conservé au congélateur à -30°C [58].

3.1.3. Détermination de la fraction volumique bactérienne

Tout au long du travail de thèse, il nous est important de connaître et contrôler la fraction volumique bactérienne au sein de nos échantillons. Nous avons d'ores-et-déjà

défini cette fraction volumique dans l'*État de l'art* dont nous rappelons la formulation :

$$\phi = \frac{n_b \mathcal{V}_b}{\mathcal{V}_t} \quad (3.1)$$

où n_b désigne le nombre de bactéries, \mathcal{V}_b le volume du corps bactérien ($1 \mu\text{m}^3$) et \mathcal{V}_t le volume total de la suspension.

En microbiologie, une mesure courante de la fraction volumique est réalisée par spectrométrie. Elle consiste à déterminer la densité optique (DO) de la suspension que l'on souhaite mesurer par rapport à celle d'un échantillon témoin. Naturellement, plus la concentration est importante moins la lumière va diffuser au travers et donc présenter une absorbance élevée. Ce phénomène est décrit par la loi de Beer-Lambert.

La mesure par spectrophotomètre est à prendre avec précaution. En effet, la lumière diffusée dans l'échantillon va être également très dépendante de la taille et de la forme des particules. Nous avons vu précédemment que nous limitons cette dépendance morphologique grâce à un temps d'incubation dédié à la division cellulaire et tendre vers une distribution de taille uniforme (Fig. 3.1B). La forme des bactéries reste, quant à elle inchangée, une ellipsoïde.

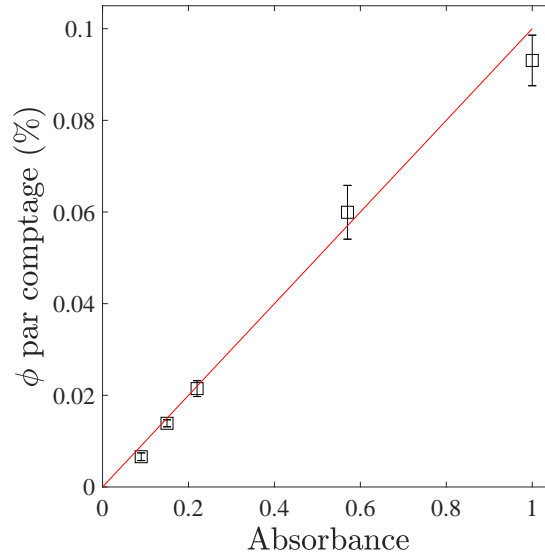


Figure 3.2: Évolution de la fraction volumique ϕ en fonction de l'absorbance obtenue par spectrométrie. La droite en rouge correspond à l'ajustement par régression linéaire de pente 0.1.

Afin de déterminer la concentration réelle liée à la densité optique indiquée par l'appareil nous avons préparé différents échantillons à différentes DO et compté visuellement le nombre de bactéries en présence. Pour effectuer cette opération, nous avons fait le choix de tuer les bactéries grâce à l'ajout de 20 mM d'azoture de sodium au milieu MM-P.

Ce produit toxique possède l'avantage de tuer la bactérie en évitant la lyse de la cellule et donc conserver ses propriétés morphologiques. Ces bactéries non-motiles sont ensuite introduites dans un capillaire et vont pour la grande majorité d'entre elles sédimenter sur la paroi inférieure. Nous scannons plan par plan sur la hauteur du capillaire pour limiter notre erreur quant au nombre de particules présentes dans le volume observé. La figure 3.2 présente la fraction volumique ϕ déterminée par comptage en fonction de la DO mesurée par l'appareil. Les barres d'erreurs représentent la dispersion des valeurs obtenues suite à la répétabilité de l'expérience. L'évolution de ϕ en fonction de la DO est linéaire de pente 0.1. À une DO= 1 correspond donc une fraction volumique de 0.1 % équivalent à concentration d'environ 10^9 bactéries.ml⁻¹.

3.2. Propriétés de nage

Dans l'*État de l'art*, nous avons mis en avant le comportement de nage, qualifié de balisto-diffusif, de la bactérie *E. coli* (voir 1.1.2.2). Nous présentons ici deux techniques optiques non-intrusives qui ont été développées et mises au point afin de caractériser la dynamique bactérienne : la Vélocimétrie par Tracking de Particules (PTV) et la Microscopie Dynamique Différentielle (DDM). Les mesures sont réalisées au sein du dispositif présenté en 2.1 dans des capillaires de $h = 50 \mu\text{m}$ suffisamment loin des parois pour être indépendant des phénomènes d'interactions avec celles-ci. Ces mesures sont effectuées dans un fluide au repos ; *i.e.* la différence de hauteur de suspension entre les deux réservoirs est équilibrée.

3.2.1. Le tracking

Tout comme le tracking de traceurs présenté en section 2.2, le principe ici est le même où l'on va capturer les trajectoires Lagrangienne de chacune des bactéries présentes dans le champ focal. Les bactéries n'étant pas fluorescentes, l'illumination laser n'est pas requise ; l'observation est réalisée en lumière blanche. Pour améliorer le contraste entre les bactéries et le milieu, nous utilisons un filtre et un objectif à contraste de phase ph2 dont la profondeur de champ est d'environ $3 \mu\text{m}$. Le reste du dispositif d'acquisition est identique à celui utilisé dans le chapitre 2. Pour affiner suffisamment les statistiques, nous enregistrons des vidéos de 40 s à une fréquence de 20 Hz.

3.2.1.1. Reconstruction de trajectoires

Les images 8-bits obtenues de 1024×1024 px (Fig. 3.3A) vont être traitées à l'aide du logiciel ImageJ afin d'en améliorer les contrastes et faciliter le tracking des microor-

ganismes. Dans un premier temps, les images sont inversées pour faire apparaître les bactéries à l'intérieur du plan focal en blanc (Fig. 3.3B); indispensable pour l'algorithme de tracking. Ensuite, une image moyenne va être reconstituée en calculant le niveau de gris moyen pour chaque pixel sur l'ensemble du champ d'observation pour être soustraite aux images initiales. Cette opération va permettre de retirer les poussières ou objets immobiles (par exemple des bactéries adsorbées à une paroi) et d'en limiter la détection de fausses particules et donc de fausses trajectoires. Finalement, l'histogramme des intensités est modifié pour que la dynamique de celui-ci atteigne une valeur maximale de 135 (Fig. 3.3C).

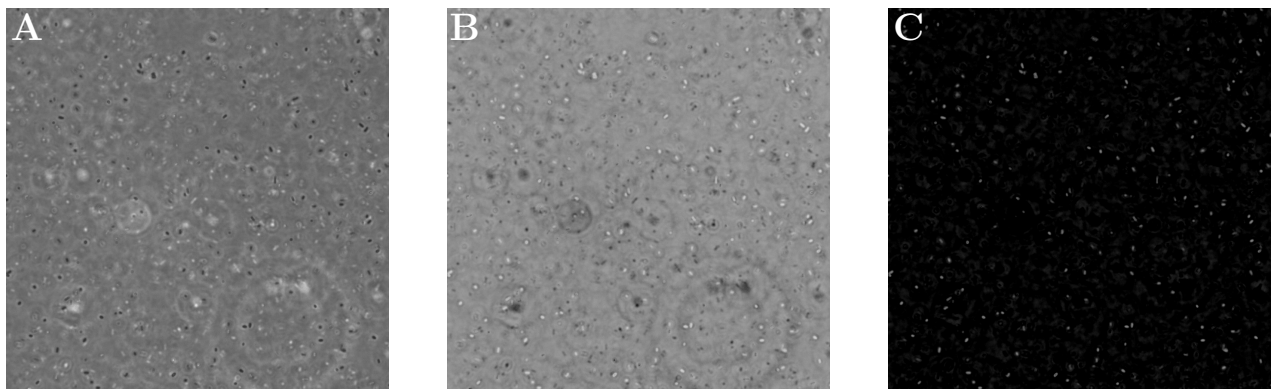


Figure 3.3: Traitement d'images réalisé sur le logiciel ImageJ. **A** Image brute d'une suspension bactérienne. **B** Image inverse. **C** Soustraction de l'image moyenne et modification de la dynamique de l'histogramme des intensités.

La détermination des positions et la reconstruction des trajectoires est réalisée grâce au logiciel *APREX Track* développé par M. Desecures et R. Baude (<https://www.aprex-solutions.com>). Une première fonction permet d'imposer un seuillage sur les intensités pour détecter les bactéries puis, une seconde, va permettre de localiser leur centre de masse et donc leur position. Finalement, les positions d'une même particule sont connectées grâce à la méthode du plus proche voisin en imposant deux paramètres. Le premier est un critère sur le rayon pour lequel une particule peut être retrouvée sur l'image suivante. Dans notre cas, il est fixé à 18 px correspondant à environ $3 \mu\text{m}$. Cela permet de fortement limiter voire éviter la confusion entre deux particules qui viendraient à se croiser et donc engendrer une trajectoire erronée. Le second critère va permettre d'appuyer le premier et met fin à une trajectoire si la bactérie n'est pas retrouvée sur l'image suivante; ce paramètre « *frame loss* » est donc fixé à 1.

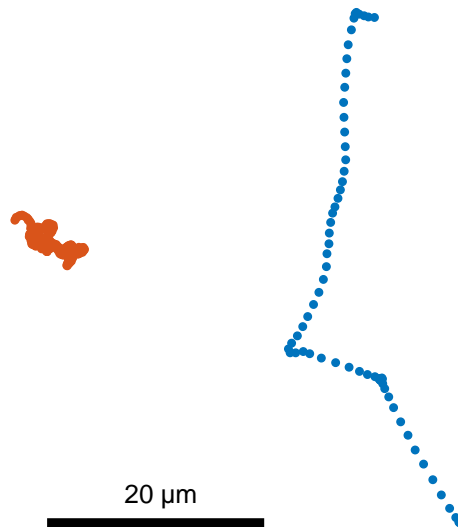


Figure 3.4: Trajectoires typiques de la bactérie *Escherichia coli* ATCC9637 motile (en bleu) et non-motile (en rouge) obtenues expérimentalement à une fréquence de 20 Hz et dont la durée est, respectivement, 4.4 et 14.1 s.

3.2.1.2. Mesures de vitesses

Du logiciel *APREX Track* nous pouvons alors extraire un fichier qui répertorie pour chaque particule détectée sa position (en X et Y en pixels) à un instant donné. Ces données brutes sont post-traitées sur le logiciel *MATLAB*. Dans la suite du manuscrit nous avons fait le choix de ne garder que les trajectoires dont la durée minimale est de 0.2 s (de l'ordre du temps d'un tumble). La taille d'un pixel est connue grâce à l'utilisation d'une mire. Connaissant cette conversion, nous pouvons alors déterminer les positions en μm , la distance (vectorielle) \mathbf{r} séparant deux positions entre deux images successives séparées par un pas de temps $\Delta t = 1/f$ et finalement la vitesse instantanée $\mathbf{v}^i = \mathbf{r}/\Delta t$. Ces positions nous permettent alors de reconstruire la projection en 2D d'une trajectoire initialement 3D lors de l'acquisition d'images. Sur la figure 3.4 sont représentées deux trajectoires typiques que l'on obtient par cette méthode ; une trajectoire d'une *E. coli* motile en bleu et non-motile en rouge. En observant cette première trajectoire, la dynamique de run & tumble est facilement reconnaissable : des courses rectilignes suivis par des réorientations. En revanche, pour la seconde trajectoire, sa position au cours du temps fluctue autour de sa position initiale résultat du mouvement Brownien.

Afin de pouvoir quantifier les grandeurs de la suspension active en évitant un biais provenant de ces bactéries inactives, nous avons ajouté au programme de post-traitement une condition pour retirer au mieux ces trajectoires. En effet, ces particules diffusantes ont pour conséquence d'engendrer un pic de distribution conséquent pour les faibles valeurs

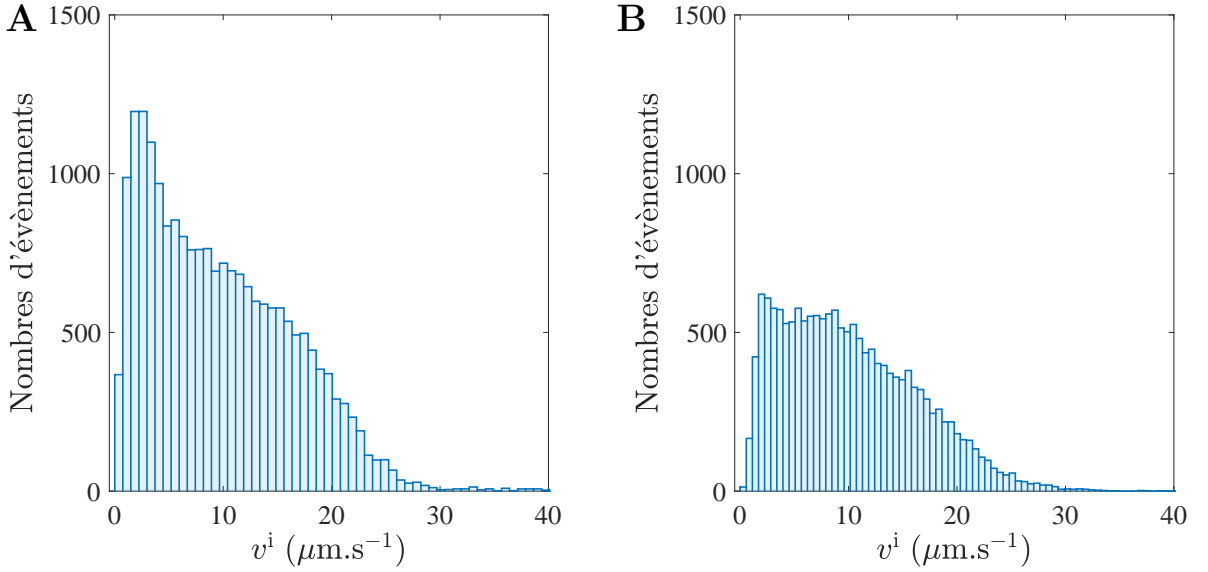


Figure 3.5: Histogrammes des vitesses instantanées. **A** Données brutes sans condition. **B** Avec condition pour retirer les bactéries non-motiles.

de la vitesse $v^i < 4 \mu\text{m.s}^{-1}$ (Fig. 3.5A). Leur poids statistique est important car elles ont tendance à séjourner dans le plan focal sur l'ensemble du temps de l'acquisition d'images. La condition stipule alors que, si la durée de la trajectoire est supérieure à 1.5 s et si $|(\sum^{traj} \Delta X)| - |(\sum^{traj} \Delta Y)| \leq 5 \mu\text{m}$ alors la trajectoire est rejetée. Plus vulgairement, cette condition traduit le caractère aléatoire du processus Brownien dont la somme des déplacements dans l'espace tend à être nulle. Sur la figure 3.5B est présenté l'histogramme des vitesses instantanées pour cette même population mais avec cette dernière condition. Le pic autour des faibles vitesses a été éliminé et la condition a permis de rejeter 145 trajectoires sur un total de 1375 pour cet échantillon.

En effectuant une moyenne temporelle des vitesses instantanées obtenues pour une trajectoire donc une bactérie, nous pouvons en déterminer sa vitesse moyenne $v = \langle v^i \rangle_t$ où $\langle \cdot \rangle_t$ dénote la moyenne temporelle. Connaissant la vitesse de nage moyenne d'une bactérie, nous pouvons réitérer l'opération sur l'ensemble de la population et calculer la vitesse de nage moyenne des bactéries d'une suspension : $v_0 = \langle v \rangle_N$ où N est le nombre total de trajectoires.

Une question légitime vient à se poser quant au pas de temps utilisé pour effectuer cette moyenne sur v . En effet, cette vitesse diffère selon l'échelle de temps considérée sur la trajectoire d'autant plus que la bactérie a une dynamique bien particulière. Pour les limites basses, nous nous étions imposés un critère pour lequel une particule doit se déplacer d'environ $1 \mu\text{m}$ pour éviter de capturer le bruit de mesure. En revanche, rien ne nous assure que les vitesses v que nous mesurons est représentative de la vitesse

« réelle » du nageur. La figure 3.6 présente l'évolution de v_0 en fonction du temps de moyennage. Cette vitesse est relativement constante $v_0 = 10.95 \pm 6.33 \mu\text{m.s}^{-1}$ sur une gamme allant de $1/f$ à $5/f$ et présente une variation de vitesse inférieure à $1 \mu\text{m.s}^{-1}$ entre $1/f$ et $20/f$. Ceci nous conforte sur le choix de l'emploi de la fréquence initialement proposée à 20 Hz ; choisir un pas de temps plus grand, *i.e.* une fréquence plus faible, pour le calcul de nos vitesses pourrait entraîner des pertes d'informations quant à la dynamique de nage.

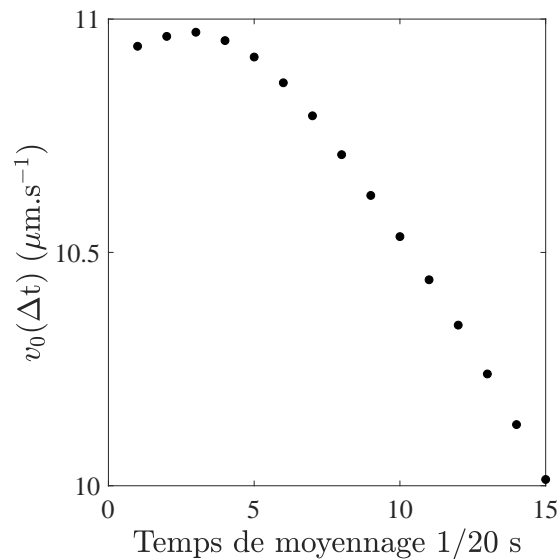


Figure 3.6: Impact du choix du pas de temps sur le calcul des vitesses moyennes. v_0 est constante sur la gamme de pas de temps allant de $1/20$ à $5/20$ s.

3.2.1.3. Dynamique bactérienne

Nous avons vu dans le chapitre *État de l'art* que les trajectoires d'*E.coli* étaient alternées de run et de tumble que l'on qualifie couramment de marche aléatoire avec persistance (discuté en partie 1.1.2.2 de l'*État de l'art*). Des positions et des mesures de vitesses effectuées précédemment nous allons tenter au moyen d'outils statistiques de quantifier les grandeurs et propriétés propres de notre suspension active.

Une nage aléatoire avec persistance

En l'absence de tactisme, la marche aléatoire est un processus stochastique où chaque décision directionnelle prise par une bactérie ne dépend que du présent et n'est en aucun cas régie par ses actions antérieures. Chacune des orientations du microorganisme va alors être décorrélée de la précédente. Ce phénomène peut être décrit physiquement par la fonction d'autocorrélation des orientations donnée par l'équation (3.2). À $\Delta t = 0$ s,

$C(\Delta t) = 1$ car deux mêmes orientations sont parfaitement corrélées soit que $\theta(\Delta t) = 0$. Lorsque $\Delta t \rightarrow \infty$, le processus de réorientation entraîne la perte de mémoire de l'orientation initiale de la trajectoire; $C(\Delta t) \rightarrow 0$ et $\theta(\Delta t) = \pm \pi/2$.

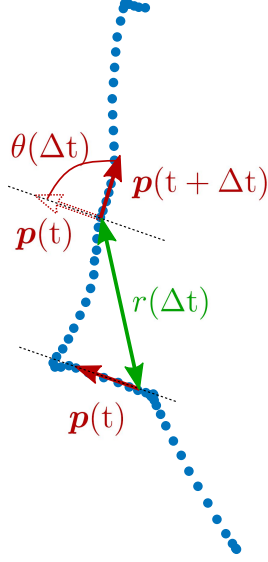


Figure 3.7: Schéma illustrant la décorrélation de l'orientation. Trajectoire d'une bactérie motile reprise de la figure 3.4.

$$C(\Delta t) = \langle \cos(\theta(\Delta t)) \rangle_t = \langle \mathbf{p}(t) \cdot \mathbf{p}(t + \Delta t) \rangle_t \quad (3.2)$$

Cette autocorrélation $C(\Delta t)$ est calculée sur un vecteur unitaire d'orientation $\mathbf{p}(t)$ qui, dans notre cas, est choisi comme l'orientation du vecteur vitesse à l'instant t . Dans cette équation, $\theta(\Delta t)$ représente l'angle entre deux vecteurs unitaires d'orientation $\mathbf{p}(t)$ et $\mathbf{p}(t + \Delta t)$ séparés par un pas de temps Δt et $\langle \cdot \rangle_t$ à la moyenne sur le temps de la trajectoire (voir Fig. 3.7). La figure 3.8A présente la fonction d'autocorrélation des orientations où une moyenne sur la population, en plus de la moyenne temporelle, a été effectuée : $C(\Delta t) = \langle C(\Delta t) \rangle_N$. Les données décroissent exponentiellement jusqu'à atteindre une valeur nulle pour $\Delta t \approx 3.5$ s. De cette fonction d'autocorrélation, nous pouvons extraire par l'ajustement proposé via l'équation (3.2) un temps caractéristique t_c [13]. Cet ajustement est réalisé pour un Δt maximal de 1.5 s (pointillés rouges Fig. 3.8A). Au-delà de cette valeur, les données sont trop bruitées en raison du manque de statistiques sur les temps longs (peu de bactéries sont suivies plus de quelques secondes car elles sortent du plan focal de l'objectif ou bien du champ d'observation). De l'ajustement nous sortons une valeur de $t_c = 1.21$ s. De plus, le coefficient de diffusion rotationnel est directement lié à ce temps caractéristique (voir paragraphe 1.1.2.2) par $D_r = 1/(2t_c) = 0.41 \text{ rad}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ en

accord avec les données expérimentales de la littérature [34, 35].

$$C(\Delta t) = \exp(-\Delta t/t_c) \quad (3.3)$$

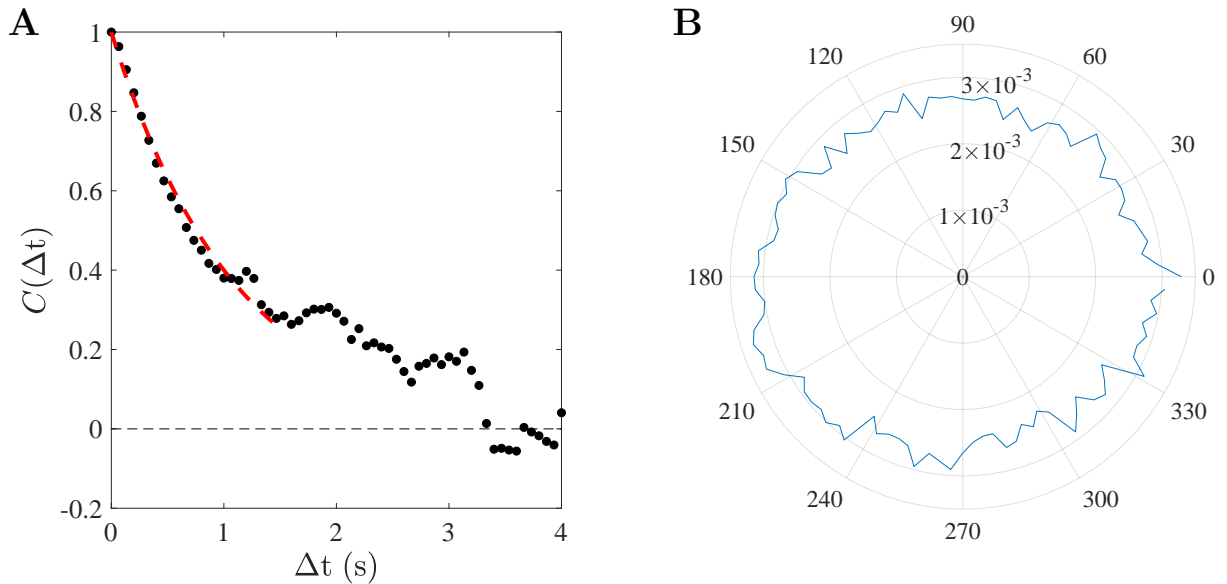


Figure 3.8: Une marche aléatoire avec persistance. **A** Fonction d'autocorrélation des orientations pour une suspension d'*E. coli*. En pointillés rouges correspond l'ajustement par l'équation (3.3) faisant ressortir le temps caractéristique $t_c = 1.21$ s. **B** Densité de probabilité des orientations d'une population de bactéries *E. coli* dans le plan focal.

La figure 3.8**B** présente la densité de probabilité des orientations dans le plan par rapport à un vecteur unitaire quelconque. Cette distribution d'angles est équiprobable, les bactéries n'ont aucune préférence orientationnelle dans ces conditions; condition expérimentale que l'on cherchait à obtenir par l'utilisation du MM-P.

Ces deux derniers graphes permettent bien de qualifier la nage bactérienne de marche aléatoire avec persistance. De cette distribution des orientations nous pouvons souligner le caractère aléatoire du choix de l'orientation de la bactérie dans le plan focal et de la fonction d'autocorrélation des orientations est mis en exergue la qualité persistante de cette nage dont le temps caractéristique a été estimé à ≈ 1.2 s.

Un processus diffusif

Nous pouvons quantifier la dynamique de nage grâce au déplacement quadratique moyen (MSD) : $\langle r^2 \rangle_t$ (Fig. 3.9**A**). Il traduit vulgairement la surface qu'explore le microorganisme au cours du temps. En moyennant ces données individuelles pour chaque pas de temps, nous obtenons un déplacement quadratique moyen représentatif du comportement des bactéries à l'échelle de la suspension $r^2 = \langle \langle r^2 \rangle_t \rangle_N$ (3.4**B**). Nous retrouvons

les deux régimes propres à la nage d'*E.coli* mentionnés dans l'*État de l'art*. Aux temps courts le comportement est purement balistique avec $r^2 = v_0^2 \Delta t^2$ correspondant à une pente 2 puis tend à devenir diffusif aux temps longs $r^2 = 4D_t \Delta t$ avec une pente 1 où v_0 et D_t représentent, respectivement, la vitesse de nage et le coefficient de diffusion translationnel des bactéries.

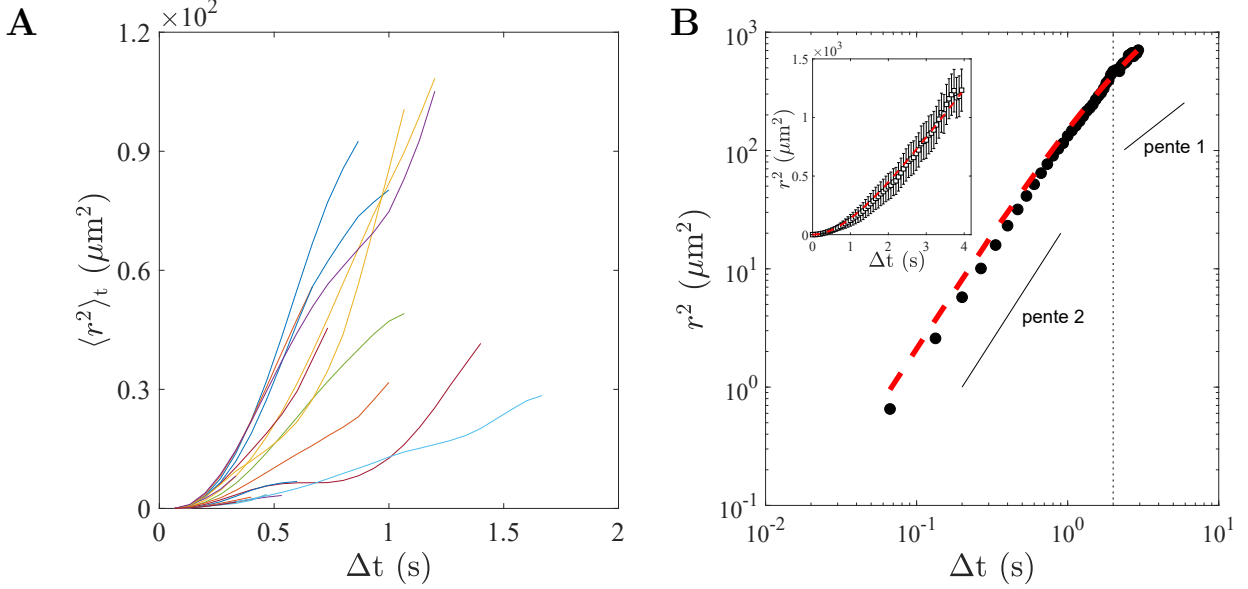


Figure 3.9: **A** Déplacement quadratique moyen $\langle r^2 \rangle_t$ de quelques trajectoires individuelles. **B** Déplacement quadratique moyen r^2 . En pointillés rouges est tracé l’ajustement par l’équation 3.4 en prenant $t_c = 1.21$ s. Inset : r^2 en échelle normale.

Ces deux régimes sont mis en valeur dans l’équation du MSD (3.4) que nous allons utiliser pour ajuster nos données expérimentales. Le temps caractéristique t_c extrait de l’ajustement de la fonction d’autocorrélation marque la transition d’un comportement balistique à un comportement diffusif. Il est implémenté dans (3.4) pour ne laisser plus qu’un seul paramètre libre : le coefficient de diffusion translationnel D_t . L’ajustement réalisé sur 3 s, en pointillés rouges (Fig. 3.9B), donne alors une valeur $D_t = 66.4 \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ en accord avec les données bibliographiques.

$$r^2(\Delta t) = 4D_t \Delta t (1 - \exp(-\Delta t/t_c)) \quad (3.4)$$

Connaissant t_c et D_t nous déduisons $v_0 = \sqrt{3D_t/t_c} = 12.7 \pm 7.12 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$; valeur très proche de celle obtenue par la mesure des vitesses instantanées du paragraphe 3.2.1.2 qui était de $10.95 \pm 6.33 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$.

Grandeurs microscopiques

Nous avons suivi, en section 3.2.1.2, une bactérie par description Lagrangienne et nous en avons extrait ses vitesses instantanées v^i sur l'ensemble de sa trajectoire et sa vitesse moyenne v . Nous allons ici nous intéresser plus particulièrement aux temps et longueurs de chaque run ayant lieu entre deux tumbles. Dans un premier temps, l'objectif est d'être capable de détecter les positions de la trajectoire pour lesquels la bactérie effectue un tumble. En règle générale, ce processus s'effectue en deux temps. La bactérie décélère puis change son orientation de nage ; propriétés que nous allons utiliser pour définir les critères de la détection du tumble [62] :

Critère sur la vitesse : Si la variation de vitesse relative entre un minimum local et les deux maximums locaux (sur la vitesse) l'entourant est supérieure à un critère fixé à 0.7 dans notre cas, alors nous considérons que la bactérie effectue alors un tumble.

Critère sur l'angle : Si le changement total de l'angle absolu dans un intervalle compris entre deux minimums locaux (sur l'angle) est suffisamment important devant le changement d'angle dû à la diffusion rotationnelle Brownienne survenant sur un même intervalle de temps ($\neq D_r$ mesuré précédemment), alors la bactérie est en état de tumble.

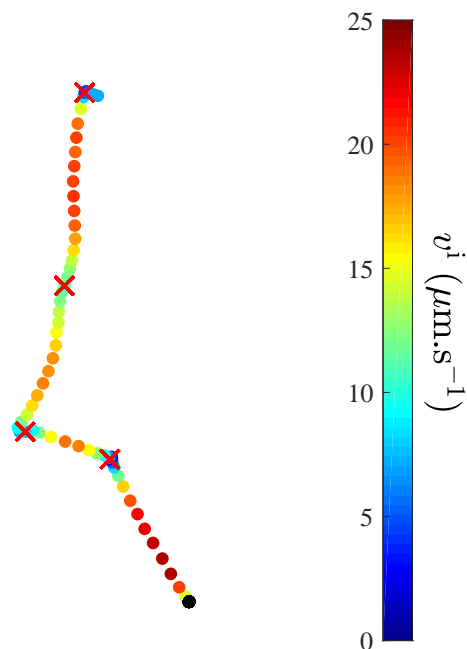


Figure 3.10: Trajectoire active dont les vitesses instantanées sont indiquées par la barre de couleur et les tumbles marqués par des croix rouges. En noir est indiqué le point de départ de la trajectoire.

La pertinence de ces critères a été vérifiée « visuellement » en marquant pour une cen-

taine de trajectoires les points auxquels survient un tumble. Afin d'illustrer ces propos, nous avons repris la trajectoire introduite plus haut sur laquelle nous avons marqué les points pour lesquels l'algorithme détecte un tumble par une croix rouge (Fig. 3.10). Les couleurs sur la trajectoire représentent sa vitesse instantanée dont la valeur est indiquée par la barre de couleur et en noir est indiqué le point de départ de la trajectoire. Sur la figure 3.11 sont tracés l'évolution de la vitesse instantanée (**A**) de cette trajectoire ainsi que l'évolution de l'angle $|\theta|$ (**B**) sur le temps de la trajectoire. Sur ce graphe, les tumbles sont marqués par les marches de couleur bordeaux. Nous remarquons qu'à chaque changement de vitesse majeur (numéros 1,2 et 4) s'accompagne une importante augmentation de l'angle $|\theta|$. En revanche, le changement d'angle est moins prononcé pour le troisième tumble mais la décélération est suffisante pour considérer cet évènement comme un tumble.

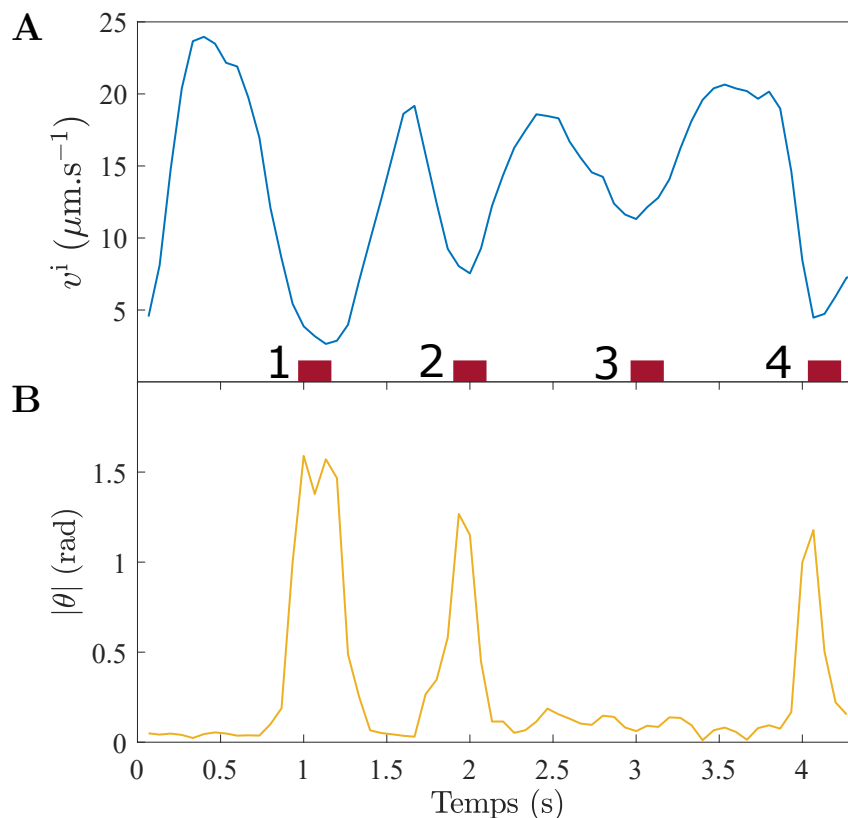


Figure 3.11: **A** Évolution de la vitesse instantanée au long de la trajectoire de la figure 3.10. **B** Idem sur l'angle $|\theta|$. Entre ces deux graphes sont marqués, par des marches bordeaux, les positions où la bactérie se réoriente.

De ces données nous pouvons alors déterminer le temps moyen d'une course rectiligne t_r , *i.e.* entre deux réorientations. Pour cette trajectoire, nous pouvons déterminer trois t_r (entre les points 1 et 2, 2 et 3 puis 3 et 4) dont la valeur moyenne est de 1.02 s. De

la même manière que pour les vitesses, nous pouvons finalement en déduire un temps de réorientation moyen pour l'ensemble de la population présente dans l'échantillon : $t_r = 0.48 \pm 0.26$ s. Cette valeur est du même ordre de grandeurs que les résultats de Berg [14] sur les souches *E. coli* AW405 ($t_r^{AW405} = 0.86 \pm 1.18$ s) et Unc602 ($t_r^{Unc602} = 0.42 \pm 0.27$ s). Cette valeur peut toutefois être légèrement biaisée en raison du manque de statistiques. Puisque les bactéries se déplacent dans un volume en 3D, la probabilité qu'elles se réorientent hors du plan focal (quasi 2D) est grand devant la probabilité de réorientation à l'intérieur de celui-ci ; le nombre trajectoires comportant deux tumbles est alors très faible devant le nombre total de trajectoires.

3.2.2. La Microscopie Dynamique Différentielle

Le suivi de bactéries permet d'obtenir des informations statistiques sur les trajectoires mais nécessite de travailler avec des concentrations en bactéries faibles. Nous présentons ici une méthode nommée Microscopie Dynamique Différentielle (DDM) qui permet d'extraire des grandeurs moyennes caractéristiques de la suspension en s'affranchissant de ce suivi de bactéries.

3.2.2.1. Principe

La Microscopie Dynamique Différentielle est une méthode analogue à la diffusion de la lumière (DLS : *Dynamic Light Scattering*) qui repose sur l'étude des fluctuations temporelles de densité locale de particules. La lumière incidente sur un échantillon va être transmise et diffusée par le système, que les particules en suspension soient mouvantes ou non. Si une particule demeure statique, l'intensité lumineuse diffusée par la particule et détectée par la caméra restera constante sur le temps. En revanche, si la particule est animée de mouvements (agitation Brownienne, particule active, etc) le signal résultant perçu par le capteur va fluctuer au cours du temps. Contrairement à la DLS où un balayage angulaire est nécessaire, l'intérêt de cette technique est qu'elle capture l'ensemble des angles de diffraction de la lumière sur une seule image. De plus, elle ne requiert pas nécessairement une source laser cohérente. C'est également une méthode de caractérisation rapide qui ne demande aucun traitement d'images en amont de l'algorithme.

La DDM se base sur les fluctuations d'intensité entre deux images séparées par un pas de temps Δt . Cette intensité à un instant t est notée $I(\mathbf{p}, t)$ où \mathbf{p} est la position du pixel sur l'image. Lorsqu'une particule se meut, la valeur de $I(\mathbf{p}, t)$ fluctue avec le temps ; la variation d'intensité entre deux images est alors donnée par $D(\mathbf{p}, \Delta t) = I(\mathbf{p}, t + \Delta t) - I(\mathbf{p}, t)$ (Fig. 3.12 A, B et C). On peut ainsi calculer $|\mathcal{F}_D(\mathbf{q}, \Delta t)|^2$ qui est le module quadratique

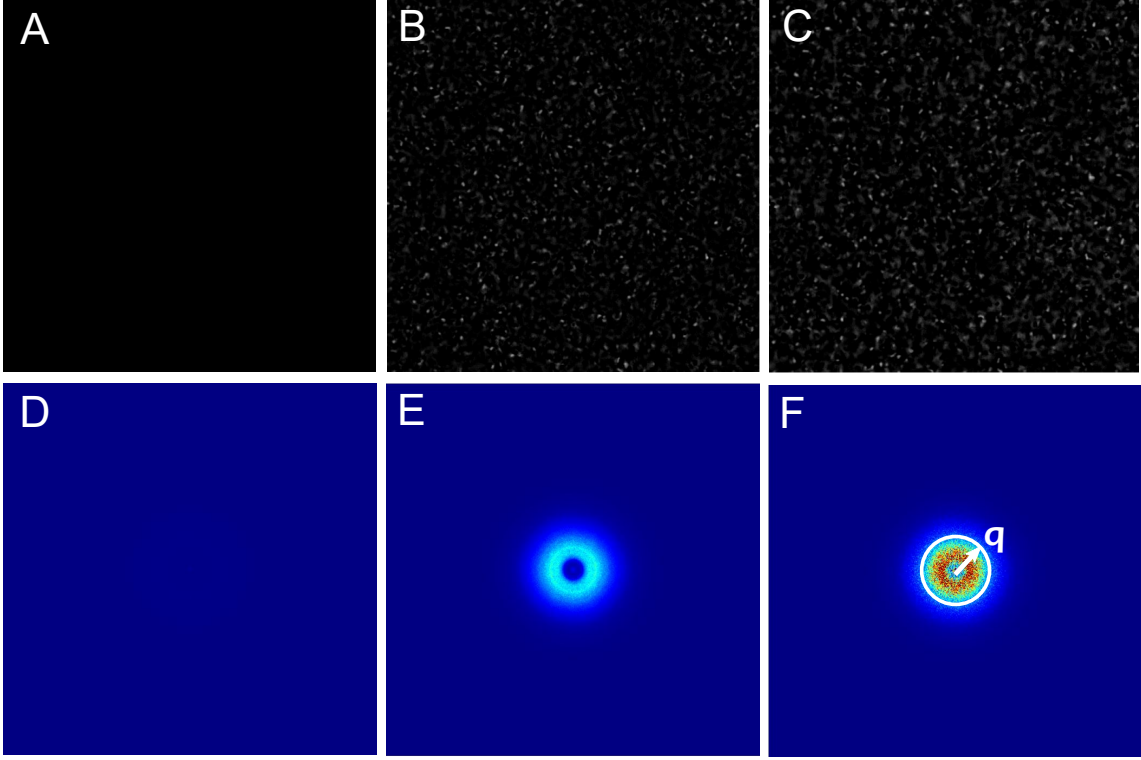


Figure 3.12: Fluctuations d'intensités $D(\mathbf{p}, \Delta t)$. **A** à $\Delta t = 0$ s. **B** $\Delta t = 0.12$ s. **C** $\Delta t = 38.31$ s. **D**, **E**, **F** : module quadratique de la transformée de Fourier quadratique $|\mathcal{F}_D(\mathbf{q}, \Delta t)|^2$ correspondante.

de la transformée de Fourier de $D(\mathbf{p}, \Delta t)$ (Fig. 3.12 **D**, **E** et **F**) et \mathbf{q} est le vecteur d'onde. Dans l'hypothèse d'un milieu homogène et isotrope (hypothèse appuyée par la tache parfaitement symétrique de la transformée de Fourier) et dans le but d'améliorer le signal obtenu, nous pouvons effectuer une moyenne temporelle sur t et azimutale sur \mathbf{q} (voir Fig. 3.12**F**) afin d'obtenir la fonction d'autocorrélation différentielle des images (DICF pour *Differential Image Correlation Function*) :

$$g(q, \Delta t) = \langle \langle |\mathcal{F}_D(\mathbf{q}, \Delta t)|^2 \rangle_t \rangle_{\mathbf{q}} \quad (3.5)$$

où $q = |\mathbf{q}|$ est l'amplitude du vecteur d'onde. Il est alors possible de démontrer que $g(q, \Delta t)$ est directement liée à la fonction d'autocorrélation des intensités $f(q, \Delta t)$ (ISF pour *Intermediate Scattering Function*) [63, 64]. C'est cette fonction qui contient les informations sur la dynamique du système étudié. La relation entre la DICF et l'ISF est donnée par :

$$g(q, \Delta t) = A(q)[1 - f(q, \Delta t)] + B(q) \quad (3.6)$$

où $A(q)$ est un paramètre dépendant du système étudié (taille et forme des particules) et $B(q)$ est le bruit dont le biais est dû au dispositif expérimental et sont tous les deux constants sur le temps. C'est la fonction $f(q, \Delta t)$ qu'il est alors intéressant d'extraire des données expérimentales $g(q, \Delta t)$. Pour cela, il faut tout d'abord être capable de déterminer $A(q)$ et $B(q)$. Deux méthodes sont alors possible : (i) la première est une méthode directe qui vise à les déterminer « manuellement ». En effet, aux temps courts $f = 1$ (les images sont fortement corrélées entre elles) et donc $g(q, \Delta t \rightarrow 0) = B(q)$; et aux temps longs on a $f = 0$ donc $g(q, \Delta t \rightarrow \infty) = A(q) + B(q)$. Cette méthode requiert d'accéder à des temps suffisamment courts, respectivement longs, pour extraire $B(q)$ et $A(q)$ sans quoi il est possible de fausser l'estimation sur ces coefficients. (ii) la seconde méthode consiste à ajuster les données expérimentales de $g(q, \Delta t)$ et de laisser $A(q)$ et $B(q)$ en paramètres libres. Cette méthode ne demande pas de balayer une gamme de temps aussi importante que la première mais nécessite un modèle pour $f(q, \Delta t)$ et donc de connaître, a priori, la dynamique du système étudié.

La gamme de vecteurs d'onde q sur laquelle il nous est possible de travailler est bornée de part les caractéristiques techniques du dispositif expérimental à savoir un champ d'acquisition $L^2 = 512 \times 512 \text{ px}^2$ et la taille d'un pixel. La valeur minimale q^{min} est définie, par respect du critère de Shanon, par $q^{min} = 2\pi k/L = 0.11 \text{ }\mu\text{m}^{-1}$ et $q^{max} = 2\pi k = 18.47 \text{ }\mu\text{m}^{-1}$ avec $k = 2.94 \text{ }\mu\text{m}^{-1}$ l'inverse de la taille d'un pixel.

3.2.2.2. Cas de colloïdes et validation de la méthode

La suspension de colloïdes de $1 \text{ }\mu\text{m}$ de diamètre est injectée au sein d'un capillaire $h = 50 \text{ }\mu\text{m}$. Des vidéos de 40 s sont acquises à mi-hauteur du canal à une fréquence de 100 Hz à l'aide d'un objectif $\times 20$ à contraste de phase ph2.

Nous utilisons l'algorithme discuté ci-dessus pour en extraire la DICF des données brutes expérimentales. Les valeurs expérimentales de $g(q, \Delta t)$ ainsi obtenues sont tracées en fonction du pas de temps à un q donné (indiqué par des points sur la figure 3.13A). Il apparaît clairement que l'échantillonnage fréquentiel n'est pas suffisamment important pour capturer la dynamique de décorrélation aux temps courts, $g(q, \Delta t \rightarrow 0)$ ne tend pas vers une valeur constante. De ce fait, nous avons eu recours à la méthode de l'ajustement pour déterminer $A(q)$ et $B(q)$.

Le modèle de $f(q, \Delta t)$ est connu pour un système de sphères diffusantes : $f(q, \Delta t) = \exp(-D_B q^2 \Delta t)$ où D_B correspond au coefficient de diffusion Brownien des particules. En injectant alors ce modèle dans l'équation 3.6, nous ajustons les données de $g(q, \Delta t)$ en trait continu (Fig. 3.13A).

L'ajustement nous donne alors les valeurs de $A(q)$ et $B(q)$ (Fig. 3.14). Nous extrayons également le coefficient de diffusion expérimental de $D_B = 0.45 \text{ }\mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$; ce résultat

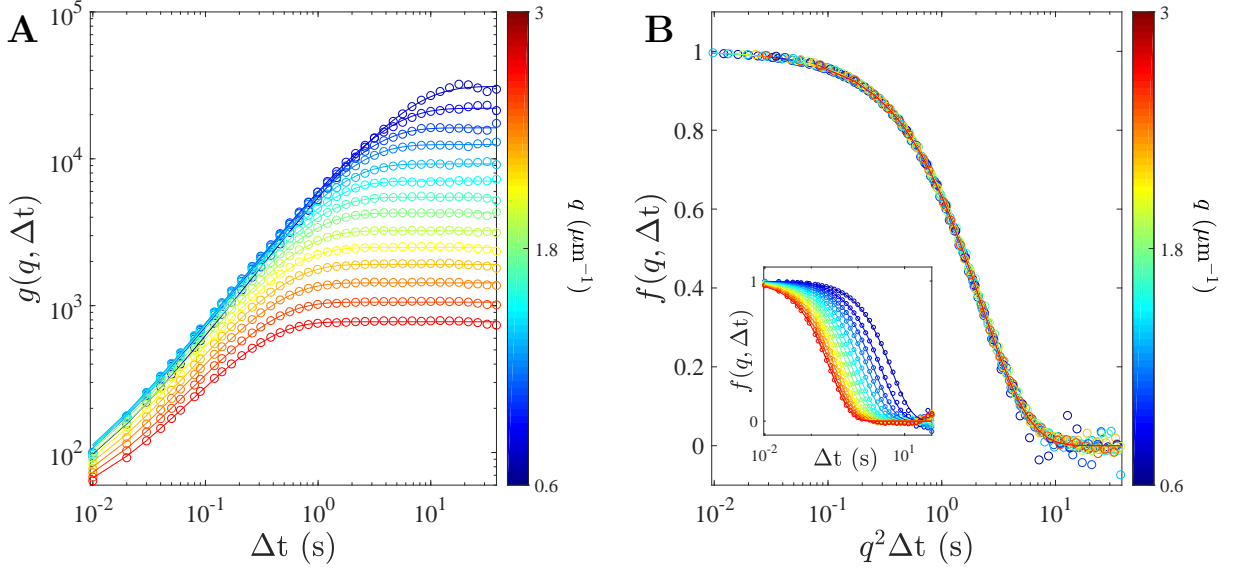


Figure 3.13: **A** Fonction d'autocorrélation différentielle des images $g(q, \Delta t)$ pour une suspension de colloïdes de $1 \mu\text{m}$ de diamètre. **B** Fonction d'autocorrélation des intensités $f(q, \Delta t)$ en fonction de $q^2 \Delta t$. Inset : $f(q, \Delta t)$.

est en accord avec la théorie de la diffusion d'une sphère équivalente dans de l'eau à température ambiante $D_B^{\text{th}} = 0.42 \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ et valide la méthode. Il faut également noter que pour s'assurer la convergence de la méthode de minimisation et d'avoir un bon rapport signal/bruit $A(q)/B(q)$ (voir Fig. 3.14), nous choisissons de travailler uniquement sur une gamme de vecteurs d'ondes $0.6 < q < 3 \mu\text{m}^{-1}$.

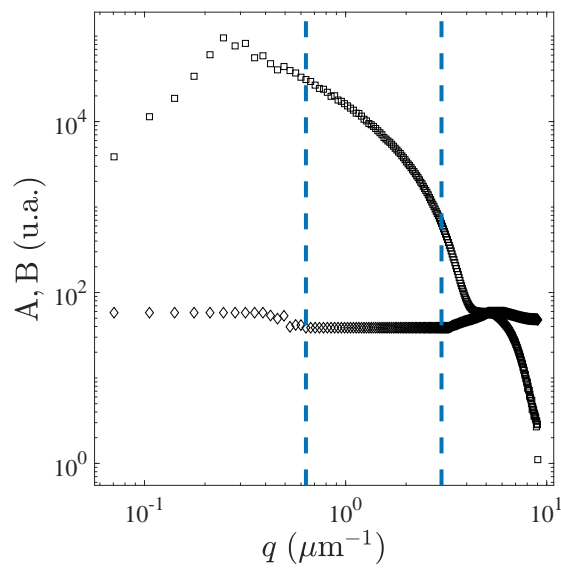


Figure 3.14: Bruit $B(q)$ (carrés) et paramètre de forme $A(q)$ (losanges). Les barres verticales en bleu indiquent la gamme de q sur laquelle il a été choisi de travailler.

Connaissant $A(q)$ et $B(q)$ nous pouvons alors tracer $f(q, \Delta t)$ en fonction du pas de temps et pour différentes valeurs de q (Inset Fig. 3.13B). À $\Delta t = 0$, $f = 1$ puis décroît exponentiellement jusqu'à atteindre une valeur nulle pour les temps longs. Le comportement diffusif peut être mis en exergue par une mise à l'échelle de l'axe des abscisses. En effet, en traçant $f(q, \Delta t)$ en fonction de $q^2 \Delta t$ les courbes vont se regrouper en une courbe maîtresse synonyme du processus diffusif (Fig. 3.13B).

3.2.2.3. Dynamique bactérienne

La méthode validée, nous allons maintenant réitérer l'expérience sur une suspension d'*E. coli*. Les conditions expérimentales sont identiques à celles imposées pour les colloïdes.

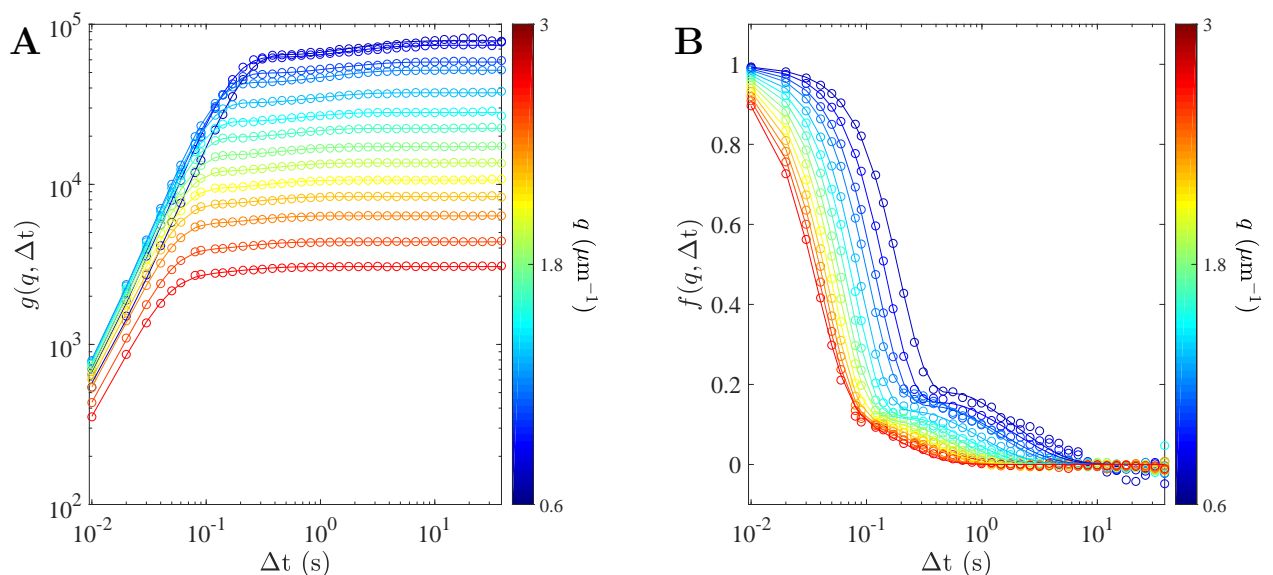


Figure 3.15: **A** Fonction d'autocorrélation des intensités $g(q, \Delta t)$ et **B** la fonction intermédiaire de diffusion $f(q, \Delta t)$ en fonction du pas de temps Δt et pour différents vecteurs d'onde q . Les courbes représentées par des symboles correspondent aux résultats expérimentaux et en traits pleins l'ajustement par les équations (3.6) et (3.7).

Tout comme pour les colloïdes, des images nous extrayons la DICF (Fig. 3.15A). À nouveau, nous devons déterminer $A(q)$ et $B(q)$ pour parvenir à l'ISF. La forme analytique de l'ISF est connue dans de nombreux cas, nous avons mentionné celle du cas de particules sphériques passives mais est aussi connue dans le cas de bactéries motiles [65-67] :

$$f(q, \Delta t) = (1 - \alpha) \exp(-D^* q^2 \Delta t) + \alpha \exp(-D^* q^2 \Delta t) \int_0^\infty P(v_0) \frac{\sin(qv_0 \Delta t)}{qv_0 \Delta t} dv \quad (3.7)$$

avec α la fraction de bactéries motiles et D^* le coefficient de diffusion de bactéries non-motiles. Cette ISF ne prend pas en compte la dynamique de run & tumble de la bactérie et est initialement plutôt destinée à des bactéries dont la nage est dite « smooth », *i.e.* une nage beaucoup plus rectiligne ne présentant pas ou très peu de réorientations au long de la trajectoire. On peut alors se demander si cette définition de l'ISF est pertinente. En reconstruisant des images 2D issues d'une simulation d'une dynamique de run & tumble 3D (les contrastes selon la dimension perpendiculaire au plan, selon z , sont donc pris en compte sur la projection 2D), Wilson *et. al* montrent que les effets de la décorrélation d'intensité dans cette direction z sont négligeables car faibles devant ceux de la nage et de la diffusion dans le plan seulement. Cette hypothèse est valable si les profondeurs de champs sont suffisamment grandes $\sim 10 \mu\text{m}$ [64]. Dans notre cas, un léger biais sur l'estimation de paramètres est alors possible à $q \lesssim 1 \mu\text{m}^{-1}$. En effet, d'après les grandeurs obtenues précédemment ($t_r \approx 0.5 \text{ s}$ et $v_0 \approx 12 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) la distance d'une course rectiligne est estimée à $\approx 6 \mu\text{m}$ correspondant alors à la profondeur de champs de notre objectif $\sim 6 - 7 \mu\text{m}$.

En considérant $P(v_0)$ la probabilité de distribution des vitesses comme une distribution de Schulz [64], le second membre de l'équation 3.7 devient alors :

$$\int_0^{\infty} P(v_0) \frac{\sin(qv_0\Delta t)}{qv_0\Delta t} dv_0 = \left(\frac{Z+1}{Zqv_0\Delta t} \right) \frac{\sin(Z \tan^{-1} \zeta)}{(1+\zeta^2)^{Z/2}} \quad (3.8)$$

où $\zeta = qv_0\Delta t/(Z+1)$ et Z est lié à la variance σ^2 de $P(v)$ par $\sigma = v_0(Z+1)^{-1/2}$. Le modèle est incorporé à l'équation 3.6 avec comme paramètres libres : v_0 , σ , D^* , α , A et B . Ici, la décroissance de l'ISF (Fig. 3.15B) est bien différente de ce que l'on observe pour le cas des colloïdes ; elle présente ici une double relaxation. Le processus de décroissance rapide, aux temps courts, provient de la nage de la bactérie et correspond au terme de droite de l'équation 3.7 où l'intégrale fait intervenir la distribution des vitesses. La seconde décroissance, plus lente et aux temps longs, est due à la diffusion D^* des bactéries non-motiles (terme de gauche équation (3.7)). En effet, le taux de bactéries actives n'atteint jamais 100% en conditions expérimentales. Grâce à l'ajustement de $g(q, \Delta t)$ par l'ISF, nous pouvons déterminer ce taux de bactéries motiles via $\alpha = 0.80 \pm 0.02 \%$. Les graphes A et B de la figure 3.16 appuient la présence de ces deux processus de relaxation de l'ISF par la mise à l'échelle des abscisses : en traçant $f(q, \Delta t)$ en fonction de $q\Delta t$ les courbes vont se regrouper en une courbe maîtresse synonyme du processus balistique aux temps courts dont l'unité est l'inverse de la vitesse : $\text{s}\cdot\mu\text{m}^{-1}$ (Fig. 3.16A) ; et en fonction de $q^2\Delta t$ pour le comportement diffusif aux temps longs (Fig. 3.16B) d'unité inverse au coefficient de diffusion $\text{s}\cdot\mu\text{m}^{-2}$.

La figure 3.17 présente les 4 autres paramètres extraits de l'ajustement que sont

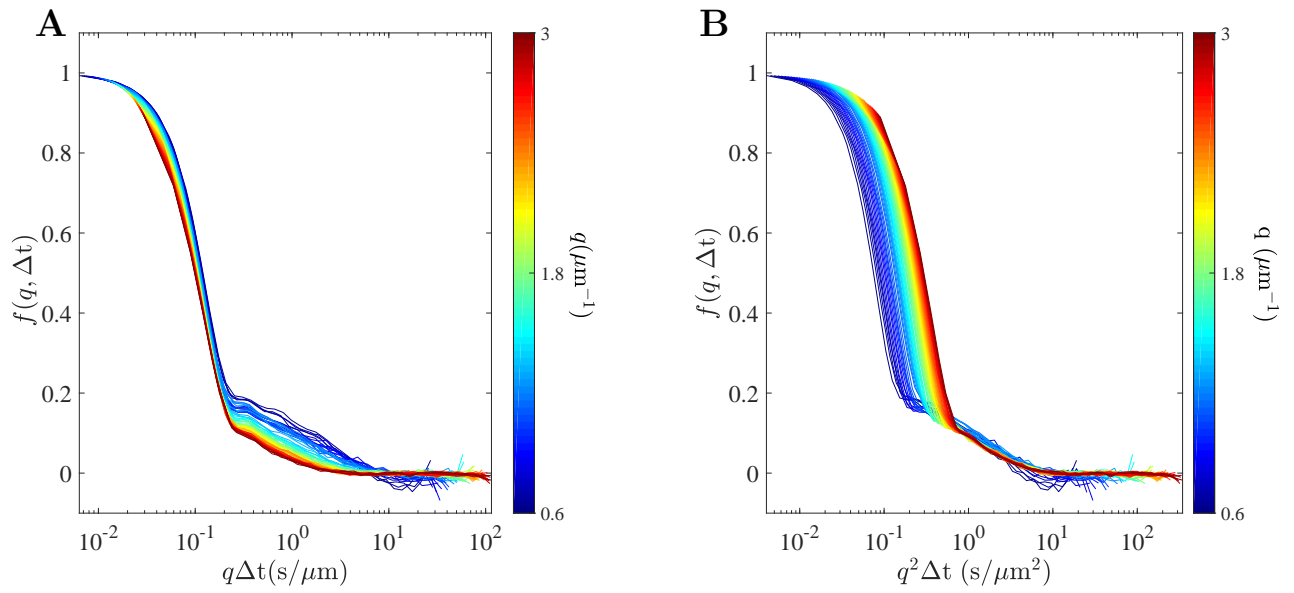


Figure 3.16: Représentation des résultats expérimentaux de l'ISF avec mise à l'échelle des axes : **A** en fonction de $q\Delta t$ et **B** en fonction de $q^2\Delta t$.

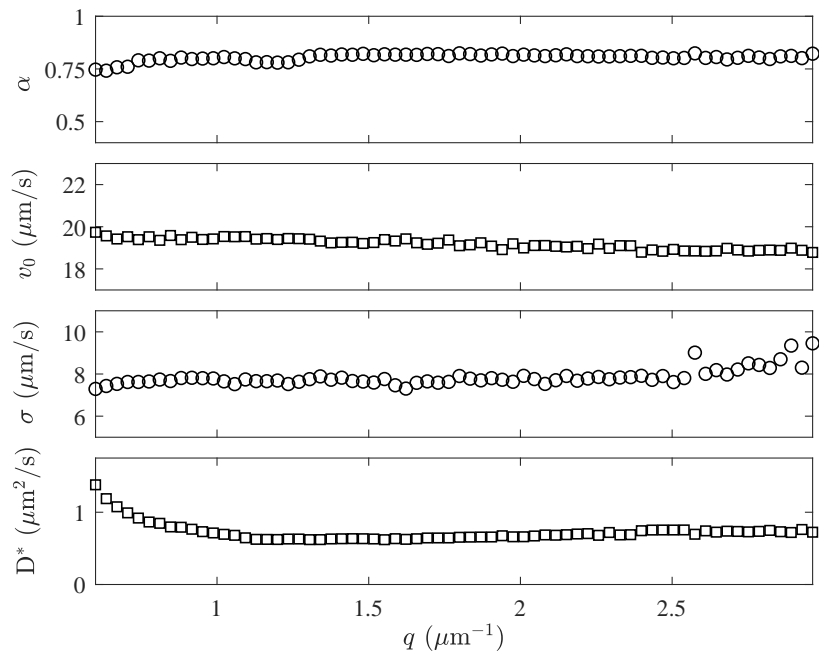


Figure 3.17: Du haut vers le bas : fraction de bactéries motiles α , vitesse moyenne v_0 , variance σ et coefficient de diffusion de bactéries non-motiles D^* en fonction de q .

la fraction de bactéries motiles α , la vitesse moyenne v_0 , la variance de la vitesse σ et le coefficient de diffusion de bactéries non-motiles D^* . À $q < 0.5 \mu\text{m}^{-1}$, du bruit est plus ou moins présent pour ces paramètres car le terme diffusif de $f(q, \Delta t)$ n'a pas atteint des valeurs nulles dans la fenêtre de temps explorée pour ces valeurs de q et rend plus difficile

l'ajustement de ce terme. En revanche, dans une fenêtre $0.6 < q < 3 \mu\text{m}^{-1}$, α , v_0 , σ et D^* ne sont pas dépendants de q et sont constants sur cette gamme. On détermine alors : $\alpha = 0.80 \pm 0.02 \%$; $v_0 = 18.74 \pm 0.13 \mu\text{m.s}^{-1}$; $\sigma = 7.84 \pm 0.4 \mu\text{m.s}^{-1}$ et $D^* = 0.69 \pm 0.11 \mu\text{m}^2.\text{s}^{-1}$. Le coefficient D^* représente le coefficient de diffusion de bactéries non-motiles dans une suspension de bactéries motiles. Celui-ci est plus important que le coefficient de diffusion Brownien d'une particule passive équivalente. Cet effet est causé par les perturbations des micro-nageurs environnants (chocs, champ hydrodynamique à longue distance). Les valeurs de D^* augmentent linéairement avec la concentration en bactéries [38, 64] et notre valeur $D^* = 0.69 \mu\text{m}^2.\text{s}^{-1}$ est en accord avec la littérature.

3.2.3. Tracking et/ou DDM ? : Discussions

Nous avons présenté deux techniques optiques de mesure non-intrusives permettant de quantifier l'activité de notre suspension bactérienne : le Tracking et la Microscopie Dynamique Différentielle.

La première, le tracking, consiste à reconstruire les projections 2D de trajectoires 3D de bactéries présentes dans le plan focal. De cette méthode de suivi Lagrangien, nous pouvons extraire des grandeurs individuelles et instantanées de la dynamique d'*E. coli* (composantes de la vitesse, angles, temps de run, \dots). En effectuant des moyennes sur la population, nous obtenons des données moyennes pouvant alors caractériser la dynamique à l'échelle de la suspension (vitesses de nage moyenne des bactéries en suspension, déplacement quadratique moyen, fonction d'autocorrélation). En revanche, cette méthode ne donne accès qu'à des informations en 2D d'une nage en 3D. Nous perdons alors l'information dans la direction orthogonale au plan focal. Cela ne sera pas notre cas par la suite, mais il est à noter que cette méthode est limitée lorsque la concentration en bactéries devient trop importante $\phi \sim 0.4 - 0.5 \%$; les temps de calcul des algorithmes de reconstruction de trajectoires et les erreurs sur la détection augmentent considérablement.

La seconde méthode présentée, la DDM, ne rencontre pas ce problème en concentration où il suffit d'adapter (et de connaître) la fonction d'autocorrélation des intensités $f(q, \Delta t)$ en fonction du système étudié. L'ISF présentée en section 3.2.2.3 est valable tant que les interactions entre micro-nageurs sont absentes ($\phi < 1 \%$). De part le principe de la DDM, qui consiste à intégrer l'intensité lumineuse sur un volume et d'en étudier les fluctuations dans le temps, nous en extrayons alors uniquement des valeurs moyennes mais en 3D de la dynamique de la suspension.

Ces deux méthodes sont complémentaires et apportent des données quantitatives sur la dynamique bactérienne. Une seule grandeur est commune à ces méthodes, c'est la vitesse moyenne de nage v_0 . Pour rappel, via le tracking nous obtenons $v_0 \approx 12.7 \pm 7.12 \mu\text{m.s}^{-1}$ et via la DDM $v_0 \approx 18 \mu\text{m.s}^{-1}$. La différence entre ces valeurs n'est pas aberrante et sont

toutes deux du même ordre de grandeurs. Dans la suite des travaux de thèse, la DDM viendra toujours appuyer les données de tracking afin de quantifier l'activité bactérienne dans un fluide à l'équilibre. Ces mesures seront menées avant et après chaque expérience afin de s'assurer que les caractéristiques de nage sont conservées sur le temps de la manipulation. Finalement, c'est la méthode de tracking qui sera employée pour étudier la dynamique bactérienne en écoulement, la DDM n'étant pas adaptée à l'écoulement d'une suspension.

En résumé

La première partie de ce chapitre énonce le protocole de culture mis en place afin de permettre la motilité d'*Escherichia coli*. La composition du milieu de mobilité MM-P, dont le comportement rhéologique a été discuté lors du chapitre précédent, est ici listée. Ce milieu répond aux besoins des bactéries en leur apportant les ressources chimiques nécessaires pour conserver leur motilité lors des expériences en cellule microfluidique.

La dynamique de la suspension bactérienne, à l'équilibre, est ensuite caractérisée. Pour cela, nous avons eu recours à deux techniques optiques de mesures non-intrusives : le suivi Lagrangien de particules (tracking) et la Microscopie Dynamique Différentielle (DDM). Nous avons discuté des avantages et inconvénients de ces méthodes et elles apportent des informations qui leur sont complémentaires. Le tableau suivant dresse l'ensemble des grandeurs moyennes extraites à l'aide de ces deux méthodes :

Symbole	Désignation	Valeur
v_0	Vitesse de nage moyenne	$12 - 18 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$
D_t	Diffusion translationnelle	$65 \mu\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$
t_c	Temps caractéristique	1.2 s
D_r	Diffusion rotationnelle	$0.41 \text{rad}^2\cdot\text{s}^{-1}$
t_r	Temps moyen d'un run	0.5 s
α	Taux de bactéries motiles	80 %
D^*	Diffusion de bactéries NM au sein d'une suspension active	$0.69 \mu\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$

4

DYNAMIQUE BACTÉRIENNE SOUS CISAILLEMENT

Sommaire

4.1	Introduction	72
4.2	Une zoologie de trajectoires	75
4.2.1	Traitements de données et analyse de trajectoires	75
4.2.2	Classification des trajectoires	75
4.2.2.1	À la paroi	76
4.2.2.2	Loin des parois	79
4.3	Transport bactérien	82
4.3.1	Dans la direction orthogonale à l'écoulement	83
4.3.2	Dans la direction longitudinale à l'écoulement	88
4.4	Distribution bactérienne	92
4.4.1	À l'équilibre	93
4.4.2	En écoulement	97

4.1. Introduction

Nous avons présenté au cours du chapitre précédent deux méthodes nous permettant de caractériser en détail la dynamique ainsi que les propriétés de nage d'*E. coli* au sein d'un fluide à l'équilibre. L'objectif de ce chapitre est de caractériser cette dynamique bactérienne mais sous écoulement. Certains travaux expérimentaux, numérique ou théorique font déjà état de certains phénomènes connus, principalement en proche paroi, que nous retrouverons également au travers de notre étude et dont nous parlerons au cours de ce chapitre. Ces données sont beaucoup moins fournies sur cette dynamique en volume où les données sont principalement numériques. De plus, les données de la littérature sont relativement dispersées car elles abordent différentes gammes de paramètres : différentes souches de bactéries, différentes gammes de cisaillement, différents confinements ou bien géométries. Le travail suivant a pour but de recouper ces différents paramètres et tenter de dresser un portrait du comportement bactérien en écoulement le plus complet possible.

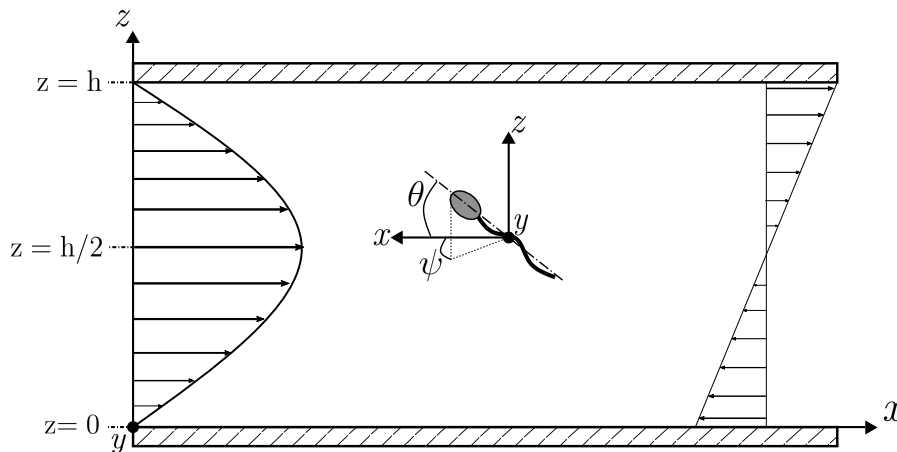


Figure 4.1: Schéma d'*E. coli* sous un écoulement de Poiseuille. Ce schéma permet de récapituler les notations que nous utiliserons au cours de ce chapitre.

Les suspensions d'*E. coli* sont préparées suivant le protocole présenté auparavant à une fraction volumique $\phi \approx 0.1 \%$ pour négliger toute interaction entre nageurs. Nous balayons la cellule microfluidique suivant l'axe z ; nous capturons alors la projection 2D de la nage bactérienne sur le plan xy à l'origine en 3D (Fig. 4.1). L'acquisition d'image est effectuée en lumière blanche grâce à un objectif 40x à contraste de phase. Des vidéos d'une durée de 20 à 40 s sont enregistrées pour chacun des plans à une fréquence d'acquisition variable, dépendante de la vitesse de l'écoulement, pour respecter le critère sur le déplacement entre deux images de l'ordre de la taille de la bactérie.

Afin d'étudier le rôle de l'écoulement et du confinement sur les propriétés et la dynamique de nage de la bactérie, nous serons amenés à varier le ΔP aux bornes de la cellule

ainsi que la hauteur h du capillaire. Ces deux paramètres seront par la suite traduits au travers de deux nombres adimensionnés qui sont le Péclet hydrodynamique Pe_f et le Péclet de confinement Pe_s qui peuvent être perçus comme, respectivement, une mesure de l'intensité de l'écoulement et du confinement :

$$Pe_s = \frac{v_0}{D_r h} \quad ; \quad Pe_f = \frac{\dot{\gamma}_w}{D_r} \quad (4.1)$$

où D_r est le coefficient de diffusion rotationnel (inversement proportionnel au temps caractéristique t_c), v_0 la vitesse moyenne de nage de la population bactérienne¹ et $\dot{\gamma}_w$ le taux de cisaillement pariétal correspondant au gradient de vitesse maximal de l'écoulement.

Le Pe_s est le rapport entre le temps caractéristique pour lequel un nageur perd la mémoire de son orientation initiale D_r^{-1} et le temps requis h/v_0 pour traverser le capillaire sur sa hauteur. Le Péclet d'écoulement Pe_f souligne la compétition entre ce même temps D_r^{-1} et le temps nécessaire à l'alignement du microorganisme par l'écoulement $\dot{\gamma}_w^{-1}$.

Dans la littérature, et notamment du côté des expérimentateurs, les résultats sont souvent présentés en fonction d'un gradient de vitesse typique du système définissant l'intensité de l'écoulement. En général, ce taux de cisaillement est choisi comme étant le taux de cisaillement maximal donc celui à la paroi ($\dot{\gamma}_w$). Dans ce chapitre, nous avons fait le choix de les présenter en fonction du Pe_f . Cela ne change en rien l'analyse, nous pourrions toujours comparer nos résultats avec les résultats expérimentaux ayant fait l'objet de publications ; seul un facteur D_r constant permet de passer d'une notation à l'autre ($D_r = 0.41 \text{ rad}^2 \cdot \text{s}^{-1}$).

Outre cette information globale qu'est le Pe_f , nous pouvons avoir accès au taux de cisaillement locaux de l'écoulement que nous noterons $\dot{\gamma}$. Ce cisaillement local est déterminé par dérivation, à une position donnée, du profil théorique de Poiseuille dont nous avons déterminé la viscosité au *Chapitre 2* : $\eta = 1.22 \pm 0.14 \text{ mPa}\cdot\text{s}$. En utilisant la viscosité du fluide suspendant pour déterminer $\dot{\gamma}$, nous faisons alors l'hypothèse que le comportement rhéologique de la suspension n'est pas altérée par la présence des particules actives. Cette hypothèse est notamment permise de part notre choix de travailler avec une fraction volumique bactérienne suffisamment faible pour éviter toute modification du comportement rhéologique [51-53].

La figure 4.2, présente des *time lapses* de notre bactérie *E. coli* en écoulement reconstitués grâce à une cinquantaine d'images. Pour faciliter la visualisation, nous ne montrons qu'une partie du champ d'observation total. Ils donnent un premier aperçu, qualitatif, du comportement bactérien pour deux valeurs de Péclets hydrodynamique ($Pe_f = 0.6$ et 8) et de Péclets de confinement ($Pe_s = 1.6$ pour des capillaires dont $h = 30 \text{ }\mu\text{m}$ et 0.47

1. Dans ce chapitre, nous avons choisi d'utiliser la vitesse v_0 obtenue par DDM comme référence et pour définir le Pe_s .

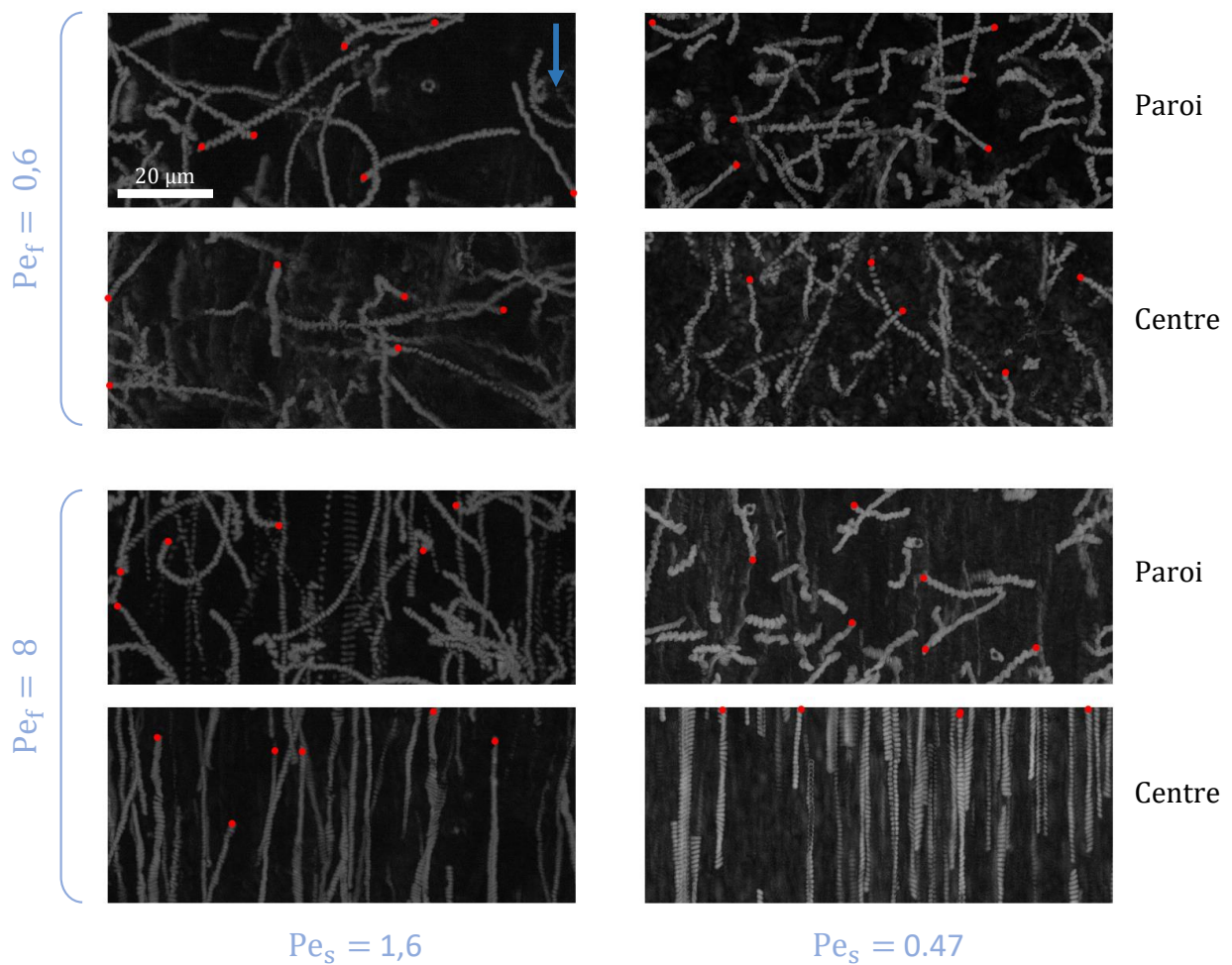


Figure 4.2: Time-lapse de trajectoires bactériennes en paroi et dans le volume pour différentes valeurs de Pe_s et de Pe_f . La flèche bleue indique la direction de l'écoulement. Les points rouges représentent le point de départ de la trajectoire.

pour $h = 100 \mu\text{m}$). Pour chacune de ces valeurs de Péclet, des mesures sont réalisées en proche paroi $z = 0$ et au centre du canal $z = h/2$. Le sens de l'écoulement est indiqué par la flèche bleue et nous avons marqué par un cercle rouge le point de départ de certaines trajectoires.

À $Pe_f = 0.6$, les comportements bactériens ne semblent pas être affectés par l'intensité de l'écoulement, ils paraissent identiques en paroi ou loin de celle-ci. Cette remarque est la même pour les deux valeurs de Pe_s . À $Pe_f = 8$, les trajectoires décrites aux deux positions de l'écoulement sont complètement différentes, avec des trajectoires rectilignes dans la direction de l'écoulement au centre (à l'opposé du $Pe_f = 0.6$) et plus circulaires en parois où elles donnent l'impression de n'être que légèrement affectées par les forts gradients de vitesse à cet endroit.

De ces observations, nous avons choisi de diviser ce chapitre en trois parties. Dans une première partie, nous montrerons la grande variabilité de trajectoires que l'on peut

rencontrer sous différents Pe_f . Nous verrons que l'interaction entre le nageur et la paroi ainsi que les forces externes de l'écoulement impactent fortement sur la morphologie de la trajectoire. Au centre du canal, ce sont plutôt les vitesses locales de l'écoulement qui vont dessiner ces trajectoires. La partie suivante sera consacrée à l'étude quantitative des composantes longitudinale et orthogonale de la vitesse bactérienne par rapport à l'axe de l'écoulement. Finalement, la dernière partie présentera la distribution des bactéries dans la cellule microfluidique. Nous étudierons alors l'influence du confinement sur les profils de concentration pour la suspension à l'équilibre puis sous écoulement.

4.2. Une zoologie de trajectoires

4.2.1. Traitements de données et analyse de trajectoires

De manière identique au *Chapitre 3*, les trajectoires sont reconstruites grâce au logiciel *APREX Track* puis les données sont traitées et analysées sous *MATLAB*. Lors de ce traitement de données nous avons implémentée deux conditions. Une première sur un temps de suivi minimum (durée minimale de 0.2 s) que nous conserverons au long de ce chapitre. La seconde condition était construite sur hypothèse que les déplacements dans le plan d'observation d'une bactérie inactive tend vers une valeur nulle (résultat du mouvement Brownien, *cf.* p.52). Cette condition n'aura que très peu d'impact sous écoulement car une bactérie inactive sera inévitablement advectée par celui-ci. Les résultats présentés par la suite incluront donc de légers biais en raison de ces bactéries non-motiles.

4.2.2. Classification des trajectoires

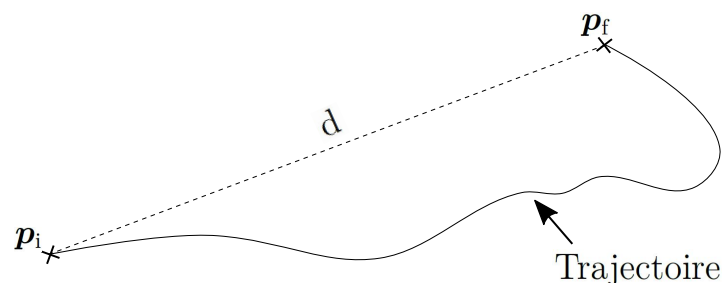


Figure 4.3: Schéma d'une trajectoire bactérienne.

Les time-lapses présentés plus haut font état d'une importante diversité de trajectoires. Afin de distinguer les différents types de trajectoires rencontrés, nous avons choisi de les

différencier arbitrairement suivant un critère reposant sur la "complexité" Π de celles-ci :

$$\Pi = \frac{\|\mathbf{p}_i \mathbf{p}_f\|}{\int_{\mathbf{p}_i}^{\mathbf{p}_f} ds} \quad (4.2)$$

où $d = \|\mathbf{p}_i \mathbf{p}_f\|$ est la distance entre la position initiale \vec{p}_i de la particule et sa position finale \vec{p}_f et $\int_{\mathbf{p}_i}^{\mathbf{p}_f} ds$ est l'intégrale curviligne entre ces deux positions (voir Fig. 4.3). La complexité Π est une grandeur globale nous permettant de différencier d'un point de vue morphologique les trajectoires. Elle permet de mettre en évidence trois catégories de trajectoires :

Catégorie 1 : Les bactéries décrivent des trajectoires circulaires ; $0 \leq \Pi \leq 0.33$.

Catégorie 2 : Une mixité entre trajectoires circulaires et rectilignes se dessine. La dynamique de Run & Tumble domine ; $0.33 < \Pi \leq 0.66$.

Catégorie 3 : Les trajectoires sont rectilignes ; $0.66 < \Pi \leq 1$.

4.2.2.1. À la paroi

Pour chacun des Pécelets d'écoulement étudiés, nous pouvons alors recenser le taux de bactéries en paroi dont la dynamique répond à l'une de ces catégories et ce pour différentes valeurs de confinement Pe_s (Fig. 4.4). Pour cela, nous avons choisi de se baser uniquement sur les trajectoires dont le temps de suivi est supérieur à une seconde. Chaque catégorie est symbolisée par une couleur et chaque Pe_s par un marqueur.

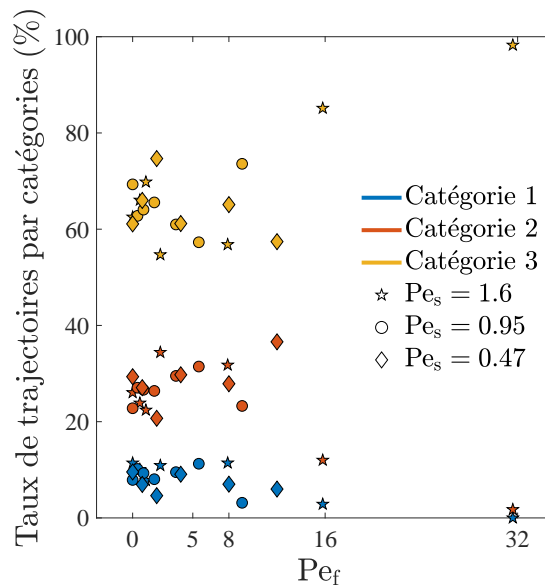


Figure 4.4: Évolution du taux de trajectoires par catégories en fonction du Pe_f en proche paroi pour différents Pe_s . Chaque couleur correspond à une catégorie et chaque symbole à une valeur de confinement.

Nous observons d'emblée que trois lots se distinguent, chacun correspondant à une catégorie. Le taux de la catégorie **1** se situe autour de $7.84 \pm 3.16 \%$, $25.53 \pm 7.72 \%$ pour la catégorie **2** et $66.61 \pm 10.31 \%$ pour la catégorie **3** et ces taux sont constants jusqu'à des valeurs de $Pe_f \simeq 10$. Au-delà de cette valeur de Pe_f , les taux des catégories **1** et **2** chutent jusqu'à atteindre une valeur quasi-nulle à $Pe_f = 32$ et sont balancées par le taux de trajectoires purement rectilignes de la catégorie **3**. Sans pour autant rentrer dans les détails nous pouvons émettre une première suggestion : la dynamique bactérienne à la paroi semble être dépendante du Péclét de l'écoulement et donc de ses taux de cisaillement $\dot{\gamma}_w$. D'autre part, il se peut que le nombre de trajectoires de la catégorie **1** soit un peu surévalué. En effet, nous capturons également des trajectoires de bactéries qui peuvent être plus loin de la paroi que d'autres en raison de la profondeur de champ ($\sim 3 \mu\text{m}$) et ces bactéries ne sont pas affectées par la paroi de la même façon que celles qui y sont très proches.

Afin d'aborder plus quantitativement cette variabilité de trajectoires en proche paroi, nous avons reporté sur la figure 4.5 quelques trajectoires issues de chaque catégorie à une valeur de confinement $Pe_s = 1.6$ et pour plusieurs Pe_f . L'appartenance aux différentes catégories est notée entre parenthèses par **C1**, **C2** et **C3**. La palette de couleur indique la vitesse instantanée de la bactérie v normalisée par la vitesse moyenne de la population $v_0 = 18 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$. Il est important de noter que chaque trajectoire est unique et ne peut être le reflet exact de l'ensemble de trajectoires issu d'une population bactérienne dont les propriétés de nage varient d'un individu à l'autre.

En l'absence d'écoulement, *E. coli* a tendance à décrire des trajectoires circulaires de sens horaire en raison du couple émergeant de son interaction avec la paroi [68, 69] (*cf. État de l'art p.20*). En imposant de très faibles écoulements, $Pe_f = 0.5$ et 1 (Fig. 4.5), nous retrouvons également ce type de trajectoires circulaires typiques de celles que l'on retrouve dans un fluide à l'équilibre (**C1**, trajectoires B et E). Comme il l'a été montré sur la figure 4.4, les trajectoires de cette catégorie ne sont pas majoritaires. Ce sont les trajectoires run & tumble (**C2**, trajectoires C, F) et purement rectilignes (**C3**, trajectoires A, D, G, H) qui présentent les populations les plus importantes. À ce stade, les forces hydrodynamiques de l'écoulement ne semblent pas impacter la nage.

En augmentant l'intensité de l'écoulement ($Pe_f = 2$ et $Pe_f = 8$), nous observons toujours des trajectoires à l'apparence circulaire mais qui se trouvent être plus étirées. Elles décrivent parfois des boucles en présentant une dérive dans la direction du vecteur vorticité (trajectoires I, J, L, O, Q), *i.e.* sur la droite sur la paroi sur laquelle sont tirées les trajectoires de la figure 4.5. D'autres trajectoires, plus singulières, sont également retrouvées et classées dans les catégories **2** et **3** (trajectoires K, M, N, P, R). L'écoulement de cisaillement modifie ici le comportement de nage d'*E. coli* à la paroi. L'effet de rhéotaxie de surface est notable à ces Pe_f . Nous ne percevons en revanche pas de modifications de

la vitesse de nage.

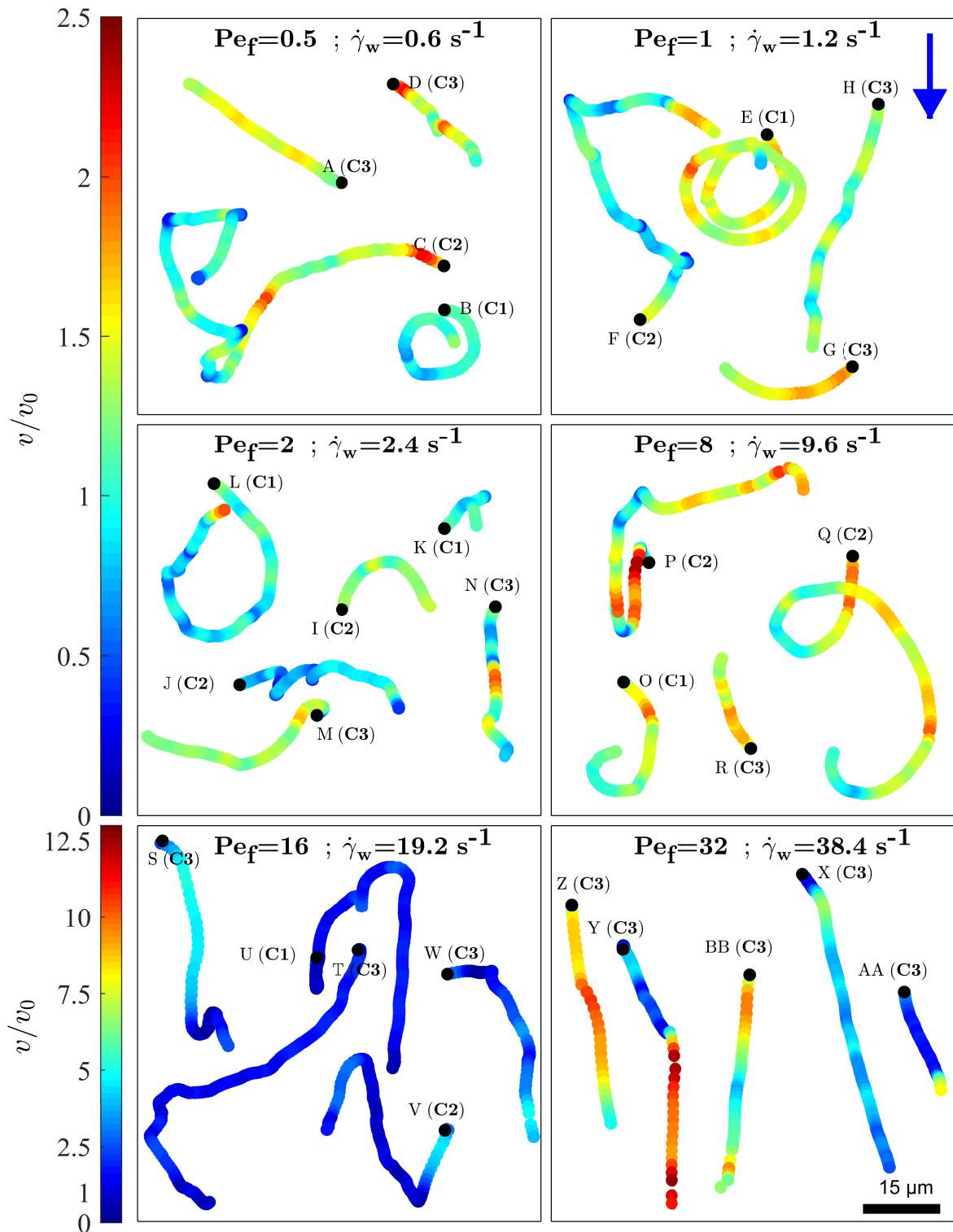


Figure 4.5: Tracé de trajectoires à la paroi pour différents Pe_f à $Pe_s = 1.6$. La catégorie de chaque trajectoire est marquée entre parenthèses (C1, C2 et C3). En couleur est représenté la vitesse instantanée de la bactérie normalisée par la vitesse moyenne de nage de la population. En noir est marqué le point de départ de la trajectoire. La flèche bleue dans le coin supérieur droit indique la direction de l'écoulement.

À $Pe_f = 16$, nous arrivons à ce « régime de transition » présenté en figure 4.4 pour lequel le taux de la catégorie **1** et ceux de la catégorie **2** et **3** divergent. À cette intensité, *E. coli* ressent un différentiel de vitesses entre la portion de son corps côté surface et celle côté écoulement d'environ $20 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ soit de l'ordre de sa vitesse de nage voire légèrement supérieure. De ce fait, l'orientation des trajectoires pointe majoritairement dans la direction de l'écoulement. Certaines bactéries sont toutefois capables de remonter l'écoulement à une vitesse proche de $\sim v_0$ (trajectoires U et V). À ce stade, les forces de traînées sur le corps bactérien sont grandes devant les forces de propulsion. Les flagelles sont poussées vers la paroi et le corps bactérien se soulève : l'angle θ avec la paroi augmente. La bactérie peut alors parfois décrocher de la paroi. La trajectoire S illustre bien ce propos où elle décroche, avec une augmentation soudaine de la vitesse $\sim 5 \times v_0$, puis vient recoller ensuite avec la paroi pour nager à contre-courant sur quelques μm . Une autre particularité survient à ces régimes, il s'agit de l'apparition de trajectoires oscillantes (trajectoire V) ; particularité découverte récemment par Mathijssen *et. al* [31] (ce régime oscillatoire est décrit dans l'*État de l'art* p.21).

Au plus fort Pe_f étudié, l'occurrence des décrochages est plus importante (trajectoire Y). À ce fort Péclet hydrodynamique, les trajectoires sont à l'unanimité dirigées dans la direction de l'écoulement. Les amplitudes de fluctuation de vitesses dans ce cas sont grandes allant de $0.5 \times v_0$ à $10 \times v_0$. Nous remarquons également que les trajectoires dérivent majoritairement sur la droite excepté pour la trajectoire BB. La dérive vers la gauche de cette dernière est plutôt surprenante (de part les sens de rotations du corps et flagelles) mais survient dans de rares cas ($\sim 5 \%$) et a été également observé récemment dans les travaux de A. Mathijssen *et. al*.

Nous retrouvons ici de nombreuses similitudes avec les travaux de A. Mathijssen : des trajectoires circulaires, des trajectoires circulaires avec dérive, des trajectoires oscillantes ou encore des trajectoires forcées avec occasionnellement une dérive à l'opposé de la direction du vecteur vorticité. De plus, les Péclets (ou $\dot{\gamma}_w$) auxquels nous observons le passage entre ces différents régimes sont très proches voire identiques à ceux de [31].

4.2.2.2. Loin des parois

Nous allons maintenant nous intéresser à ces trajectoires en s'éloignant suffisamment loin des parois pour négliger toute interaction avec celle-ci. Nous avons alors choisi de nous positionner approximativement au centre du canal ($z = h/2$) où les taux de cisaillements sont quasi-nuls mais les vitesses maximales. Comme à la paroi, nous avons tracé le taux de bactéries par catégorie en fonction du Péclet de l'écoulement et pour différents confinements (Fig. 4.6).

Les résultats étaient attendus et ne sont pas surprenants, ce sont ici les trajectoires

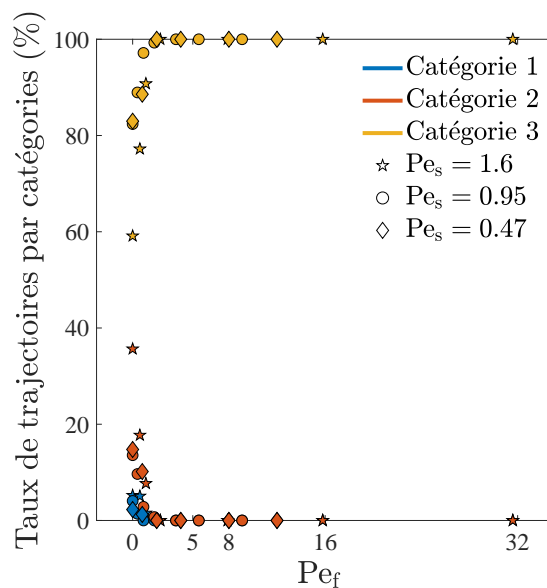


Figure 4.6: Évolution du taux de trajectoires par catégories en fonction du Pe_f au centre du canal ($z = h/2$) pour différents Pe_s . Chaque couleur correspond à une catégorie et chaque symbole à une valeur de confinement.

appartenant à la catégorie **3** qui sont le plus représentées. Jusqu'à des Pe_f d'environ 2, les trajectoires run & tumble (**C2**) sont toujours présentes mais leur nombre tend rapidement à être nul pour ne laisser place ensuite uniquement à des trajectoires rectilignes.

Nous avons tracés quelques trajectoires typiques retrouvées à chacune des valeurs de Pe_f (Fig. 4.7). Pour chacun des Péclets, nous avons indiqué la vitesse u_x du fluide à la position pour laquelle ont été extraites ces trajectoires.

Aux $Pe_f = 0.5, 1$ et 2 les comportements paraissent identiques et la nage semble s'effectuer sans contraintes. Les vitesses de nage y sont de l'ordre de v_0 aux $Pe_f = 0.5$ et 1 et légèrement supérieures 1.5 à $3v_0$ à $Pe_f = 2$.

Pour les trois autres valeurs de Pe_f , les trajectoires deviennent de plus en plus rectilignes avec l'intensification de l'écoulement. Nous remarquons quelques exceptions à $Pe_f = 8$ où des courbures au sein des trajectoires vont de paire avec une diminution de la vitesse : les bactéries procèdent à des tumbles dont le changement de direction n'est pas nette mais résulte tout de même en une modification de la vitesse de nage en dépit d'une vitesse environnante d'environ $4v_0$ (trajectoires N et M). À ces forts Pe_f certaines trajectoires ne sont pas parallèles à l'écoulement et dérivent légèrement sur la droite ou la gauche, résultat du phénomène de rhéotaxie de volume dont nous nous intéresserons plus en détail dans la partie 4.3.1. Au-delà d'un $Pe_f = 8$, les bactéries sont advectées avec l'écoulement et elles passent plus de temps au sein du plan focal (trajectoires plus longues) : leur dynamique de run & tumble est altérée voire inexistence. Malgré des taux de cisaillements nuls elles ne parviennent plus à franchir les lignes de courant selon z .

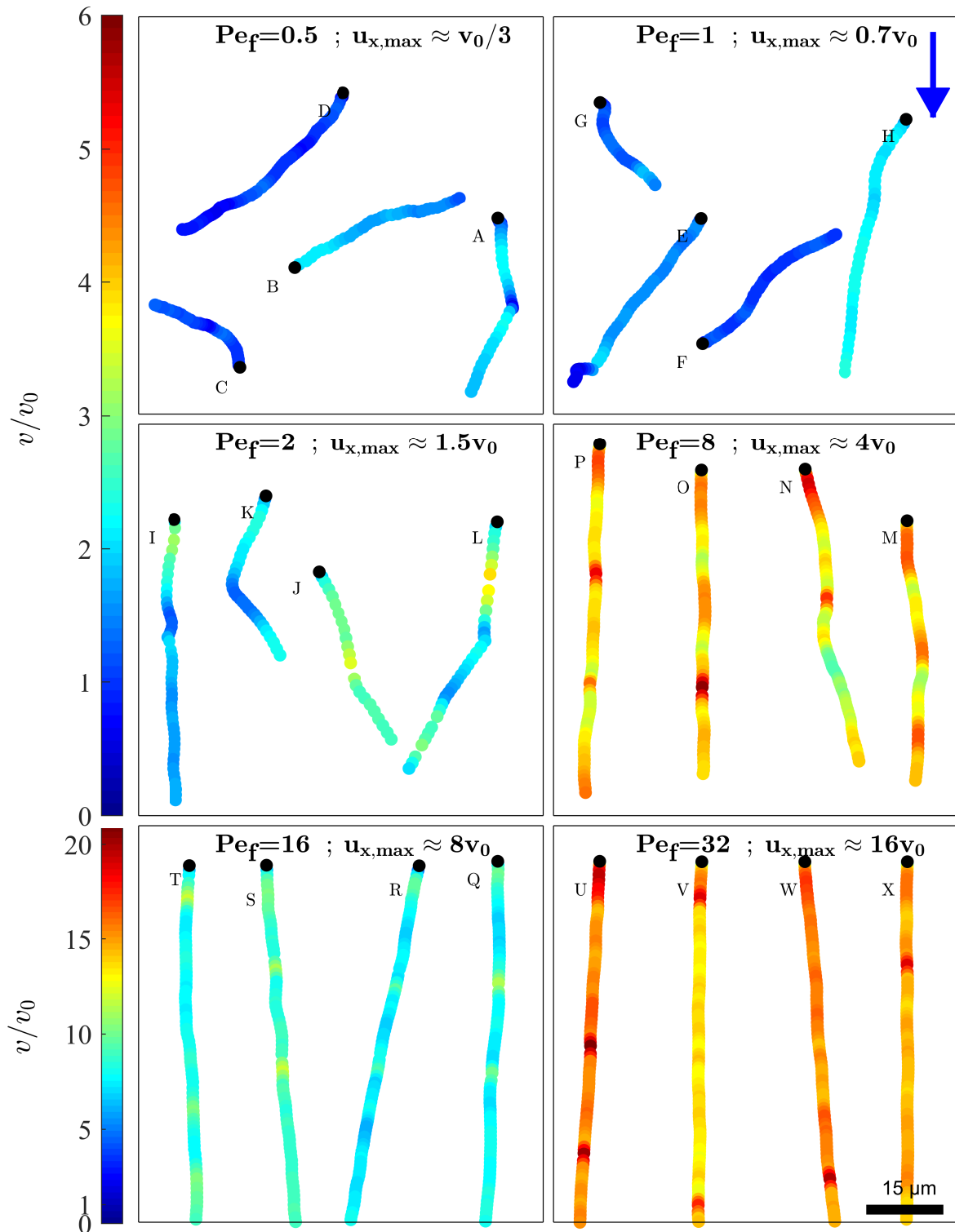


Figure 4.7: Tracé de trajectoires en volume ($z \approx h/2$) pour différents Pe_f à $Pe_s = 1.6$. En couleur est représenté la vitesse instantanée de la bactérie normalisée par la vitesse moyenne de la population. En noir est marqué le point de départ de la trajectoire. La flèche bleue dans le coin supérieur droit indique la direction de l'écoulement.

4.3. Transport bactérien

Cette dernière section visait à aborder la dynamique bactérienne sous un aspect purement visuel par observation de trajectoires. Cette analyse simpliste nous permet déjà de distinguer des changements de comportement dépendants principalement de la position de la bactérie (paroi ou volume) et de l'intensité de l'écoulement. Nous allons maintenant aborder un aspect plus quantitatif de cette nage dans le reste de ce chapitre.

La projection dans le plan xy des trajectoires obtenues donne accès à l'orientation ψ des bactéries dans ce même plan. Le vecteur unitaire d'orientation $\mathbf{p}(t)$ correspond à l'orientation du vecteur vitesse à un instant t . Dans le plan, les composantes de ce vecteur unitaire sont notées $p_x(t)$ et $p_y(t)$. Pour déterminer l'orientation propre de la bactérie pour chacun des plans en z , nous soustrayons la vitesse locale de l'écoulement afin de calculer chacune des composantes de \mathbf{p} : $p_x^i(t) = [v_x^i(t) - u_x(z)]/v^i(t)$ et $p_y^i(t) = v_y^i(t)/v^i(t)$ où $v^i(t) = \sqrt{[v_x^i(t) - u_x(z)]^2 + [v_y^i(t)]^2}$. Finalement, l'angle ψ est donné par $\psi^i(t) = \arctan(p_y^i(t)/p_x^i(t))$.

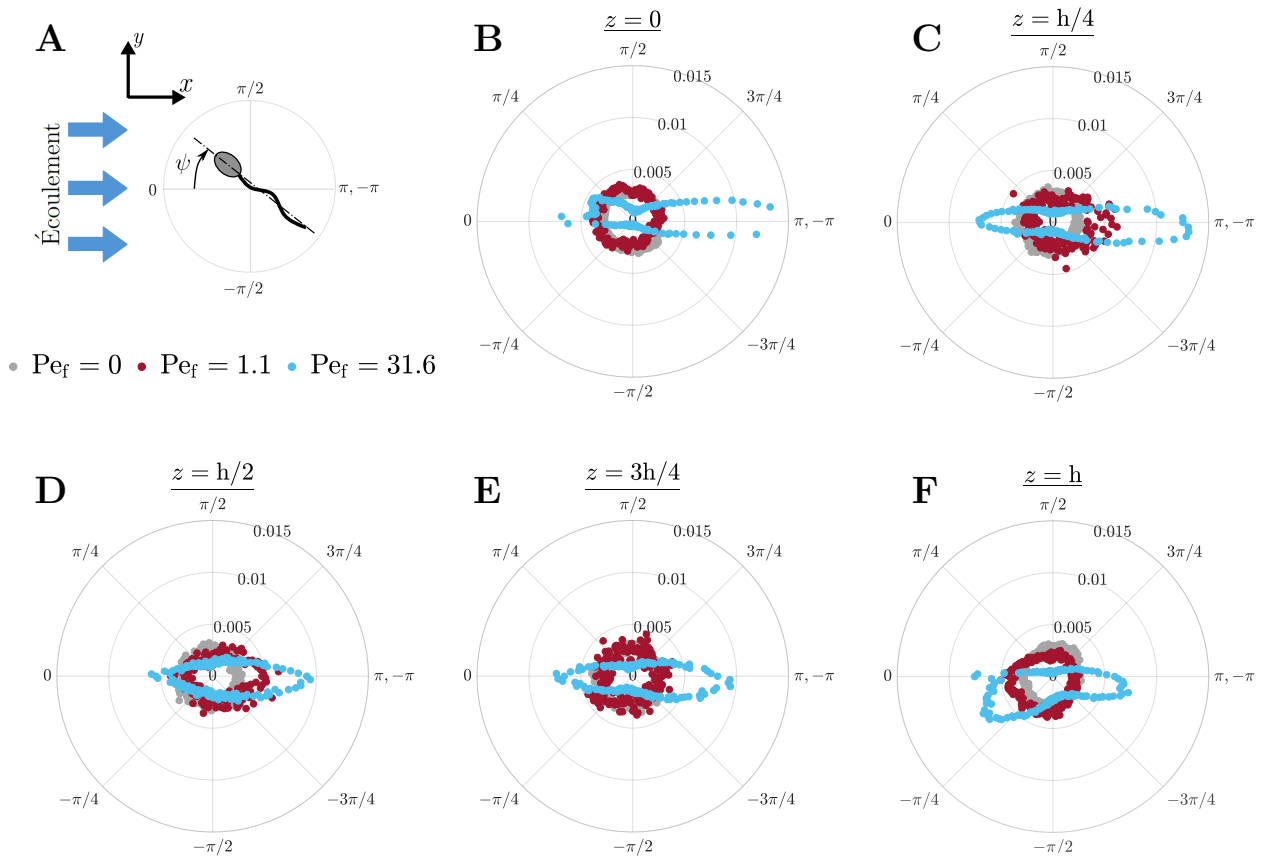


Figure 4.8: Densité de probabilité de ψ pour trois valeurs de $Pe_f = 0, 1.1$ et 31.6 en différentes positions du canal : **B** $z = 0$, **C** $z = h/4$, **D** $z = h/2$, **E** $z = 3h/4$ et **F** $z = h$. En **A** est défini l'angle ψ .

Comme il l'est indiqué sur la figure 4.8A, nous considérons que la bactérie s'oppose à la direction de l'écoulement à $-\pi/2 < \psi < 0$ et $0 < \psi < \pi/2$. Les graphes **B**, **C**, **D**, **E** et **F** présentent les densités de probabilité d'angles instantanés $P(\psi)$ d'une population de bactéries ainsi obtenues à différentes positions z de la cellule microfluidique à $Pe_s = 1.6$ et pour trois Péclets hydrodynamiques 0, 1.1 et 31.6. En l'absence d'écoulement, $P(\psi)$ est isotrope quelle que soit z ; aucune orientation particulière n'est privilégiée par la bactérie. En imposant un léger écoulement ($Pe_f = 1.1$, points rouges), la distribution se décentre et sa symétrie s'efface. À $z = 0$ et h , Fig. 4.8B et **F** (parois), l'orientation du micro-nageur tend à être plus importante pour des $-\pi/2 < \psi < \pi/2$ avec des lobes de distribution pointant, respectivement, vers $\pi/4$ et $-\pi/4$. En se rapprochant du centre du canal, le nageur s'oriente préférentiellement vers $\psi = \pm\pi$ et donc dans la direction de l'écoulement. Lorsque les taux de cisaillement deviennent grands devant le coefficient de diffusion rotationnel $Pe_f = 31.6 \gg 1$, ces distributions s'aplatissent et tendent vers 0 et $\pm\pi$. La tendance de la bactérie à nager dans la direction du vecteur vorticité, *i.e.* $0 < \psi < \pi$, donc sur la droite sur la paroi inférieure et sur sa gauche $-\pi < \psi < 0$ sur la paroi supérieure est plus accentuée qu'à $Pe_f = 1$.

Les deux prochaines sections vont faire l'objet d'une étude approfondie des vitesses orthogonale et longitudinale à l'écoulement.

4.3.1. Dans la direction orthogonale à l'écoulement

Avant de se pencher sur la composante de la vitesse orthogonale à l'écoulement v_y de bactéries motiles, intéressons nous tout d'abord au cas de bactéries non-motiles. La figure 4.9A présente la moyenne de cette composante dans le cas non-motile v_y^* . Ces données sont recensées en scannant sur la hauteur d'un capillaire de $h = 50 \mu\text{m}$ (axe z) pour trois différentes intensités d'écoulement. La vitesse orthogonale est constante sur z et oscille en moyenne autour de $0 \mu\text{m.s}^{-1}$. Ces bactéries inactives se comportent comme des traceurs passifs.

Nous observons maintenant l'évolution de v_y pour des bactéries actives en très proche paroi (en $z = 0$ pour la paroi inférieure et $z = h$ pour la paroi supérieure, Fig. 4.9B). À l'équilibre $Pe_f = 0$, v_y est nulle car *E. coli* n'est soumise à aucune contrainte et la distribution de son orientation est uniforme (*cf.* Fig. 4.8).

Dès lors qu'un écoulement est appliqué v_y croît avec le Pécelet (Fig. 4.9B). En effet, les forces hydrodynamiques de l'écoulement sur les flagelles sont à l'origine d'une force nette de portance (en raison de leur chiralité) normale au plan de cisaillement. Cette force provoque une dérive des flagelles au travers des lignes de courant dans le plan orthogonal au cisaillement. Le corps, non-chiral, n'est donc pas soumis à cette force mais uniquement à celle de la traînée dont la direction s'oppose à celle de la portance. Le corps agit alors

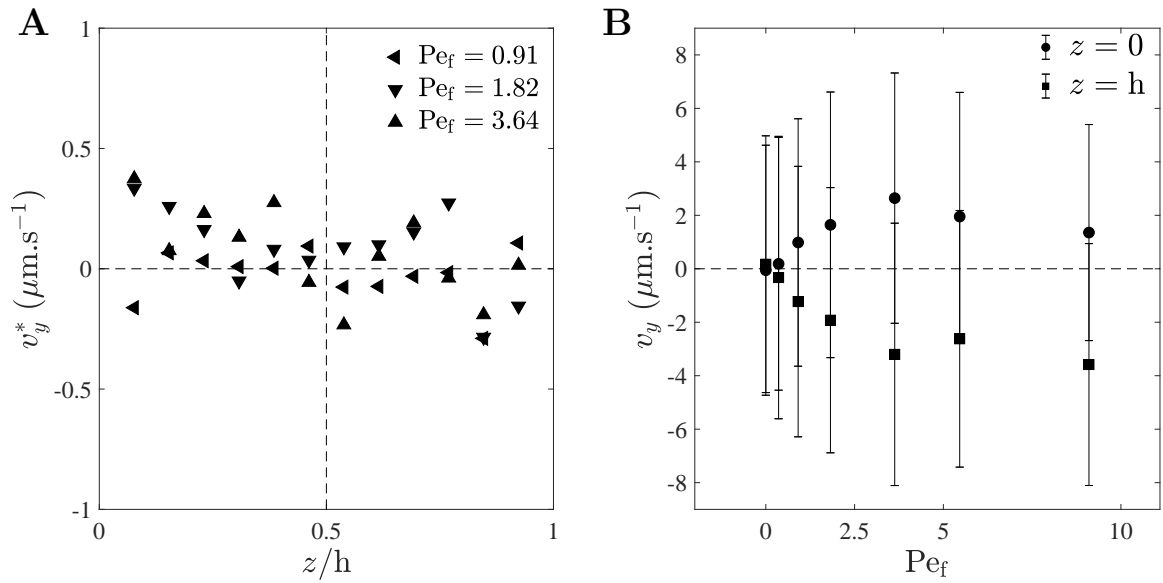


Figure 4.9: Vitesses orthogonales à l'écoulement pour différents Pe_f au sein d'une cellule microfluidique à $Pe_s = 0.95$. **A** Pour des bactéries *E. coli* non-motiles à différentes positions z . **B** Pour *E. coli* motiles sur la paroi inférieure ($z = 0$) et paroi supérieure ($z = h$).

comme un point de pivot et ces deux forces produisent un couple qui tend alors à réorienter la bactérie perpendiculairement à l'écoulement. Cet effet sera d'autant plus accentué que si la bactérie se retrouve à proximité d'une paroi où les forces résistives de celle-ci vont alors amplifier le phénomène. Cette composante en y de la vitesse est donc la réponse hydrodynamique de la bactérie à un cisaillement ce que l'on appelle rhéotaxie. Le signe de la vitesse de rhéotaxie v_y sera toujours le même que celui du vecteur vorticité. Plus les forces hydrodynamiques de l'écoulement seront importantes, plus cette composante en y sera grande et ψ tendra vers $\pi/2$. Cette vitesse orthogonale sera en revanche bornée par la vitesse de nage moyenne v_0 . Dans notre cas, elle tend à se stabiliser au-delà de $Pe_f \sim 5$ à une vitesse $\sim v_0/3$ (Fig. 4.9B).

On remarque également que le signe de v_y change en fonction de la paroi sur laquelle sont effectuées les mesures. Une trajectoire orientée vers les y positifs sur la paroi inférieure ($z = 0$) sera orientée vers les y négatifs sur la paroi supérieure ($z = h$). Les amplitudes de ces vitesses sont équivalentes d'une paroi à l'autre. Pour le dernier point, on remarque une vitesse en paroi inférieure légèrement inférieure à celle de la paroi supérieure et est due à la prise en compte d'un certain nombre de bactéries non-motiles qui ont sédimentées sur le temps de l'expérience.

La figure 4.10 présente la distribution de probabilité des vitesses instantanées v_y^i associées. Elles sont tirées de données acquises sur la paroi supérieure ($z = h$) en canal de $50 \mu\text{m}$. À chaque couleur correspond un Pe_f . En l'absence d'écoulement (courbe grise)

la distribution de v_y^i est centrée en 0. La courbe en noire correspond à l'ajustement par une loi normale d'écart-type $\sigma = 8.47 \mu\text{m.s}^{-1}$. Lorsque l'on augmente le Pe_f , la forme de la distribution change peu à $\text{Pe}_f = 5$ mais on remarque un léger décalage de celle-ci vers les v_y^i négatifs. Aux Péclets d'écoulement les plus importants, les distributions sont nettement décentrées et la distribution ne suit plus une loi Gaussienne.

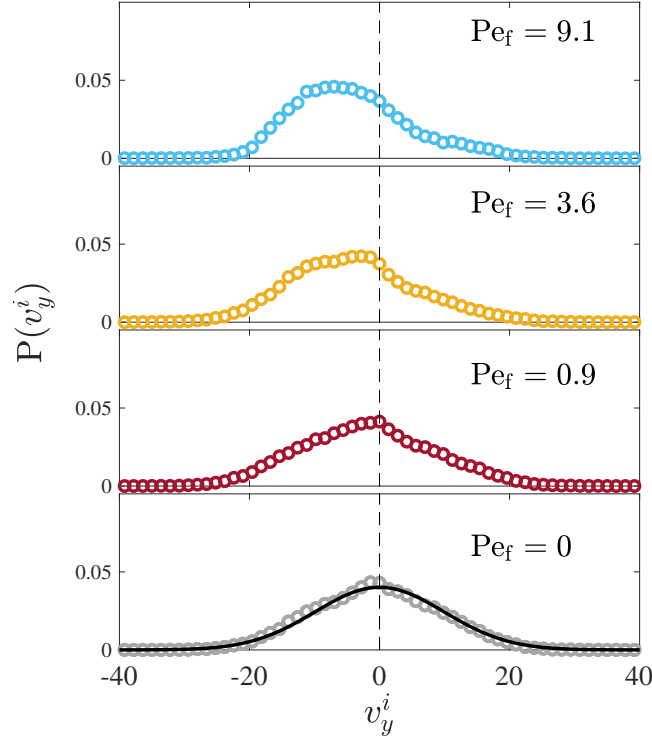


Figure 4.10: Densité de probabilité de v_y^i sur la paroi supérieure d'un canal $h = 50 \mu\text{m}$ pour différents Pe_f . Le trait plein en noir à $\text{Pe}_f = 0$ est un ajustement par une Gaussienne centrée ; $\sigma = 8.47$. Le trait vertical en pointillés permet de marquer $v_y^i = 0$.

Nous avons expliqué que le phénomène de rhéotaxie avait lieu en raison de la chiralité des flagelles et donc devrait être retrouvé aussi en volume (loin des parois). Pour vérifier cela, nous avons regroupé les courbes de la Fig. 4.10 sur le graphe **A** de la figure 4.11. Afin de comparer v_y^i en paroi et volume, nous avons tracé pour ces mêmes Pe_f la distribution de v_y^i au trois-quart de la hauteur du canal Fig. 4.11**B**. En premier abord, nous remarquons que les distributions pour ces quatre Péclets se confondent. La rhéotaxie est moins importante en volume ; les distributions sont moins décalées vers les valeurs négatives avec le Pe_f grandissant. Seules les queues de distribution sont légèrement plus accentuées vers les v_y^i négatifs que positifs. À Péclet nul, la distribution de la vitesse est symétrique mais beaucoup plus piquée qu'à la paroi. L'amplitude de ces distributions est plus faible avec écoulement qu'en son absence.

Ces remarques laissent à penser que v_y dépend du cisaillement comme il l'a été indiqué plus haut. Hypothèse appuyée par le graphe Fig. 4.12**A** sur lequel sont tracées les vitesses

moyennes en différentes positions z du canal. On observe cette symétrie par rapport à son centre ($z/h = 0.5$) de la même manière que le cisaillement est symétrique. Sur le graphe Fig. 4.12B ces vitesses sont finalement tracées en fonction du taux de cisaillement local $\dot{\gamma}$.

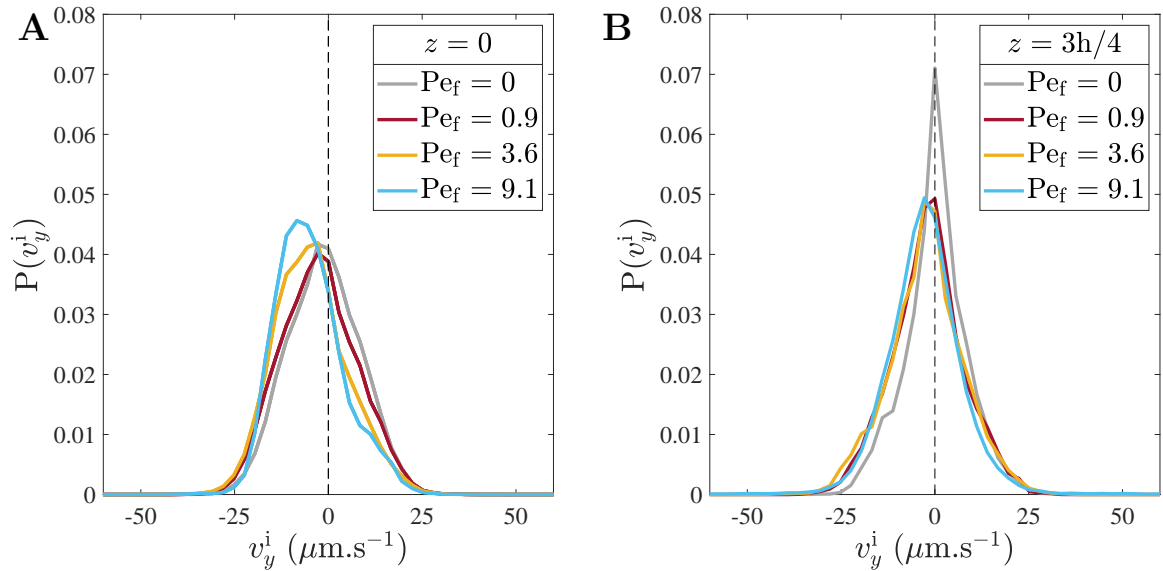


Figure 4.11: Densité de probabilité de v_y^i pour différents Pe_f au sein d'une cellule microfluidique $h = 50 \mu\text{m}$. **A** En paroi. **B** En $z = h/4$.

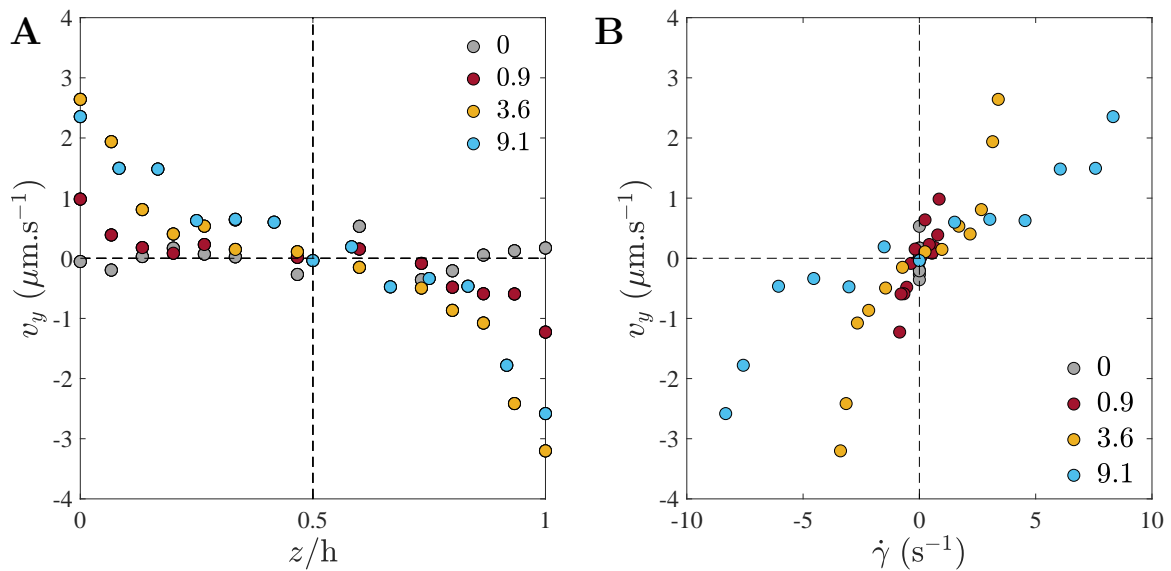


Figure 4.12: Évolution de v_y **A** en fonction de la position z/h dans le canal z . **B** en fonction du taux de cisaillement local $\dot{\gamma}$ correspondant.

Finalement, nous avons fait varier le confinement ($Pe_s = 1.6$ et $Pe_s = 0.47$). Nous ne

nous attendons pas à ce que le confinement ait un impact sur cette composante v_y étant donné qu'elle dépend du cisaillement. Le confinement ne ferait que varier les vitesses de l'écoulement à un Pe_f donné et permet donc l'exploration de différentes gammes de cisaillement.

Nous avons regroupé et tracé l'ensemble des valeurs obtenues normalisées par v_0 en fonction du taux de cisaillement local sur le graphique (Fig. 4.13). À chaque couleur correspond un Péclet unique et à chaque marqueur une valeur de confinement. Ces données sont dispersées mais évoluent linéairement sur la plage de cisaillement étudiée et ce pour les trois valeurs de confinement. La droite en trait noir est là pour guider l'œil et correspond à une pente de 0.015. Les récents travaux de [70] présentent également une évolution linéaire de v_y/v_0 jusqu'à des $\dot{\gamma} \sim 20 \text{ s}^{-1}$ mais avec une pente légèrement plus importante (~ 0.025) mais cette valeur v_y/v_0 tend à se stabiliser autour de $0.65 - 0.7$. Nous ne remarquons pas cette relaxation dans notre étude ; v_y/v_0 évolue linéairement et atteint une valeur de 0.6 à 35 s^{-1} . Cette différence peut être expliquée par l'utilisation de souche d'*E. coli* différentes. Cela n'est pas surprenant puisque le couple de rhéotaxie va être fortement dépendant de différents paramètres caractérisant la chiralité des flagelles comme leurs longueurs, le diamètre, l'amplitude de l'hélicoïde, etc. Ce couple dépend également des forces de trainées agissant sur le corps bactérien. Nous avons mesuré dans le *Chapitre 2* sa longueur ($2 \pm 0.3 \text{ }\mu\text{m}$ pour ATCC9637) moins importante que celle de la souche RP437 utilisée pour les expériences dans [70]. Plus la taille du corps est grande, plus les forces de trainées agissant sur lui le seront également et donc le couple résultant sur la bactérie sera d'une intensité plus importante.

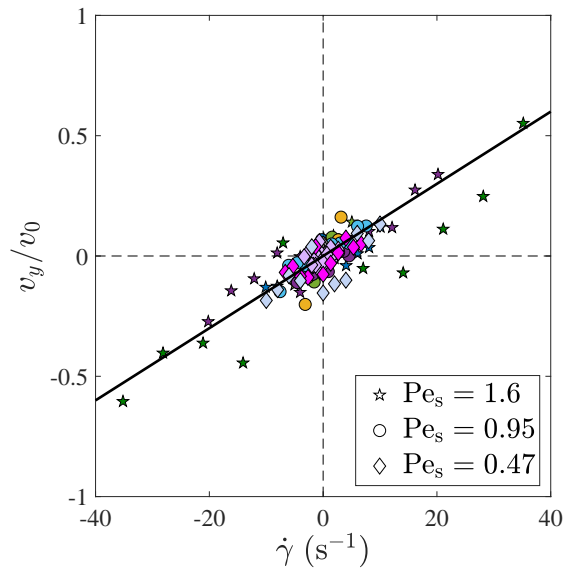


Figure 4.13: v_y normalisé par la vitesse de nage moyenne v_0 en l'absence d'écoulement en fonction du cisaillement local $\dot{\gamma}$ pour de multiples Pe_f et Pe_s . La droite correspond à un ajustement linéaire de pente 0.015.

4.3.2. Dans la direction longitudinale à l'écoulement

Nous avons vu en Fig. 4.8 que la distribution d'orientation est isotrope en l'absence d'écoulement puis vient à se décentrer et s'étirer suivant $\pm x$ avec une amplitude qui dépend du Pe_f imposé. Nous allons ici apporter des informations plus quantitatives en étudiant uniquement l'évolution de cette composante de la vitesse selon x .

Nous avons tracé les densités de probabilité de v_x^i à deux positions $z = 0 \mu\text{m}$ (paroi, Fig. 4.17A) et $z = h/4 \sim 7.5 \mu\text{m}$ (Fig. 4.17B) pour un capillaire $Pe_s = 1.6$ et pour différentes intensités d'écoulement. À la paroi, l'amplitude des distributions est équivalente entre les différents Péclets et se superposent avec la distribution en l'absence d'écoulement. Elles sont centrées autour de 0; excepté la distribution à $Pe_f = 15.8$ qui présente un léger décalage vers les valeurs positives. En s'éloignant de la paroi (B), ces distributions se décalent où la valeur la plus probable de ces distributions tend vers la vitesse moyenne de l'écoulement. Ces deux graphes, et notamment celui en proche paroi, indiquent clairement une nage à contre courant par les microorganismes dès lors que $P(v_x^i) < 0$. À la paroi, c'est la rhéotaxie couplé à l'interaction avec la paroi qui est responsable de retourner le nageur face à l'écoulement. Ce n'est pas le cas en volume, et cette nage à contre-courant est permise tant que la vitesse du fluide est de l'ordre de la vitesse de nage bactérienne. La nage à contre-courant est bien connue de la littérature et est retrouvée aussi bien au travers de simulations numériques [18, 71-73] que des expériences [30, 59, 70].

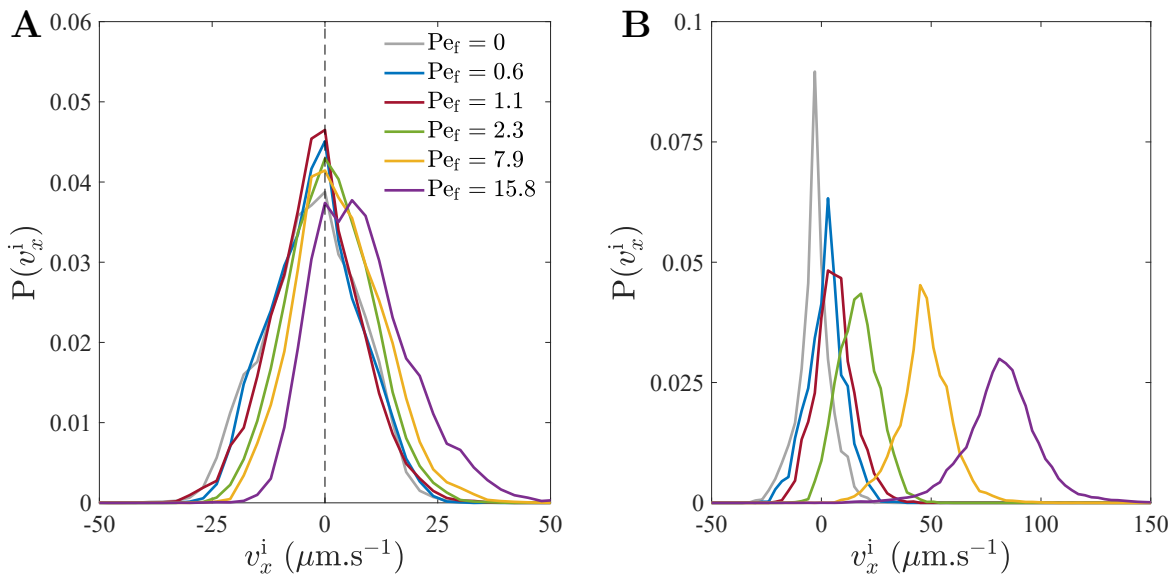


Figure 4.14: Densités de probabilité $P(v_x^i)$ à différents Péclets hydrodynamiques pour $Pe_s = 1.6$ **A** à la paroi et **B** en $z = h/4$.

La figure 4.15A, présente l'exemple d'une bactérie à la paroi (cercle rouge) qui remonte de façon nette l'écoulement dont la direction est indiquée par la flèche bleue. Sur un temps de 1.5 s, elle parcourt une distance de l'ordre de 10 fois la taille de son corps a ($Pe_f = 7.9$, $Pe_s = 1.6$). Afin d'être plus quantitatif, nous avons alors calculé et reporté, toujours en parois, la fraction totale ϵ^- de bactéries qui nage à contre-courant en figure 4.15B (ce qui revient à intégrer $P(v_x^i)$ entre $-\infty$ et 0). Cette fraction décroît linéairement pour atteindre une valeur nulle à $Pe_f \sim 20$. Cette décroissance est également linéaire mais plus rapide pour le taux de bactéries remontant l'écoulement sur une distance supérieure ou égale à $10a$ (Fig. 4.15C). Parmi la population bactérienne nageant à contre-courant, il est intéressant de noter que la vitesse de remontée v_x^- semble constante aux parois de l'ordre de $7 - 8 \mu\text{m.s}^{-1}$ (Fig. 4.15D) et ce jusqu'à un Pe_f de 10; vitesse qui décroît rapidement loin des parois $z = h/4$ (Fig. 4.15E).

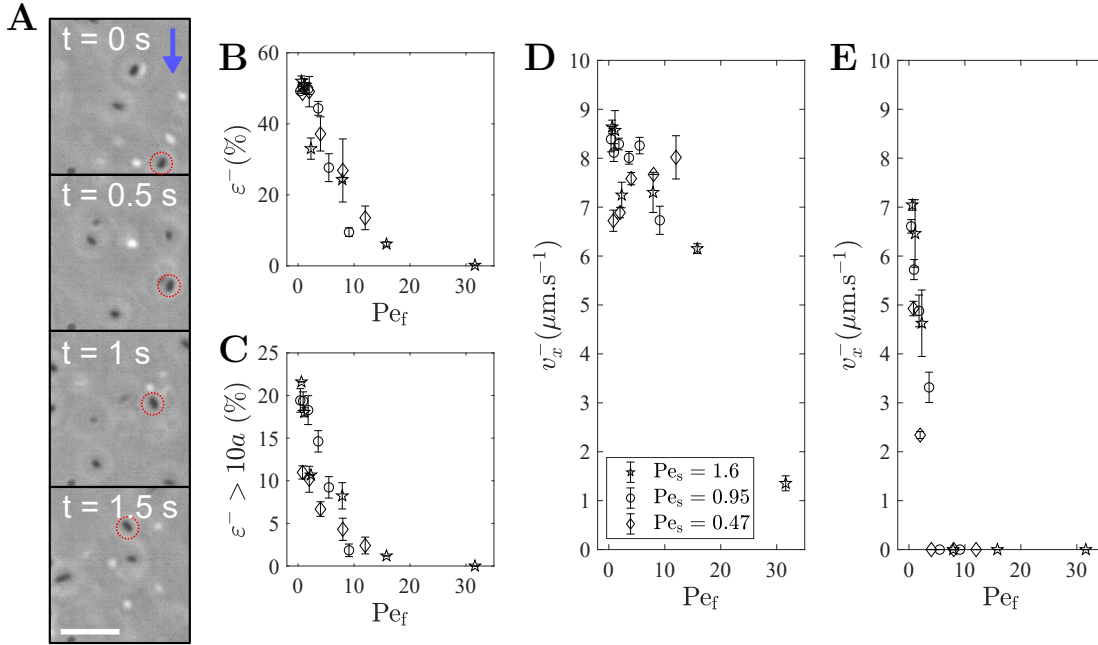


Figure 4.15: La nage à contre-courant. **A** *Time lapses* d'*E. coli* remontant l'écoulement (cercle rouge). La flèche bleue indique la direction de l'écoulement et la barre horizontale blanche représente $10 \mu\text{m}$. **B** Fraction totale ϵ^- de bactéries nageant à contre-courant. **C** Fraction ϵ^- de bactéries nageant à contre-courant sur une distance supérieure à 10 fois leur taille a . **D** Vitesse de la nage à contre-courant v_x^- à la paroi ($z = 0$) en fonction du Pe_f . **E** Vitesse de la nage à contre-courant v_x^- en $z = h/4$ en fonction du Pe_f .

Afin d'avoir un aperçu plus général quant à cette composante de la vitesse selon x , intéressons nous à son évolution en différents points (selon z) de la cellule microfluidique (Fig. 4.16A). Cette vitesse longitudinale v_x suit la même tendance que celle du fluide suspendant MM-P que nous avons caractérisé au *Chapitre 1* et représenté par des traits pleins sur la figure 4.16A. La vitesse bactérienne décrit une parabole dont les profils sont

de même amplitudes excepté pour les Péclets 2.3, 7.9 et 15.8 où l'écart entre deux points d'une même position est en moyenne de l'ordre $\sim v_0$. Il est compliqué de déterminer l'origine de cet écart mais peut correspondre à l'addition de la vitesse de nage sur celle de l'écoulement $v_0 + u_x$. En effet, puisque les taux de cisaillement augmentent avec le Pe_f , le temps nécessaire à l'écoulement pour réorienter la bactérie avec lui ($\dot{\gamma}^{-1}$) est faible devant celui nécessaire à la bactérie pour se réorienter par elle-même (D_r^{-1}) et il la contraint alors à s'aligner avec lui et donc uniquement « autoriser » sa propulsion selon x . Naturellement, les vitesses bactériennes en proche paroi s'éloignent significativement du profil parabolique et sont d'autant plus grandes que Pe_f est grand.

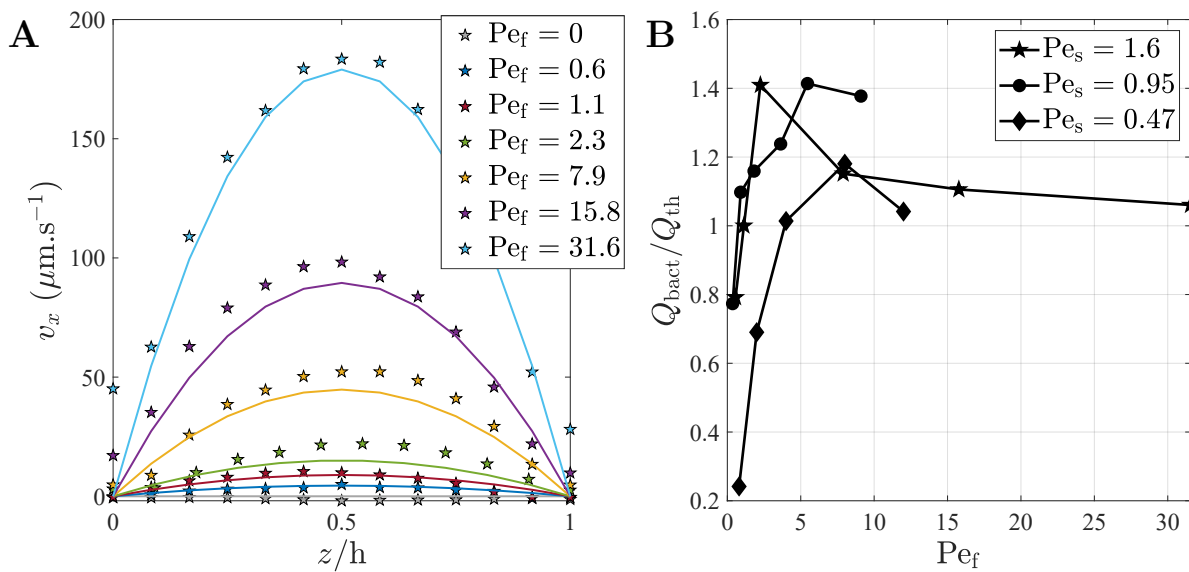


Figure 4.16: **A** Évolution de v_x à différentes positions du canal à $Pe_s = 1$ et pour plusieurs Pe_f . **B** Débit bactérien Q_{bact} normalisé par le débit du milieu MM-P (en l'absence de bactéries) Q_{th} à différentes valeurs de Pe_f .

En intégrant ces profils de vitesses sur la hauteur du capillaire, nous pouvons en extraire un débit bactérien et du fluide suspendant (MM-P) en l'absence de bactéries selon x basé sur la vitesse :

$$Q_{bact} = w \times \int_0^h v_x(z) dz \quad (4.3)$$

Nous avons tracé le débit bactérien Q_{bact} normalisé par le débit du fluide suspendant seul Q_{th} en fonction du Péclet hydrodynamique sur la figure 4.16B. Nous remarquons que ces courbes de débit présentent la même tendance quelle que soit la valeur de Pe_s . Le débit bactérien est tout d'abord supérieur à Q_{th} à faible Péclet (nage à contre-courant)

puis diminue ensuite pour tendre vers 1 au grandes valeurs de Pe_f soit la valeur du fluide suspendant seul.

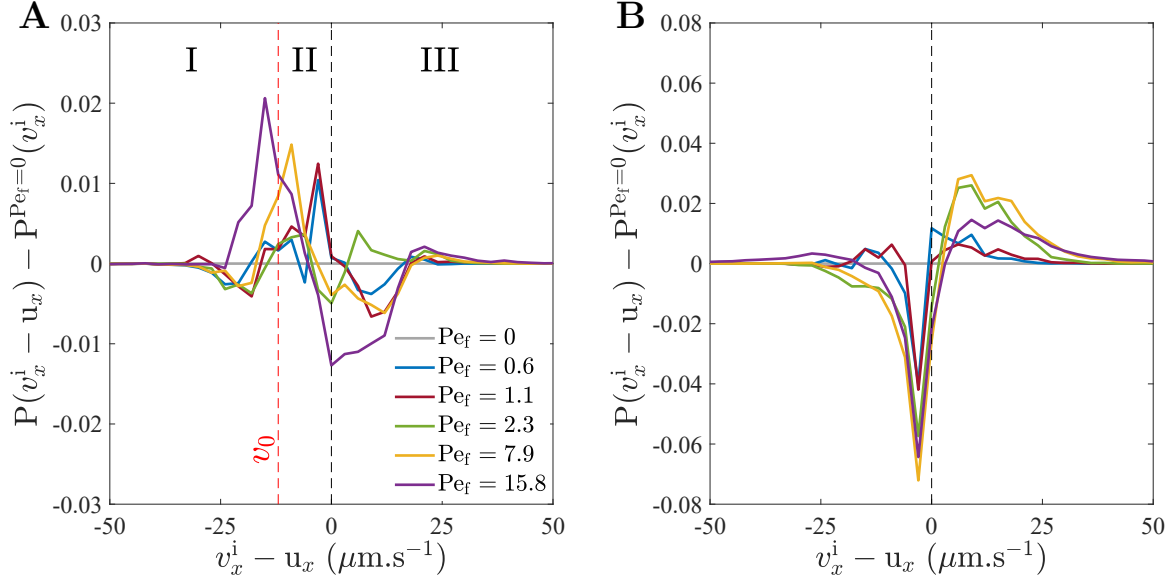


Figure 4.17: **A** Densités de probabilité $P(v_x^i)$ à différents Péclets hydrodynamiques à la paroi et **B** en $z = h/4$.

Cette façon d’analyser les données ne renseigne pas sur l’orientation du nageur sous écoulement que nous avons introduit en p.82. Au cours de ses travaux de thèse, Lopez [59] met, de façon intéressante, cette information en valeur. Pour cela, il trace la densité de probabilité de la vitesse relative $P(v_x^i - u_x)$ à laquelle il soustrait la densité de probabilité de v_x^i en l’absence d’écoulement (tracé avec nos données en Fig. 4.17A et B). Pour rappel, la vitesse v_x que nous mesurons correspond à la vitesse de nage de la bactérie v_0 à laquelle est additionnée la vitesse de l’écoulement u_x . Soustraire $P^{Pe_f=0}(v_x^i)$ permet alors de comparer directement avec la distribution des vitesses bactériennes en l’absence d’écoulement. À la paroi, Fig. 4.17A, nous avons mis en valeur trois régimes distincts délimités par des traits en pointillé verticaux. Le régime III comprend l’ensemble des bactéries nageant dans la direction de l’écoulement où la probabilité de rencontrer une bactérie nageant à $-\pi/2 < \psi < 0$ et $0 < \psi < \pi/2$ est, quelque soit le Pe_f , plus faible qu’en l’absence d’écoulement. Cette probabilité « négative » est alors contrebalancée vers les vitesses relatives négatives. À $-v_0 < (v_x^i - u_x) < 0$ (régime II), nous retrouvons ici la population de bactéries nageant face à l’écoulement mais advectées avec lui. Puisque leur vitesse relative est inférieure à v_0 , nous estimons qu’elle ne remontent pas de façon « nette » l’écoulement contrairement à la population du régime I dont la vitesse relative est grande devant v_0 . La population du régime I correspond ici aux valeurs négatives des distributions de la figure 4.17.

En $z = 3h/4$ (Fig. 4.17B), la tendance s'inverse. La direction de nage se fait préférentiellement dans la direction de l'écoulement, *i.e.* la probabilité de retrouver $v_x^i - u_x < 0$ est bien moins probable qu'en l'absence d'écoulement.

4.4. Distribution bactérienne

Après nous être intéressés aux variations des composantes de la vitesse en x et y , nous nous penchons ici sur la distribution en bactéries au sein du capillaire selon z . Cette distribution peut être perçue comme une mesure indirecte de la composante en z des propriétés de nage.

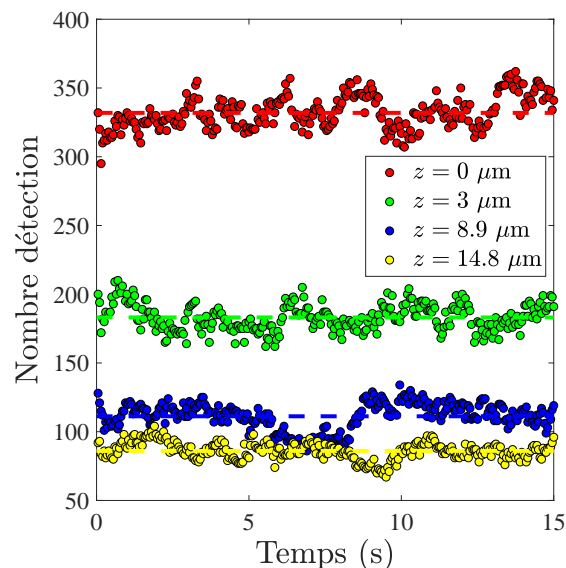


Figure 4.18: Évolution du nombre de bactéries présentes dans le plan focal en fonction du temps et pour différentes positions dans un capillaire $h = 50 \mu\text{m}$ ($Pe_s = 0.95$).

Pour effectuer cette mesure de concentration, nous scannons plan par plan le capillaire sur sa hauteur (selon z) et à chacun de ces plans est enregistrée une vidéo de 15 s. À chaque plan, nous suivons l'évolution temporelle du nombre de bactéries présentes dans le plan focal. Quatre de ces évolutions temporelles pour quatre positions sont reportées sur la figure 4.18 à $Pe_f = 0$ et $Pe_s = 0.95$. Le nombre de bactéries est stationnaire sur le temps de la mesure dont la moyenne $N(z)$ est indiquée par les traits en pointillés. De plus, les variations autour de cette moyenne sont relativement constantes. On remarque également que le nombre moyen de détections diminue à mesure que l'on s'éloigne de la paroi (où $z = 0 \mu\text{m}$ correspond à la paroi). Pour la suite de l'analyse, nous normalisons $N(z)$ par \mathcal{N} qui représente le nombre total moyen de bactéries détectées sur la hauteur du canal :

$\mathcal{N} = \frac{1}{h} \int_0^h N(z) dz$. Nous avons fait le choix de la normalisation car la concentration peut légèrement fluctuer ($\sim 20\%$) entre différents échantillons. Renormaliser le profil ne porte pas préjudice à l'analyse car nous travaillons en régime dilué où les interactions entre nageurs sont négligeables. Nous travaillerons donc dans le reste de cette partie avec ce nombre normalisé que nous noterons $c(z) = N(z)/\mathcal{N}$ et que nous appellerons par défaut « concentration ».

4.4.1. À l'équilibre

Nous commençons par nous intéresser à la distributions de ces bactéries pour le cas sans écoulement ($Pe_f = 0$) et en variant le confinement. Les concentrations ainsi calculées sont reportées par des symboles rouges sur la figure 4.19.

Pour les trois valeurs de confinement étudiées, nous remarquons une sur-concentration de bactéries à la paroi (Fig. 4.19). Cet effet d'accumulation aux surfaces est rapporté dans la littérature aussi bien expérimentalement [34, 74] que numériquement [18, 72, 73, 75] mais l'explication reste encore indéterminée. En effet, certaines études attribuent cet effet aux interactions hydrodynamiques entre le dipôle de force engendré par *E. coli* et la paroi. Dans ce cas, le nageur est incité à s'orienter parallèlement avec cette paroi et son champ hydrodynamique l'« aspire » vers celle-ci². Ezhilan et Saintillan [18], par un modèle cinétique capturent eux aussi ce phénomène d'accumulation aux parois mais négligent complètement ces interactions nageurs/paroi (cf. *État de l'art* p.18). Dans ce modèle, c'est la condition aux limites d'imperméabilité qui est responsable de cette accumulation : la composante normale à la paroi du flux translationnel doit être nulle. De ce fait, la condition aux limites est donnée par :

$$D_t \frac{\partial \Psi}{\partial z} = v_0 \cos \theta \Psi \quad \text{en } z = 0 \text{ et } h \quad (4.4)$$

De cette condition aux limites, on peut déduire que l'orientation de la particule est donnée suivant deux conditions :

$$\begin{array}{ll} \text{si } \underbrace{\cos \theta > 0}_{\text{pointe vers le mur supérieur}} & \text{alors } \left. \frac{\partial \Psi}{\partial z} \right|_{z=h} > 0 \\ \text{si } \underbrace{\cos \theta < 0}_{\text{pointe vers le mur inférieur}} & \text{alors } \left. \frac{\partial \Psi}{\partial z} \right|_{z=0} < 0 \end{array}$$

2. Hypothétiquement, cet effet devrait être inverse dans le cas de microorganismes *puller* et conduire à une déplétion en proche paroi.

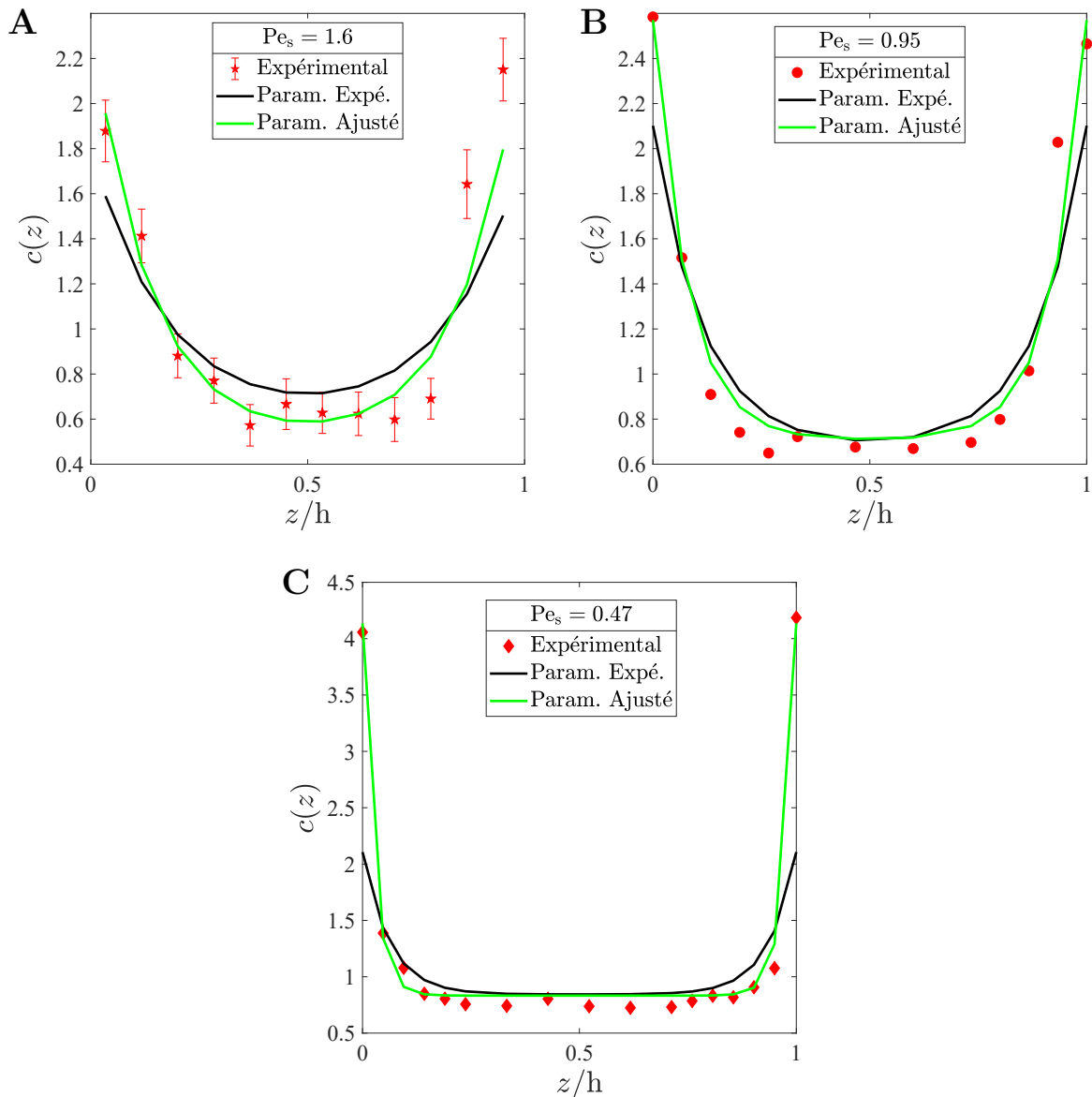


Figure 4.19: Profils de concentrations à différents Pe_s . **A** $Pe_s = 1.6$, **B** $Pe_s = 0.95$, **C** $Pe_s = 0.47$. Les symboles rouges correspondent aux résultats expérimentaux, en trait continu noir à l'ajustement de l'équation (4.5) avec les paramètres expérimentaux et en trait continu vert en laissant les paramètres libres.

Un semblant de tri s'effectue alors où les bactéries vont tendre à s'accumuler aux parois. Le flux dont l'origine est l'auto-propulsion de la bactérie ($v_0 \cos \theta$) est équilibré par le flux de diffusion (D_t) sur une longueur $l_c \sim D_t/v_0 \sim 4 \mu\text{m}$, de l'ordre de quelques tailles de bactéries.

Au centre du canal, les profils sont d'autant plus plats que le Pe_s est faible (Fig. 4.19). Les bactéries n'interagissent que faiblement voire pas du tout avec ces parois. En effet, à ces petites valeurs de Pe_s le temps nécessaire h/v_0 à la bactérie pour traverser un canal dont les parois sont très éloignées l'une de l'autre (par rapport à sa taille) est grand devant

le temps caractéristique de décorrélation de son orientation $D_r^{-1} \approx t_c$. Si nous supposons que l'interaction hydrodynamique commence à se faire ressentir à une distance de l'ordre de 10 à 20 μm avec la paroi [34, 36] alors pour un capillaire $h = 100 \mu\text{m}$, la bactérie est « libre de mouvements » dans un volume dont la dimension selon z est d'environ 60 à 80 μm . En revanche, lorsque l'on augmente cette valeur de confinement ($Pe_s > 1$), la bactérie va rapidement ressentir l'effet des parois. Par exemple, une bactérie nageant à $\approx 15 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ avec un temps caractéristique $t_c \sim 1 \text{ s}$ dans un capillaire de $h = 30 \mu\text{m}$, un seul run va lui suffire pour traverser une distance équivalente à la moitié de ce canal. De ce fait, lorsque Pe_s augmente, le profil de concentration tend à s'homogénéiser : la concentration en paroi diminue.

Ezhilan et Saintillan proposent une expression analytique pour décrire les profils de concentration qui résultent de l'équilibre entre la nage et les diffusions translationnelle et rotationnelle [18] :

$$c(\tilde{z}) = \frac{B[6\Lambda \cosh B + \cosh B\tilde{z}]}{6\Lambda B \cosh B + \sinh B} \quad (4.5)$$

avec $\tilde{z} = z/h$. $B = \left(\Lambda Pe_s \sqrt{\frac{12}{1+6\Lambda}}\right)^{-1}$ et $\Lambda = \frac{D_t D_r}{v_0^2}$ correspondent, respectivement, à l'inverse d'une longueur et à un paramètre rendant compte de l'activité bactérienne (forte propulsion lorsque $\Lambda \rightarrow 0$ et état passif lorsque $\Lambda \rightarrow \infty$).

Afin d'ajuster les profils expérimentaux, nous avons dans un premier temps fixé les paramètres Pe_s et Λ avec les valeurs déterminées en *Chapitre 3* ($\Lambda = 0.07$). Cet ajustement est présenté sur la figure 4.19 par la courbe en trait continu noire. Nous pouvons constater que les résultats expérimentaux sont qualitativement représentés avec nos paramètres mais des divergences sont observables en proche paroi et notamment pour le capillaire de plus grande taille ($Pe_s = 0.47$). Nous avons alors choisi de laisser ces paramètres en paramètres libres que nous noterons Pe_s^* et Λ^* et dont l'ajustement est présenté en trait continu vert (Fig. 4.19). La correspondance entre les profils expérimentaux et théoriques est ainsi plus satisfaisante pour des valeurs de paramètres ajustés $Pe_s^* = [0.39 ; 0.85 ; 1.88]$ et $\Lambda^* = [0.042 ; 0.063 ; 0.045]$. Nous constatons que l'écart entre les valeurs de (Pe_s, Λ) et (Pe_s^*, Λ^*) est faible et sont en bon accord. La différence la plus importante est sur le paramètre Λ . C'est ce paramètre qui influence principalement la concentration aux parois et qui est très sensible aux variations de v_0 . Cet écart entre la valeur expérimentale et ajustée peut être expliquée par le fait que lorsque nous caractérisons la suspension, nous évaluons ces grandeurs (v_0, D_t et D_r) sur une population entière représentée par une distribution de vitesses et comprenant 10 à 20 % de bactéries inactives. L'expression de l'équation 4.5 est quant à elle basée sur une unique vitesse moyenne et suppose l'ensemble des particules actives. De plus, en condi-

tions expérimentales ce sont les bactéries les plus « actives » qui vont se retrouver à la paroi. Nos paramètres expérimentaux B et Λ intègrent donc ces effets et sous-estiment (dans le bon sens) l'évaluation de v_0 et D_t (Λ évolue en D_t/v_0^2).

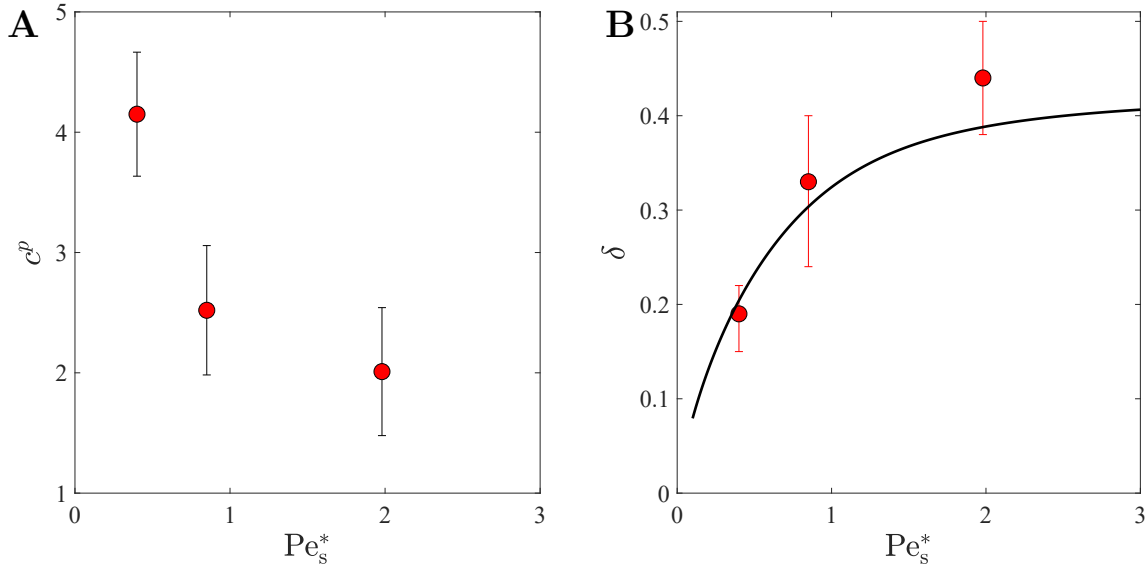


Figure 4.20: **A** Concentration bactérienne en paroi et **B** Épaisseur de la couche limite de concentration à différents Pe_s , les points rouges correspondent aux données expérimentales et en trait continu noir l’ajustement de l’équation 4.6 proposé par [18].

Pour aller plus loin dans la description de ces profils de concentration, nous pouvons déterminer la concentration pariétale et l’épaisseur de la couche limite de concentration. Ces concentrations à la paroi sont reportées sur le graphe **A** de la figure 4.20 et tracées en fonction de la valeur de confinement. On observe une forte diminution de la concentration à mesure que le confinement augmente. La connaissance de la concentration donne accès à l’épaisseur de la couche limite δ que l’on détermine par $c(1 - \delta) = 1$ (Fig. 4.20**B**). La variation de l’épaisseur de la couche limite va de paire avec la diminution de $c(z)$. À mesure que le confinement augmente, l’épaisseur de cette couche limite de concentration occupe une part grandissante selon l’axe z du capillaire. Ezhilan et Saintillan [18] proposent une évolution de δ dépendante du Pe_s :

$$\delta(Pe_s) = 1 - \frac{1}{B} \log \left\{ \frac{\sinh B}{B} \pm \left[\left(\frac{\sinh B}{B} \right)^2 - 1 \right]^{1/2} \right\} \quad (4.6)$$

La courbe en trait continu noire Fig. 4.20**B** correspond au tracé de l’équation (4.6) avec notre valeur expérimentale $\Lambda = 0.07$; le modèle est en accord avec les données expérimentales. En repassant aux grandeurs dimensionnées, l’épaisseur de la couche li-

mite de concentration varie de 7 à 10 μm correspondant à ~ 5 à 10 tailles du corps bactérien. Cette épaisseur de couche limite est en accord avec les résultats de Molaei [36] ($\delta = 5.1 \mu\text{m}$ en capillaire Hele-Shaw $h = 200 \mu\text{m}$ pour la souche *E. coli* AW-405) et Lopez [59] ($\delta = 5.5 \mu\text{m}$ en capillaire cylindrique de 300 μm diamètre pour la souche *E. coli* RP437). Il est à noter qu'ils ne mesurent pas cette couche limite de la même façon que nous et s'appuient sur le modèle de Berke *et. al* (cf. [34]) qui tient compte des interactions nageur/paroi.

Nous observons que lorsque le confinement augmente, δ augmente et tend à devenir constant à fort Pe_s . En effet, l'épaisseur de la couche limite devient proportionnelle à l'épaisseur du canal et donc du même ordre de grandeur que $l_c = D_t/v_0$. Aux importantes valeurs de confinement, l'hétérogénéité spatiale aux parois s'étend à travers tout le canal à mesure que le confinement augmente. L'épaisseur des couches limites de concentration deviennent de plus en plus importantes devant la taille du canal jusqu'à interpénétration de celles-ci aux importantes valeurs de Pe_s . Cela mène alors à une homogénéisation de la distribution bactérienne dans la cellule microfluidique. Ce raisonnement rejoint alors celui effectué plus haut vis-à-vis des profils de concentration.

4.4.2. En écoulement

On s'intéresse maintenant à l'effet de l'écoulement sur les profils de concentration. En Fig. 4.21, nous avons tracé les profils de concentration pour différents Pe_f pour une valeur de confinement. Chaque profil est décalé de 0.5 pour permettre une meilleure lisibilité; les traits horizontaux indiquent la valeur de $c(z) = 1$ pour chaque courbe. Pour l'analyse, nous conserverons les valeurs de Pe_s^* que nous avons extraites de l'ajustement sans écoulement.

À faible Péclet hydrodynamique ($Pe_f = 0.8$ et éventuellement 2 sur la figure 4.21A), les profils de concentration sont peu perturbés et leurs allures est quasiment identique à celle sans écoulement de la figure 4.19. Lorsque Pe_f augmente ($Pe_f = 8$ et 12), ces profils de concentration sont modifiés et l'on observe une concentration dans la zone centrale du capillaire faible devant 1 (représentée par les pointillés) par rapport aux $Pe_f = 0.8$ et 2.

À une distance $l_c < D_t/v_0$ de la paroi (Zone I, Fig. 4.22), nous observons une diminution du gradient de concentration pariétal à mesure que le Pe_f augmente et tend à devenir constante à fort Pe_f (Fig. 4.21B). Ezhilan et Saintillan [18] observent que cette concentration c^p tend vers 1 à $Pe_f = 100$ alors que d'après nos expériences $c^p \approx 1.5$ à $Pe_f = 120$. La diminution de c^p est plus prononcée pour les faibles confinements ($Pe_s = 0.39$). En effet, nous avons vu précédemment en l'absence d'écoulement que pour des $Pe_s^* > 1$, l'épaisseur de la couche limite de concentration est de taille importante voire du même ordre de grandeur que l'épaisseur du capillaire. De ce fait, l'influence du Pe_f sur la gradient de

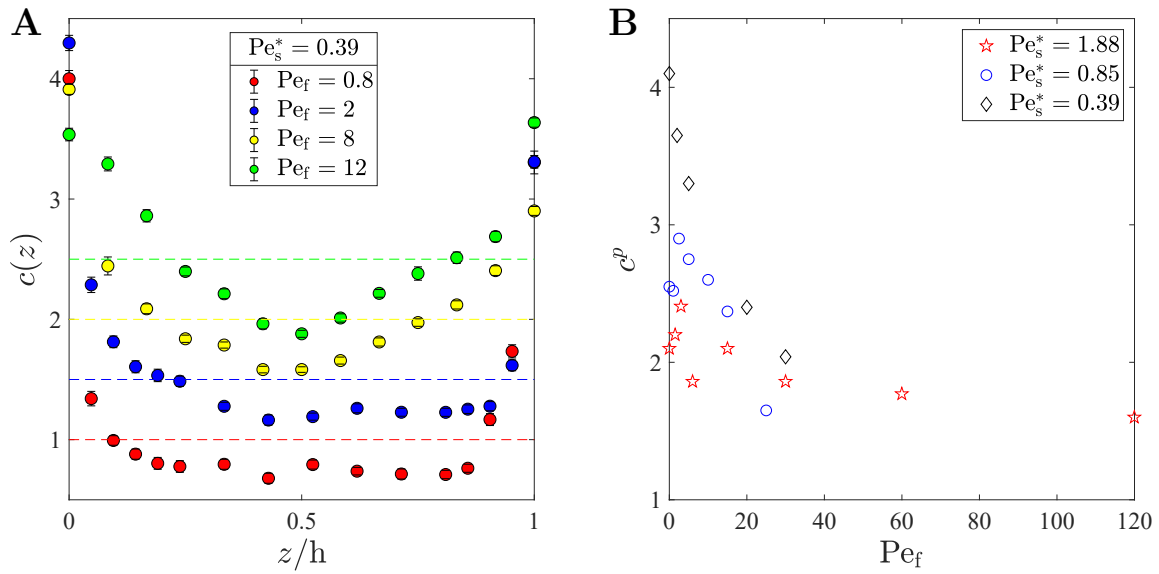


Figure 4.21: **A** Évolution du profil de concentration bactérienne à $Pe_s^* = 0.39$ pour différents Pe_f . **B** Concentration pariétale en fonction du Pe_f pour les trois valeurs de Pe_s^* .

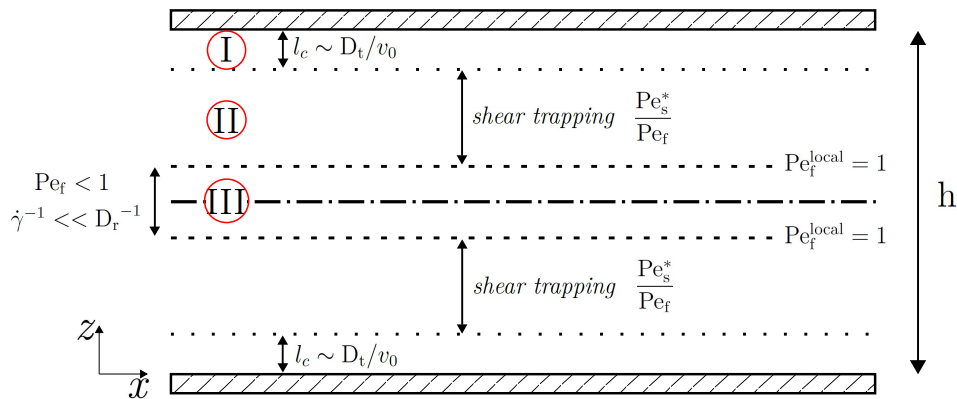


Figure 4.22: Schéma récapitulatif de la distribution bactérienne sous écoulement.

concentration pariétal sera moindre pour la plus grande valeur de $Pe_s^* = 1.88$. Cet effet est nettement visible sur le graphe **B** de la figure 4.23 où nous traçons l'évolution de $\delta/\delta_{Pe_f=0}$ en fonction du Pe_f (pour rappel, δ est définie comme $c(1 - \delta) = 1$). Nous observons qu'à la plus grande valeur de Pe_s^* l'évolution de δ est minimale et tend rapidement vers une valeur constante $\delta \approx 1.25\delta_{Pe_f=0}$. En revanche, pour les deux autres valeurs, l'épaisseur de la couche limite croît avec le Pe_f . Les épaisseurs dimensionnées de ces couches limites de concentration varient alors entre ~ 7 et $25 \mu\text{m}$.

Cette zone I définie par l_c est indépendante du Pe_f : $l_c/h \sim \Lambda Pe_s^*$. La diminution à la paroi de cette zone est, en fait, provoquée par l'alignement progressif des bactéries de la

zone II qui, lui, est dépendant du cisaillement et donc du Pe_f . À cet endroit, l'orientation bactérienne relève de la compétition entre le cisaillement local et la diffusion rotationnelle de la bactérie : plus le Pe_f augmente, plus l'alignement dans le sens de l'écoulement est important et se propage vers le centre du capillaire. Les bactéries ne parviennent plus à franchir les lignes de courant pour se transporter vers la paroi et se retrouvent piégées dans les zones à forts gradients de vitesse : phénomène de *high shear trapping* [35]. Cela mène alors à des concentrations plus importantes dans les parties centrales du capillaire (zone II) qu'en l'absence d'écoulement. On peut définir le *shear trapping* au travers du rapport Pe_s^*/Pe_f . Il peut être interprété comme le rapport entre le temps caractéristique d'alignement de la particule par l'écoulement $\dot{\gamma}^{-1}$ et le temps caractéristique nécessaire pour traverser le capillaire sur sa hauteur h/v_0 . Si ce rapport est petit devant l'unité, alors la bactérie s'aligne avec l'écoulement bien plus rapidement que le temps nécessaire à le traverser, il y a alors *shear trapping*. S'il est grand devant 1, alors la bactérie traverse le canal bien plus rapidement qu'elle ne s'aligne avec l'écoulement, le *shear trapping* n'a alors pas lieu.

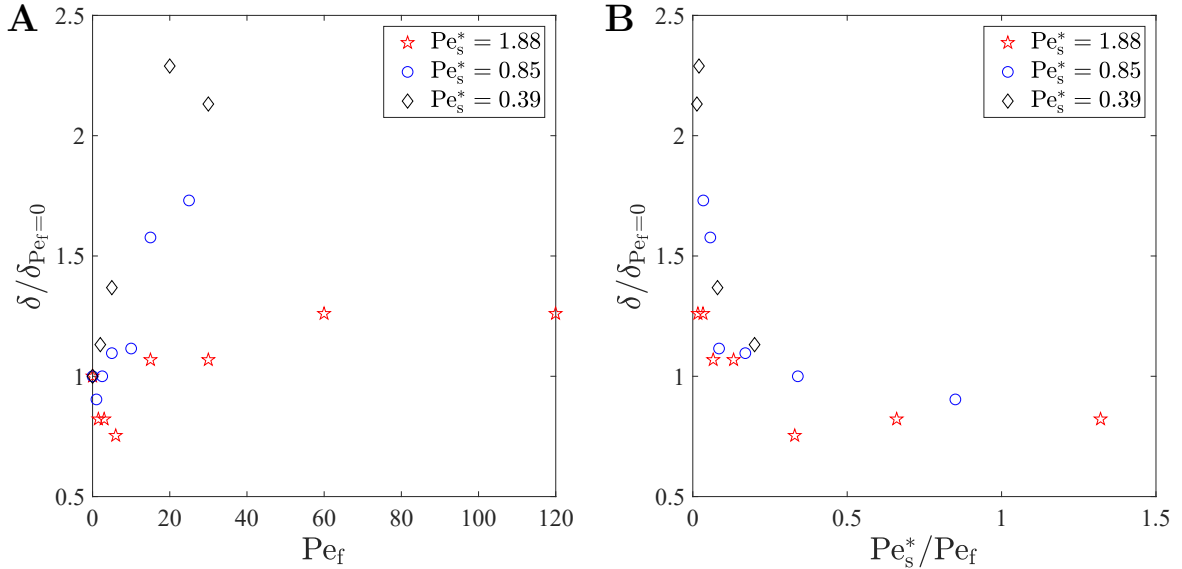


Figure 4.23: **A** Épaisseur de la couche limite normalisée à différents Pe_s^* en fonction de Pe_f . **B** Épaisseur de la couche limite normalisée à différents Pe_s^* en fonction de Pe_s^*/Pe_f .

En se rapprochant encore du centre du capillaire les taux de cisaillement locaux diminuent jusqu'à atteindre une valeur nulle en $z = h/2$. Une nouvelle zone (III) peut alors être définie; zone délimitée par des Péclets hydrodynamiques locaux égaux à 1 ($Pe_f^{local} = 1$, Fig. 4.22). Ici, l'orientation bactérienne domine devant la réorientation par l'écoulement car $Pe_f < 1$. Les bactéries peuvent alors traverser les lignes de courant dans cette région pour éventuellement atteindre la région de *high shear trapping* de la zone II. Rusconi met expérimentalement en évidence, pour la première fois, une déplétion en

bactéries dans cette zone [35], déplétion retrouvée dans les modèles numériques [18, 71] dont le modèle cinétique d'Ezhilan et Saintillan. Nous ne retrouvons pas ce phénomène dans nos résultats et son absence peut se retrouver au travers de deux explications : (i) nos valeurs de Pe_s sont encore trop importantes pour que la taille de cette zone soit plus nettement observable, (ii) lors du passage du volume de suspension dans le champ d'acquisition, les bactéries actives ont déjà quitté cette zone III et seules les bactéries inactives y sont advectées (l'objectif de microscope est situé à ≈ 5 cm de l'entrée du capillaire).

Finalement, sur la figure 4.23B sont tracées $\delta/\delta_{Pe_f=0}$ en fonction du Pe_s^*/Pe_f pour les trois valeurs de confinement étudiées. Ce graphe permet de mettre en évidence l'influence du phénomène de *high shear trapping*. En effet, plus le rapport Pe_s^*/Pe_f diminue et tend vers 0, plus l'épaisseur de la couche limite de concentration augmente (quasiment exponentiellement avec le Pe_s^*/Pe_f diminuant) et donc l'épaisseur de cette zone de *high shear trapping* (zone II) augmente elle aussi. L'épaississement de la zone de piégeage s'effectue au détriment de la zone III qui va alors s'amincir [18, 35]. Pour des $\delta/\delta_{Pe_f=0}$ de l'ordre de l'unité, l'épaisseur de la couche limite est égale à celle en l'absence d'écoulement.

En résumé

Nous nous sommes penchés au travers de ce chapitre sur l'effet de l'écoulement et du confinement sur le comportement et la dynamique d'*Escherichia coli*.

Dans un premier temps, nous avons abordé une vision plutôt qualitative de cette dynamique en visualisant quelques trajectoires typiques que l'on retrouve à la paroi et loin de celles-ci « en volume ». À proximité d'une paroi, la bactérie interagit avec celle-ci, ce qui modifie la morphologie des trajectoires et donc altère sa dynamique de run & tumble. Toujours en proche paroi, ces trajectoires sont modifiées par la présence de l'écoulement et ceci d'autant plus que l'écoulement est intense. Dans le volume, cette dynamique de run & tumble est brisée à $Pe_f > 1$ pour lequel les trajectoires vont tendre à devenir rectilignes.

Nous avons ensuite analysé quantitativement les grandeurs caractérisant ces trajectoires, donc la dynamique bactérienne, à savoir les composantes de la vitesse bactérienne orthogonale et longitudinale à l'écoulement. Nous n'avons observé aucun effet direct du confinement sur ces composantes mais l'écoulement et son intensité jouent un rôle important sur la dynamique de nage et le transport bactérien. L'effet de rhéotaxie entraîne *E. coli* à nager dans la direction du vecteur vorticité en paroi mais aussi en volume. L'amplitude de ce phénomène évolue linéairement sur la plage de cisaillements locaux étudiés au long de ces travaux de thèse. En paroi, la rhéotaxie favorise la nage à contre-courant. La nage à contre-courant est également possible en volume jusqu'à des vitesses moyenne d'écoulement de l'ordre de la vitesse de nage bactérienne v_0 .

Finalement, nous nous sommes intéressés à la distribution des bactéries pour différentes valeurs de confinement en l'absence et avec un écoulement. À l'équilibre, les bactéries s'accumulent préférentiellement aux surfaces où les concentrations sont ~ 3 à 4 fois plus importantes qu'en volume. Nous avons défini une épaisseur de couche limite représentative de cette sur-concentration dont l'épaisseur varie entre 7 et $10 \mu\text{m}$ soit quelques tailles de bactéries. Cette épaisseur tend à devenir constante avec des valeurs de confinement grandissantes. En écoulement, cette couche limite s'épaissit avec l'augmentation du Péclet hydrodynamique et la diminution du Péclet de confinement. Nous avons également mis en évidence l'importance du phénomène de *high shear trapping* qui joue alors un rôle essentiel sur la distribution bactérienne dans l'écoulement.

CONCLUSION

Au début de ce manuscrit, nous avons fait part du besoin de compréhension du transport de ces microorganismes auto-propulsés, de leur dynamique sous un écoulement cisailé et de l'influence du confinement sur le comportement de la suspension. C'est dans cette problématique que viennent s'inscrire ces travaux de thèse qui visent alors à approfondir et enrichir les connaissances sur le transport de ces suspensions *actives*. Pour cela, nous nous sommes intéressés à un modèle biologique bien connu : la bactérie *Escherichia coli*.

Dans un premier temps, nous avons développé un banc expérimental permettant la visualisation de ces microorganismes et leur étude en écoulement de Poiseuille. Afin d'explorer une gamme de cisaillement la plus large possible tout en étant capable d'imposer à la suspension des vitesses de l'ordre de la vitesse de nage bactérienne, nous avons opté pour la génération d'un écoulement gravitaire au sein de la cellule microfluidique. La cellule microfluidique, de type Hele-Shaw, possède de forts rapports d'aspect et réduit l'étude à un écoulement de Poiseuille unidirectionnel. Le paramètre de confinement est contrôlé par l'utilisation de différents capillaires dont les hauteurs varient. Différents essais ont été menés sur de l'eau et nous permettent de confirmer la stabilité et la reproductibilité de ce type d'écoulement.

Une étape clé de ces travaux a été l'élaboration d'un protocole de culture pour permettre la motilité d'*E. coli* et sa reproductibilité. De plus, les capillaires étant imperméables à l'oxygène, il s'est avéré essentiel de concevoir un milieu spécifique neutre dans lequel l'activité bactérienne peut être préservée en condition anaérobie.

Une suspension de bactéries est un système complexe. Chaque micro-nageur est unique et les propriétés de nage varient d'un individu à l'autre. Afin de caractériser ce système actif, nous avons développé des outils qui nous permettent de quantifier la dynamique de ce système biologique aussi bien à l'échelle de la bactérie qu'à l'échelle de la suspension. Deux techniques de microscopie optique ont été mises au point, la vélocimétrie par image de particules (PTV) et la microscopie dynamique différentielle (DDM). Ces deux méthodes sont complémentaires et apportent des informations quantitatives quant l'acti-

tivité bactérienne et s'accordent sur la mesure de la vitesse de nage. Le caractère ballistique aux temps courts et diffusif aux temps longs de la nage sont également mis en exergue par ces deux méthodes. Chacune d'elles possède ses avantages ainsi que ses limites. En effet, le suivi de particules et donc ici de bactéries peut être utilisé à la fois pour un fluide au repos et pour un fluide en écoulement ; dernier point qui ne peut être assuré par la DDM. Cette dernière a été utilisée pour quantifier l'activité bactérienne en amont et en aval des expériences de microfluidique pour s'assurer que l'activité bactérienne demeure constante sur le temps de l'expérience.

Le dernier chapitre de la thèse présente l'influence de l'intensité de l'écoulement et du confinement sur les propriétés de transport des bactéries. Ces deux variables sont traduites au travers de deux nombres adimensionnés qui sont, respectivement, le Péclet hydrodynamique Pe_f et le Péclet de confinement Pe_s .

Lorsque la suspension est à l'équilibre, une fraction de bactéries *E. coli* tend à nager en décrivant des trajectoires circulaires à la paroi en raison de ses interactions avec celle-ci. Sous écoulement, nous retrouvons les quatre régimes exposés dans la littérature dont les transitions sont dépendantes du Péclet hydrodynamique. À chacun de ces régimes se distinguent certaines morphologies de trajectoires : c'est la rhéotaxie. Cette rhéotaxie également responsable d'une migration bactérie à contre-courant.

Loin des parois, où les interactions nageur/surface sont négligeables, la dynamique de nage de run & tumble s'atténue dès lors que $Pe_f \gtrsim 1$. Nous observons la rhéotaxie de volume ; les trajectoires dérivent dans la direction du vecteur vorticité et l'intensité de cette dérive évolue linéairement avec les taux de cisaillements locaux de l'écoulement.

Un dernier point a également été soulevé et concerne la distribution en bactéries au sein de la cellule de Hele-Shaw. Notre étude montre une forte dépendance du confinement sur le développement des profils de concentration, de l'accumulation pariétale ainsi que de l'épaisseur de la couche limite. Cette épaisseur de couche limite tend à s'homogénéiser sur la hauteur du capillaire pour $Pe_s \gg 1$; valeurs de confinement pour lesquelles les couches limites viennent à s'interpénétrer. On suppose alors d'importantes modifications sur les propriétés de transport dans le plan orthogonal aux parois.

L'écoulement impacte fortement sur la distribution bactérienne au sein du canal et mène à une diminution de l'accumulation en proche paroi à mesure que le Pe_f augmente et, ce, quelque soit le Pe_s . Cet effet peut être interprété comme l'alignement des bactéries dans le sens de l'écoulement qui se propage vers le centre du capillaire lorsque Pe_f augmente : les bactéries se retrouvent piégées dans les régions à forts cisaillements.

Perspectives

a) Vers un suivi Lagrangien en 3D

Nous sommes naturellement limités dans la description de la nage bactérienne par l'impossibilité d'accéder à la troisième composante de la vitesse à savoir celle orthogonale aux parois en raison des limites du dispositif expérimental. Une caractérisation complète en 3 dimensions de la dynamique de nage apporterait sans aucun doute de précieuses informations afin de comprendre plus en détail comment se transportent ces bactéries en volume. Expérimentalement, seuls les travaux de Rusconi [35] font état de ce transport dans le plan de cisaillement. Plus récemment, une étude numérique a fait état (en écoulement de Poiseuille) d'un possible mouvement périodique de va-et-vient entre les deux parois [73]. Des méthodes de tracking 3D [76] ont vues le jour ces dernières années et pourraient éventuellement répondre à cette demande. Un inconvénient de cette méthode est l'impossibilité de suivre un ensemble de bactéries. Le tracking 3D permet uniquement un suivi individuel et peut s'avérer long et fastidieux pour accumuler suffisamment de statistiques. L'holographie serait alors peut-être une méthode envisageable pour caractériser la nage en 3D d'un ensemble de bactéries.

Par un montage in-line, nous capturons l'hologramme (figure d'interférence correspondant à une image 2D) grâce à un capteur CCD d'un ensemble de bactéries présentes dans le volume observé. La reconstruction de l'hologramme en amplitude couplé à une détection permet de localiser les bactéries puis d'en reconstruire les trajectoires 3D des nageurs présents dans le volume observé (Fig. 4.24). Cette méthode d'holographie numérique est en cours de développement au sein du laboratoire LEMTA.

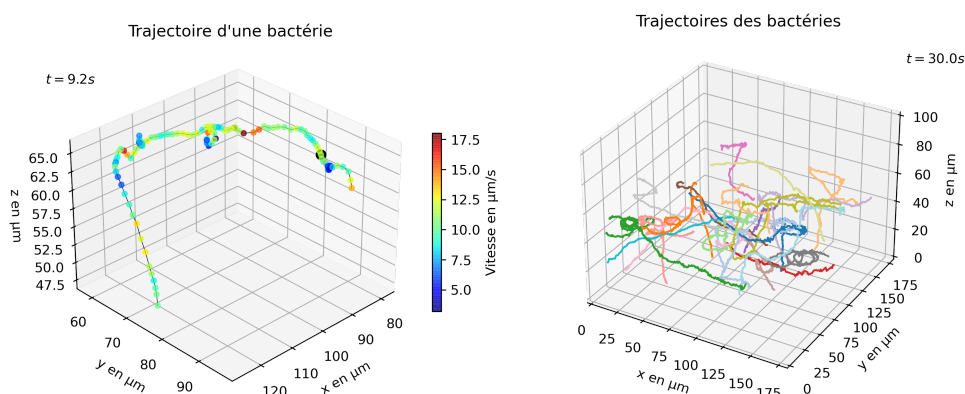


Figure 4.24: Trajectoires bactériennes en 3D reconstruite par holographie en l'absence d'écoulement. Algorithme développé au LEMTA par Simon Becker.

b) Une caractérisation rhéologique locale pour mieux comprendre le phénomène de superfluidité

À la transition entre le régime dilué et semi-dilué, une suspension d'*E. coli* soumises à de très faibles taux de cisaillement ($\dot{\gamma} \sim 10^{-2} \text{ s}^{-1}$) exhibe un phénomène de « superfluidité » où la viscosité relative est inférieure à 0 [53]. Cette superfluidité a été observée en cellule de Couette ne permettant pas la visualisation des microorganismes. Pour mieux comprendre ce phénomène il est d'un intérêt de comprendre comment s'organise spatialement la suspension à ces faibles valeurs de cisaillement. Des travaux expérimentaux ont été menés en cellules microfluidiques mais les systèmes utilisés pour générer l'écoulement ne permettent pas d'atteindre des gammes de cisaillement suffisamment faibles [52]. Plus récemment, sur un rhéomètre équipé d'une géométrie cône-plan, Martinez *et. al* parviennent à imposer des taux de cisaillement suffisamment faibles tout en ayant la possibilité d'observer ces micro-nageurs et en mesurer leurs vitesses. En revanche, le couple résultant perçu par le rhéomètre s'est avéré trop faible pour en déterminer une viscosité [54]. Le dispositif expérimental mis en place au cours de ces travaux de thèse suffirait alors à répondre à ces difficultés que l'on peut rencontrer à ces limites basses. En effet, nous avons la possibilité d'atteindre des gammes de cisaillements très faibles $\dot{\gamma} \sim 10^{-2} - 10^{-1} \text{ s}^{-1}$ et de visualiser par la même occasion la dynamique bactérienne. De plus, nous connaissons la répartition de contraintes en tout point de l'écoulement *via* la connaissance du ΔP aux bornes de la cellule microfluidique. Cela nous permettrait alors de dresser un portrait de la rhéologie locale. Le seul point négatif à ce système est que la mesure de viscosité doit se faire de manière découplée avec l'observation des bactéries : la viscosité est déterminée par la mesure des profils de vitesse de la suspension qui nécessitent l'emploi de traceurs et d'une source laser (résultats préliminaires de μ -PTV en Fig. 4.25).

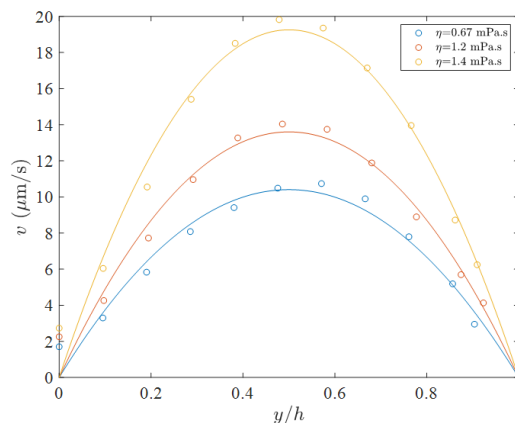


Figure 4.25: Profils de vitesses d'une suspension d'*E. coli* $\phi = 0.4 \%$ par μ -PTV pour des ΔP imposés de 2 (bleu), 5 (orange) et 10 Pa (jaune) en canal $h = 50 \mu\text{m}$. Les points représentent les mesures expérimentales et en trait continu l'ajustement de Poiseuille avec η , la viscosité dynamique laissée en paramètre libre.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Howard C. BERG. *E. coli in motion*. Springer Science & Business Media, 2008.
- [2] Daniel PRIEUR, Claire GESLIN et Christopher PAYAN. *Mini manuel de Microbiologie*. 2ème. Mini Manuel. Dunod, 2015.
- [3] M. D. MANSON. “Dynamic motors for bacterial flagella”. en. In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107.25 (juin 2010), p. 11151-11152.
- [4] David F BLAIR. “Flagellar movement driven by proton translocation”. en. In : *FEBS Letters*. Protonmotive Mechanisms of Energy Transducing Enzymes 545.1 (juin 2003), p. 86-95.
- [5] M. RUMBO, C. CARNOY et J. C. SIRARD. “Chapter 7 - Flagellins as Adjuvants of Vaccines”. In : *Immunopotentiators in Modern Vaccines (Second Edition)*. Sous la dir. de Virgil E. J. C. SCHIJNS et Derek T. O’HAGAN. Second Edition. Academic Press, 2017, p. 129-147.
- [6] Jens ELGETI, Roland G WINKLER et Gerhard GOMPPER. “Physics of Microswimmers – Single Particle Motion and Collective Behavior”. en. In : (), p. 55.
- [7] E.M. PURCELL. “Life at low Reynolds number”. In : *American Journal of Physics* (1977).
- [8] Eric LAUGA et Thomas R. POWERS. “The hydrodynamics of swimming microorganisms”. en. In : *Reports on Progress in Physics* 72.9 (sept. 2009). arXiv : 0812.2887, p. 096601.
- [9] Eric CLEMENT et al. “Bacterial suspensions under flow”. en. In : *The European Physical Journal Special Topics* 225.11-12 (nov. 2016), p. 2389-2406.
- [10] Geoffrey Ingram TAYLOR. “The action of waving cylindrical tails in propelling microscopic organisms”. In : *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences* (1952), p. 225-239.

- [11] K. DRESCHER et al. “Fluid dynamics and noise in bacterial cell-cell and cell-surface scattering”. en. In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108.27 (juil. 2011), p. 10940-10945.
- [12] Nobuhiko WATARI et Ronald G. LARSON. “The Hydrodynamics of a Run-and-Tumble Bacterium Propelled by Polymorphic Helical Flagella”. en. In : *Biophysical Journal* 98.1 (jan. 2010), p. 12-17.
- [13] Peter S. LOVELY et F.W. DAHLQUIST. “Statistical measures of bacterial motility and chemotaxis”. en. In : *Journal of Theoretical Biology* 50.2 (avr. 1975), p. 477-496.
- [14] H. C. BERG et D.A. BROWN. “Chemotaxis in Escherichia coli Analyzed by Three-Dimensional Tracking”. In : 19 (1974), p. 55-78.
- [15] Jonathan SARAGOSTI, Pascal SILBERZAN et Axel BUGUIN. “Modeling E. coli Tumbles by Rotational Diffusion. Implications for Chemotaxis”. en. In : *PLOS ONE* 7.4 (avr. 2012). Publisher : Public Library of Science, e35412.
- [16] G. JEFFERY. “The motion of ellipsoidal particles immersed in a viscous fluid”. In : *Royal Society* 102.715 (1922), p. 161-179.
- [17] F. BRETHERTON. “The motion of rigid particles in a shear flow at low Reynolds number”. In : *Journal of Fluid Mechanics* 14.2 (1962), p. 284-304.
- [18] Barath EZHILAN et David SAINTILLAN. “Transport of a dilute active suspension in pressure-driven channel flow”. en. In : *arXiv :1504.02792 [cond-mat, physics :physics]* (avr. 2015). arXiv : 1504.02792.
- [19] D. SAINTILLAN. “The Dilute Rheology of Swimming Suspensions : A Simple Kinetic Model”. en. In : *Experimental Mechanics* 50.9 (nov. 2010), p. 1275-1281.
- [20] Roberto ALONSO-MATILLA, Barath EZHILAN et David SAINTILLAN. “Microfluidic rheology of active particle suspensions : Kinetic theory”. en. In : *Biomicrofluidics* 10.4 (juil. 2016), p. 043505.
- [21] J. SARAGOSTI et al. “Directional persistence of chemotactic bacteria in a traveling concentration wave”. en. In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108.39 (sept. 2011), p. 16235-16240.
- [22] Xabel GARCIA, Salima RAFAÏ et Philippe PEYLA. “Light control of the flow of phototactic microswimmer suspensions”. en. In : *Physical Review Letters* 110.13 (mar. 2013). arXiv : 1301.2431, p. 138106.
- [23] R.B. FRANKEL et al. “Magneto-aerotaxis in marine coccoid bacteria”. en. In : *Biophysical Journal* 73.2 (août 1997), p. 994-1000.

-
- [24] W. M. DURHAM, J. O. KESSLER et R. STOCKER. “Disruption of Vertical Motility by Shear Triggers Formation of Thin Phytoplankton Layers”. en. In : *Science* 323.5917 (fév. 2009), p. 1067-1070.
- [25] F. BRETHERTON et N.M.V ROTHSCHILD. “Rheotaxis of spermatozoa”. In : *Proceedings of The Royal Society B* 153 (1961), p. 490-502.
- [26] Vasily KANTSLER et al. “Rheotaxis facilitates upstream navigation of mammalian sperm cells”. en. In : *eLife* 3 (mai 2014), e02403.
- [27] C. Marcos HENRY, Thomas R. POWERS et Roman STOCKER. “Bacterial rheotaxis”. In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109.13 4780-4785 (2012).
- [28] Eric LAUGA et al. “Swimming in Circles : Motion of Bacteria near Solid Boundaries”. en. In : *Biophysical Journal* 90.2 (jan. 2006), p. 400-412.
- [29] Margot A.-S. VIGEANT et al. “Reversible and Irreversible Adhesion of Motile Escherichia coli Cells Analyzed by Total Internal Reflection Aqueous Fluorescence Microscopy”. en. In : *Applied and Environmental Microbiology* 68.6 (juin 2002), p. 2794-2801.
- [30] Jane HILL et al. “Hydrodynamic Surface Interactions Enable Escherichia Coli to Seek Efficient Routes to Swim Upstream”. In : *Physical Review Letters* 98.6 (fév. 2007), p. 068101.
- [31] Arnold J. T. M. MATHIJSEN et al. “Oscillatory surface rheotaxis of swimming E. coli bacteria”. en. In : *Nature Communications* 10.1 (déc. 2019), p. 3434.
- [32] H.C. FU, Thomas R. POWERS et Roman STOCKER. “Separation of microscale chiral objects by shear flow”. In : *Physical review letters* 102.15 (2009).
- [33] K. C. MARSHALL, R. STOUT et R MITCHELL. “Mechanism of the Initial Events in the Sorption of Marine Bacteria to Surfaces”. en. In : *Journal of General Microbiology* 68.3 (nov. 1971), p. 337-348.
- [34] Allison P. BERKE et al. “Hydrodynamic attraction of swimming microorganisms by surfaces”. en. In : *Physical Review Letters* 101.3 (juil. 2008). arXiv : 0806.2898, p. 038102.
- [35] Roberto RUSCONI, Jeffrey S. GUASTO et Roman STOCKER. “Bacterial transport suppressed by fluid shear”. en. In : *Nature Physics* 10.3 (mar. 2014), p. 212-217.
- [36] Mehdi MOLAEI et al. “Failed Escape : Solid Surfaces Prevent Tumbling of Escherichia coli.” In : *PHYSICAL REVIEW LETTERS* 113.068103 (2014).
- [37] Gastón MIÑO et al. “Enhanced Diffusion due to Active Swimmers at a Solid Surface”. en. In : *Physical Review Letters* 106.4 (jan. 2011), p. 048102.
-

- [38] G. L. MIÑO et al. “Induced Diffusion of Tracers in a Bacterial Suspension : Theory and Experiments”. en. In : *Journal of Fluid Mechanics* 729 (août 2013). arXiv : 1210.7704, p. 423-444.
- [39] T. ISHIKAWA et al. “Hydrodynamic Interactions between Two Swimming Bacteria”. en. In : *Biophysical Journal* 93.6 (sept. 2007), p. 2217-2225.
- [40] Jörn DUNKEL et al. “Fluid Dynamics of Bacterial Turbulence”. en. In : *Physical Review Letters* 110.22 (mai 2013), p. 228102.
- [41] Hugo WIOLAND et al. “Confinement Stabilizes a Bacterial Suspension into a Spiral Vortex”. en. In : *Physical Review Letters* 110.26 (juin 2013), p. 268102.
- [42] J GACHELIN et al. “Collective motion in an active suspension of *Escherichia coli* bacteria”. en. In : *New Journal of Physics* 16.2 (fév. 2014), p. 025003.
- [43] David SAINTILLAN et Michael J. SHELLEY. “Emergence of coherent structures and large-scale flows in motile suspensions”. en. In : *Journal of The Royal Society Interface* 9.68 (mar. 2012), p. 571-585.
- [44] Luis Cisneros SALERNO. “EMERGENCE OF COLLECTIVE BEHAVIOR IN CONCENTRATED SUSPENSIONS OF SWIMMING BACTERIA AND ASSOCIATED PHENOMENA”. en. In : (), p. 166.
- [45] Andrey SOKOLOV et al. “Concentration Dependence of the Collective Dynamics of Swimming Bacteria”. en. In : *PHYSICAL REVIEW LETTERS* (2007), p. 4.
- [46] Luis Cisneros SALERNO. “EMERGENCE OF COLLECTIVE BEHAVIOR IN CONCENTRATED SUSPENSIONS OF SWIMMING BACTERIA AND ASSOCIATED PHENOMENA”. en. In : (), p. 166.
- [47] I. TUVAL et al. “Bacterial swimming and oxygen transport near contact lines”. en. In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102.7 (fév. 2005), p. 2277-2282.
- [48] H WIOLAND, E LUSHI et R E GOLDSTEIN. “Directed collective motion of bacteria under channel confinement”. en. In : *New Journal of Physics* 18.7 (juil. 2016), p. 075002.
- [49] Enkeleida LUSHI, Hugo WIOLAND et Raymond E. GOLDSTEIN. “Fluid flows created by swimming bacteria drive self-organization in confined suspensions”. en. In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111.27 (juil. 2014), p. 9733-9738.
- [50] Maxime THEILLARD, Roberto ALONSO-MATILLA et David SAINTILLAN. “Geometric control of active collective motion”. en. In : *arXiv :1608.06898 [cond-mat, physics :physics]* (août 2016). arXiv : 1608.06898.

-
- [51] Andrey SOKOLOV et Igor S ARANSON. “Reduction of Viscosity in Suspension of Swimming Bacteria”. en. In : *PHYSICAL REVIEW LETTERS* (2009), p. 4.
- [52] Jérémie GACHELIN et al. “Non-Newtonian viscosity of E-coli suspensions”. en. In : *Physical Review Letters* 110.26 (juin 2013). arXiv : 1210.2102, p. 268103.
- [53] Héctor Matías LÓPEZ et al. “Turning bacteria suspensions into a ”superfluid””. en. In : *Physical Review Letters* 115.2 (juil. 2015). arXiv : 1503.05511, p. 028301.
- [54] Vincent A. MARTINEZ et al. “A combined rheometry and imaging study of viscosity reduction in bacterial suspensions”. en. In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117.5 (fév. 2020), p. 2326-2331.
- [55] Yashodhan HATWALNE et al. “Rheology of Active-Particle Suspensions”. en. In : *arXiv :cond-mat/0308529* (août 2003). arXiv : cond-mat/0308529.
- [56] Henrik BRUUS. *Theoretical microfluidics*. en. Oxford master series in physics 18. OCLC : ocn156817008. Oxford ; New York : Oxford University Press, 2008.
- [57] John C. CROCKER et David G. GRIER. “Methods of Digital Video Microscopy for Colloidal Studies”. en. In : *Journal of Colloid and Interface Science* 179.1 (avr. 1996), p. 298-310.
- [58] Jeremie GACHELIN. “Rhéologie et comportement de suspensions de Escherichia Coli en milieux confinés”. In : (), p. 169.
- [59] Hector Matias LOPEZ. “Influence of the coupling between flow and bacteria on the fluid rheology and on bacterial transport”. en. In : (), p. 114.
- [60] C D AMSLER, M CHO et P MATSUMURA. “Multiple factors underlying the maximum motility of Escherichia coli as cultures enter post-exponential growth.” en. In : *Journal of Bacteriology* 175.19 (1993), p. 6238-6244.
- [61] J. ADLER et B. TEMPLETON. “The Effect of Environmental Conditions on the Motility of Escherichia coli”. en. In : *Journal of General Microbiology* 46.2 (fév. 1967), p. 175-184.
- [62] Jean-Baptiste MASSON et al. “Noninvasive inference of the molecular chemotactic response using bacterial trajectories”. en. In : *SYSTEMS BIOLOGY* (), p. 6.
- [63] Fabio GIAVAZZI et al. “Scattering information obtained by optical microscopy : Differential dynamic microscopy and beyond”. en. In : (), p. 15.
- [64] Laurence G. WILSON et al. “Differential Dynamic Microscopy of Bacterial Motility”. en. In : *arXiv :1004.4764 [cond-mat, physics :physics, q-bio]* (oct. 2010). arXiv : 1004.4764.
- [65] G.B. STOCK et T.C. JENKINS. “The measurement of bacterial translation by photon correlation spectroscopy”. en. In : *Biophysical Journal* 22.1 (avr. 1978), p. 79-96.
-

- [66] Vincent A. MARTINEZ et al. “Differential Dynamic Microscopy : A High-Throughput Method for Characterizing the Motility of Microorganisms”. en. In : ***Biophysical Journal*** 103.8 (oct. 2012), p. 1637-1647.
- [67] Roberto CERBINO et al. “Dark Field Differential Dynamic Microscopy enables the accurate characterization of the roto-translational dynamics of bacteria and colloidal clusters”. en. In : ***Journal of Physics : Condensed Matter*** 30.2 (jan. 2018). arXiv : 1710.05669, p. 025901.
- [68] Willow R. DiLUZIO et al. “Escherichia coli swim on the right-hand side”. en. In : ***Nature*** 435.7046 (juin 2005), p. 1271-1274.
- [69] P. D. FRYMIER et al. “Three-dimensional tracking of motile bacteria near a solid planar surface.” en. In : ***Proceedings of the National Academy of Sciences*** 92.13 (juin 1995), p. 6195-6199.
- [70] Guangyin JING et al. “Chirality-induced bacterial rheotaxis in bulk shear flows”. en. In : ***Science Advances*** 6.28 (juil. 2020). arXiv : 2003.04012, eabb2012.
- [71] LaxminarsimhaRao V., Sankalp NAMBIAR et Ganesh SUBRAMANIAN. “Shear induced migration of microswimmers in pressure-driven channel flow”. en. In : ***arXiv :1906.00599 [cond-mat, physics :physics]*** (juin 2019). arXiv : 1906.00599.
- [72] Sandeep CHILUKURI, Cynthia H. COLLINS et Patrick T. UNDERHILL. “Impact of external flow on the dynamics of swimming microorganisms near surfaces”. In : ***Journal of Physics : Condensed Matter*** 115101.26 (2014).
- [73] Zhiwei PENG et John F. BRADY. “Upstream swimming and Taylor dispersion of active Brownian particles”. en. In : ***Physical Review Fluids*** 5.7 (juil. 2020), p. 073102.
- [74] L. ROTHSCHILD. “Non-random Distribution of Bull Spermatozoa in a Drop of Sperm Suspension”. In : ***Nature*** 200, 381 (1963).
- [75] Sandeep CHILUKURI, Cynthia H. COLLINS et Patrick T. UNDERHILL. “Dispersion of flagellated swimming microorganisms in planar Poiseuille flow”. en. In : ***Physics of Fluids*** 27.3 (mar. 2015), p. 031902.
- [76] Nuris Figueroa MORALES. “Active bacterial suspensions : from microhydrodynamics to transport properties in microfluidic channels”. en. In : (), p. 130.

Résumé

Les propriétés de transport d'une suspension de bactéries motiles sous écoulement présentent un enjeu scientifique fondamental dans la compréhension de la colonisation de nouveaux milieux par ces microorganismes. De nombreuses études font part du comportement singulier de ces suspensions actives en écoulement. L'accumulation aux parois, les comportements collectifs, la modification du comportement rhéologique sont d'autant de phénomènes qui révèlent la richesse de ces systèmes. Malgré tout, de nombreuses questions subsistent.

Dans ce travail de thèse, nous présentons l'effet d'un écoulement sur le transport d'une suspension de bactéries *Escherichia coli* motiles en milieu confiné. Des expériences ont été menées en cellule de Hele-Shaw pour comprendre l'influence du Péclet hydrodynamique et du Péclet de confinement sur le transport de la suspension en écoulement de Poiseuille. Les propriétés de nage d'*E. coli* ont été caractérisées dans un fluide à l'équilibre par deux techniques optiques de mesures non-intrusives : le tracking et la microscopie dynamique différentielle. En écoulement, ces propriétés se voient être fortement modifiées et dépendantes du cisaillement. L'effet de rhéotaxie a été mis en évidence et favorise la migration bactérienne à contre-courant aux parois ; migration retrouvée également loin des surfaces. Nous montrons également que le confinement de la suspension influe sur l'épaisseur de la couche limite qui, couplé à l'intensité de l'écoulement, modifient la distribution en bactéries dans la cellule de Hele-Shaw.

Mots-clés : Suspensions actives, transport, confinement, microfluidique

Abstract

The transport properties of a suspension of motile bacteria under flow are a fundamental scientific issue in order to understand the colonisation of new environments by microorganisms. Numerous studies report the singular behaviour of these active suspensions in flow. Accumulation at the walls, collective motion, modification of the rheological behaviour are all phenomena that reveal the richness of these systems. Nevertheless, many questions remain.

In this thesis, we present the effect of a flow on the transport of a suspension of motile *Escherichia coli* bacteria in confined geometries. Experiments were carried out in a Hele-Shaw cell to understand the influence of flow and confinement Peclet numbers on the transport of the suspension in a Poiseuille flow. The swimming properties of *E. coli* were characterised in a fluid at rest using two non-intrusive optical techniques : tracking and differential dynamic microscopy. In flow, these properties are strongly dependent on shear. Rheotaxis effect has been pointed out at the vicinity of a surface and favours upstream swimming ; upstream migration also found in the bulk. We also show that confinement of the suspension influences the thickness of the boundary layer and, with the intensity of the flow, modify the distribution of bacteria through the Hele-Shaw cell.

Key words : Active suspensions, transport, confinement, microfluidics