Rhéologie et comportement de suspensions de Escherichia Coli en milieux confinés

Jeremie Gachelin

▶ **To cite this version:**

Jeremie Gachelin. Rhéologie et comportement de suspensions de Escherichia Coli en milieux confinés. Physique [physics]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2014. Français. NNT : 2014PA066406 . tel-01109446

HAL Id: tel-01109446

https://pastel.hal.science/tel-01109446

Submitted on 26 Jan 2015

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.

THÈSE DE DOCTORAT
DE L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

Spécialité : Physique

École doctorale : « Physique en Île de France »

réalisée

au Laboratoire de Physique et Mécanique des Milieux Hétérogènes

présentée par

Jérémie GACHELIN

pour obtenir le grade de :

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

Sujet de la thèse :

Rhéologie et comportement de suspensions de Escherichia Coli en milieux confinés

soutenue le 19 décembre 2014

devant le jury composé de :

M.	Thomas BICKEL	Rapporteur
Mme	Cécile COTTIN-BIZONNE	Rapporteur
M.	Axel BUGUIN	Examinateur
M.	Vincent MARTINEZ	Examinateur
Mme	Salima RAFAÏ	Examinateur
M.	Éric CLÉMENT	Directeur de thèse
Mme	Anke LINDNER	Co-Encadrante

Table des matières

Introduction **13**

1 État de l'art **19**
1.1 Escherichia Coli . . . 19
1.1.1 Un objet biologique . . . 19
1.1.2 Un objet physique . . . 23
1.2 Impact de son environnement . . . 29
1.2.1 Interaction nageur-surface . . . 29
1.2.2 Interactions avec des particules passives . . . 29
1.2.3 Interactions nageur-nageur . . . 30
1.2.4 Écoulements cisaillant . . . 32

2 Caractérisation de l'activité de E. Coli **41**
2.1 Protocole expérimental et méthodologie d'observation . . . 41
2.2 Dépendance temporelle des paramètres d'activité . . . 45
2.3 Conclusion . . . 48

3 Comportement collectif des Escherichia Coli **51**
3.1 Méthodes de mesure . . . 52
3.1.1 Dispositif expérimental . . . 52
3.1.2 Analyse des données . . . 54
3.2 Étude des corrélations spatiales des vitesses . . . 58
3.3 Étude statistique de la formation de clusters . . . 62
3.4 Conclusion . . . 68

4 Nage sous écoulement et capture aux parois **71**
4.1 Modèle théorique . . . 72
4.2 Mise en place de la simulation numérique . . . 75
4.2.1 Ingrédients du programme . . . 75
4.2.2 Trajectoire d'un nageur . . . 78
4.3 Capture par les parois . . . 80
4.4 Conclusion . . . 87

5 Effets du cisaillement sur les mouvements collectifs **89**
5.1 Méthodes de mesure . . . 89
5.2 Statistique des vitesses et trajectoires . . . 94
5.3 Corrélations de vitesse et mouvements collectifs . . . 104

5.4 Conclusion . . . 108

6 Rhéologie de suspensions de E. Coli **109**
6.1 Méthode . . . 110
6.2 Protocole expérimental . . . 113
6.3 Résultats . . . 118
6.3.1 Rhéométrie microfluidique . . . 118
6.3.2 Rhéométrie *Low Shear* . . . 123
6.4 Conclusion . . . 123

Conclusion **125**

Annexes **129**
Protocoles biologiques . . . 129
Protocoles microfluidiques . . . 134
Traitement d'images et tracking de particules . . . 139
Modèle de diffusion radiale (1D) sous écoulement cylindrique . . . 141
Publications . . . 145

Table des figures

1 Viscosité relative η_r donnée par les modèles d'Einstein, de Batchelor, ainsi que les fits empiriques de Krieger-Dougherty, de Leighton, et de Zarraga. 14

2 Diagramme de phase schématique du comportement de particules actives dans le cadre du modèle 2D de bâtonnets auto-propulsés (SPR 2D). 15

3 À gauche : mouvements collectifs d'une suspension de *Bacillus Subtilis* (champ de 300 µm). Au centre : Particules Janus sphériques sur un plan horizontal (champ de 35 µm). À droite : Bacillus subtilis dans un réservoir de 70 µm. 15

4 Viscosité effective de suspensions de *Clamydomonas Reinhardtii* en fonction de la fraction volumique et dans le cas d'algues vivantes (noires) ou mortes (rouges). . . 16

1.1 Schéma d'une E. Coli 19

1.2 (a) Image en microcopie electronique, (b) Diagramme d'un moteur flagellaire . . . 21

1.3 Schéma du comportement de nage d'une E. Coli. 21

1.4 Diagramme d'activation d'un moteur flagellaire. 22

1.5 À gauche : schéma d'un marche aléatoire de paramètres U_0 et $t_{run,i}$. À droite : réorientation d'un nageur selon un angle solide $\Omega(\varphi, \theta)$. 23

1.6 Distribution de l'angle en sortie de *tumble* basé sur les résultats de Berg. Cercles : résultats expérimentaux. Pointillés : courbe correspondant à une réorientation isotrope dans l'espace ($p(\theta) = {}^1/_2 \sin\theta$). 24

1.7 Diffusivité D, vitesse de nage V, temps caractéristique t_{run} et taux d'oxygène en fonction du temps pour une même expérience. À gauche : diffusion de E. Coli RP437 et taux d'oxygène présent en solution en fonction du temps. À droite : vitesse de nage, et temps caractéristique t_{run} en fonction du temps. 27

1.8 Mesure de la diffusion de E. Coli RP437 en fonction du temps et en présence de L-Serine (triangles noirs) ou de Threonine (carrés rouges). 27

1.9 Schémas de dipôles de force et des champs induits. A) Cas d'un puller, B) Cas d'un pusher 28

1.10 Schéma de l'absorption des bactéries aux parois. 29

1.11 Coefficient de diffusion en fonction du flux actif. Carrés : $d = 2\,\mu\text{m}$, cercles : $d = 1\,\mu\text{m}$. Pointillés : courbes théoriques. 30

1.12 Schéma d'interaction entre deux *pushers*. À gauche : cas d'une répulsion. À droite : cas d'une attraction. Les flèches noires représentent les champs hydrodynamiques produits par les nageurs, les flèches rouge les forces ressenties par les nageurs . . . 30

1.13 Alignement entre deux *pushers* 31

1.14 Longueur de corrélation des vitesses en fonction de la fraction du volume exclu. . 31

1.15 Longueur de corrélation des vitesses et vitesse moyenne en fonction de la fraction volumique. . . . 32
1.16 Schéma d'un écoulement de Couette. . . . 33
1.17 Schéma d'un écoulement de Poiseuille en cellule de Hele-Shaw. . . . 33
1.18 Bâtonnet soumis à un cisaillement 34
1.19 Schéma de la rhéotaxie dans le cas de particules chirales simples. En haut : vue générale. En bas : schéma explicatif, vue de dessus simplifiée. . . . 35
1.20 Schéma explicatif de la rhéotaxie dans le cas de E. Coli. . . . 36
1.21 Vitesse *rhéotactique* V/U en fonction du taux de cisaillement S pour des *Bacillus Subtillis* ($U \approx 55\,\mu m/s$) et modèle théorique pour des conditions similaires. . . . 36
1.22 Schéma simplifié de la superposition des champs hydrodynamiques de cisaillement (grandes flèches) et actif (petites flèches). À gauche : cas d'un *puller*, à droite : cas d'un *pusher*. . . . 37
1.23 Contribution des nageurs à la viscosité issue du modèle, le facteur numérique η_p en fonction de $\tilde{\dot{\gamma}}$ a) $\tau = \infty$, b) $d_r = 0.1$. . . . 38
1.24 Viscosité relative en fonction de la fraction volumique pour des taux de cisaillement faibles. À gauche : simulations numériques. À droite : expérience utilisant des *Bacillus subtilis*. . . . 39

2.1 Schémas des deux dispositifs expérimentaux utilisés dans cette étude. À gauche : canal microfluidique en PDMS. À droite : chambre scellée et imperméable à l'oxygène. 42
2.2 Déplacement quadratique moyen des E. Coli pour une fraction volumique $\phi = 0.3\,\%$ et sans L-Serine à trois temps t différents après le scellement complet de l'échantillon. À gauche : cas oxygéné (PDMS). À droite : cas non-oxygéné (parois en verre). 44
2.3 Variation de l'activité bactérienne avec et sans apport en oxygène (en suspension dans du MMA-Percoll). À gauche : temps t_c en fonction du temps écoulé. À droite : vitesse U_0 en fonction du temps dans la même situation. . . . 45
2.4 Variation du coefficient de diffusion D en fonction du temps. La ligne en pointillés représente la diffusion brownienne pour des particules sphériques de diamètre $d = 2\,\mu m$ définie à l'équation (2.4). . . . 46
2.5 Variation de l'activité de Escherichia Coli avec et sans apport en oxygène et en présence de L-Serine à une concentration de 250mM. À gauche : temps caractéristique de nage t_c en fonction du temps écoulé t. À droite : vitesse de nage 3D U_0 en fonction du temps t dans la même situation. . . . 47
2.6 Variation du coefficient de diffusion D en fonction du temps et en présence de L-Serine. . . . 48

3.1 À droite : image d'une suspension de *Bacillus Subtilis* près d'une ligne de contact, l'échelle mesure $35\,\mu m$. Au centre : vol en essaim de travailleurs à bec rouges *CC : Alastair Rae*. À gauche : troupeau de moutons à Cologne *CC : Túrelio*. . . . 51
3.2 Schémas de principe des dispositifs expérimentaux utilisés dans ce chapitre. a) Dispositif du canal en PDMS. b) Dispositif de la goutte piégée. . . . 53
3.3 Schéma de principe de la PIV. . . . 54
3.4 À gauche : image typique après filtrage. À droite : exemple de détection par tracking. En haut, E. Coli prise en fluorescence, l'échelle est de $2\,\mu m$ . . . 55

3.5 À gauche : la vitesse de nage mesurée en fonction du pas de temps et pour différentes positions verticales dans le canal pour plusieurs hauteurs dans le canal. À droite : distribution du temps de suivi pour plusieurs hauteurs dans le canal. Cas d'une suspension de E. Coli concentrée à $\phi = 0.5\,\%$ alimentée en oxygène et non soumise à un écoulement externe. 56
3.6 Exemples de trajectoires obtenues par le *tracking* pour $\phi = 0.1\,\%$. 56
3.7 À gauche : concentration volumique en bactérie mesurée par traitement d'image en fonction de la fraction volumique mesurée par absorption préalablement à l'expérience. La droite correspond à un accord pour un volume bactérien de $1\,\mu m^3$. À droite : fluctuations de densité en fonction de la densité moyenne pour différentes fractions volumiques. La droite correspond à une loi d'échelle en $N^{0.5}$. 57
3.8 Distributions spatiales des vitesses obtenue par *PIV* dans un microcanal (dispositif 1). Vecteurs vitesse : (a) $\phi = 0.1\%$, (b) $\phi = 1\%$ et (c) $\phi = 2\%$. Directions de nage : (d) $\phi = 0.1\%$, (e) $\phi = 1\%$ et (f) $\phi = 2\%$. 59
3.9 Distributions spatiales des vitesses obtenue par *PIV* pour $\phi = 8\%$ dans un microcanal (dispositif 1). (a) Vecteurs vitesse et (b) orientation des vitesses. 59
3.10 À gauche : des fonctions de corrélations de vitesses C_{xx} pour différentes concentrations et pour deux méthodes de traitement : la PIV et le tracking. À droite : des fonctions de corrélations des orientations C_α pour les mêmes expériences. 60
3.11 À gauche : longueurs de corrélations de vitesses Λ_{xx} en fonction de la fraction volumique ϕ pour deux méthodes de traitement et pour deux approvisionnement différents en oxygène. À droite : longueurs de corrélations des orientations Λ_α pour les mêmes expériences. 60
3.12 Distributions renormalisées pour des suspensions de E. Coli à différentes fractions volumiques. 61
3.13 À gauche : écart-type de la distribution de vitesse des bactéries selon les axes x et y en fonction de la fraction volumique de la suspension. À droite : vitesse moyenne de nage des bactéries en fonction de la fraction volumique de la suspension. 62
3.14 a) : Schéma du test sur les couples d'un triangle dont l'un des liens ne respecte pas le critère imposé. Dans le cas des *éléments-couples*, les deux liens respectant le critère sont acceptés. Dans le cas des *éléments-triangles*, seul est conservé celui qui respecte le plus le critère. b) : Schéma d'un cluster comprenant $N = 5$ particules et dont l'extension Δ est définie comme le diamètre du cercle en pointillés. 63
3.15 Exemple du résultat de l'algorithme de tracking pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et un angle $\delta\theta = 25^\circ$. a) Résultats de la détection. b) Triangulation de Delaunay. c) Clusters finaux, les triangles blancs représentant les bactéries solitaires. Les triangles indiquent la direction de nage. 64
3.16 Fluctuations de l'extension des clusters pour différents $\delta\theta$ et $\phi = 1\,\%$. 64
3.17 Distributions des tailles de clusters dans le cas de particules créées aléatoirement pour différentes fractions volumiques et pour $\delta\theta = 25^\circ$. À gauche : distribution du nombre de particules. À droite : distribution de l'extension des clusters. 65
3.18 Valeurs moyennes des tailles de clusters dans le cas de particules créées aléatoirement pour différentes fractions volumiques et pour $d\theta = 25^\circ$. À gauche : nombre moyen de particules dans un cluster. À droite : extension moyenne des clusters. . . 65

3.19 Distributions et moyennes des tailles de clusters dans le cas de bactéries pour différentes fractions volumiques et pour un paramètres $d\theta = 25^{\circ}$.a) distribution du nombre de particules. b) nombre moyen de particules dans un cluster. c) distribution de l'extension des clusters. d) extension moyenne des clusters. 66
3.20 Vitesse de déplacement du centre de masse des clusters en fonction de leurs tailles et pour différentes fraction volumiques dans le cas bactéries. À gauche : variation avec la taille en nombre de particules. À droite : variation en fonction de la taille en unité de longueur. 67
3.21 Vitesse moyennes des bactéries au sein des clusters en fonction de la taille du cluster les contenant et pour différentes fraction volumiques et dans le cas bactéries. À gauche : variation avec la taille en nombre de particules. À droite : variation en fonction de la taille en unité de longueur. 68

4.1 Schéma explicatif de la dispersion de Taylor-Aris. L'aspect diffusif caractéristique de cette dispersion apparaît pour des temps long ($t_2 \gg t_1$). 71
4.2 Schéma d'un tumble actif. 76
4.3 À gauche : Trajectoire pour un nageur en suspension avec $\beta = 0.6, U_0 = 1, V_0/U_0 = 10$, $R = 1$ sans *tumble* actif sur un temps $T = 10R/U_0$. L'écoulement se déroule suivant l'axe x. À droite : vecteur orientation $\overrightarrow{n}$ pour la même simulation. 78
4.4 À gauche : Trajectoire pour un nageur en suspension avec $\beta = 0.6, U_0 = 1, V_0/U_0 = 10, t_{\text{run}} = 1, R = 5U_0t_{\text{run}}$ sans *tumble* actif sur un temps $T = 100t_{\text{run}}$. L'écoulement se déroule suivant l'axe x. À droite : vecteur orientation $\overrightarrow{n}$ pour la même simulation. 78
4.5 Distribution du vecteur directeur d'un nageur soumis à un écoulement cylindrique. Simulation avec les paramètres : $\beta = 0.6$, $U_0 = 1$, $V_0/U_0 = 10$, $R = 5U_0t_{\text{run}}$ sans *tumble* actif sur un temps $T = 10000R/U_0$. L'écoulement se déroule suivant l'axe x. 79
4.6 Distribution du vecteur directeur d'un nageur soumis à un écoulement de Couette. Simulation avec les paramètres : $\beta = 0.6$, $U_0 = 1$, $V_0/U_0 = 10$, $R = 5U_0t_{\text{run}}$ sans *tumble* actif sur un temps $T = 10000R/U_0$. L'écoulement se déroule suivant l'axe x. 79
4.7 Distributions et angle préférentiel d'ellipsoïdes d'élongation $\beta = 0.6$ en fonction du paramètre $\dot{\gamma}t_{\text{run}}$. Pointillés noirs : $\pi/4$. Pointillés bleus et rouges : lois de puissance en $(\dot{\gamma}t_{\text{run}})^{\pm 1}$. 80
4.8 Probabilité p(t) pour un nageur d'être en suspension dans le cylindre en fonction du temps T. Simulation pour $\beta = 0.33$, $R = 5$, $t_{\text{run}} = 1$, $U_0 = 1$, et $V_0 = 13$. Insert : grossissement pour les temps courts. Lignes continues : ajustements par des exponentielles. 81
4.9 Temps caractéristique t_c/t_{run} de contact avec la paroi en fonction de la vitesse de l'écoulement V_0/U_0. À gauche : dans le régime ballistique. La courbe en pointillés représente la valeur attendue par notre analyse dimensionnelle (4.3). À droite : dans le régime diffusif. La courbe continue représente l'ajustement par le modèle suivant la formule (4.25). 82
4.10 Coefficient α en fonction de l'élongation β des nageurs pour $V_0/U_0 = 13$. 83
4.11 Probabilité p(x) pour un nageur d'être entrée en contact avec la paroi à une distance x. Simulations pour $\beta = 0.33$, $R = 5$, $t_{\text{run}} = 1$, $U_0 = 1$, et pour $V_0 = 0.01$, 2, et 5. . 84
4.12 Distance moyenne $\langle x \rangle/(U_0t_{\text{run}})$ de contact avec la paroi en fonction de la vitesse de l'écoulement V_0/U_0. Courbe pleine : ajustement des données avec le modèle. . . . 84

4.13 Probabilité d'être en suspension après avoir parcouru une distance $x/(U_0 t_{\mathrm{run}})$. Simulations pour $\beta = 0.33$, $R = 5$, $t_{\mathrm{run}} = 1$, $U_0 = 1$, et pour $V_0 = 0.01$, 2, et 5. . . . 85
4.14 Distance caractéristique $X_c/(U_0 t_{\mathrm{run}})$ de contact avec la paroi dans le régime diffusif en fonction de la vitesse de l'écoulement V_0/U_0. Simulations pour $\beta = 0.33$, $R = 5$, $t_{\mathrm{run}} = 1$, $U_0 = 1$. Courbe pleine : ajustement par le modèle modifié. 86

5.1 Étalonnage des billes au 100X avec contraste de phase Ph1. Dans les sens de lecture, les billes vont de $-21\,\mu\mathrm{m}$ à $21\,\mu\mathrm{m}$ par rapport au plan focal par pas de $3\,\mu\mathrm{m}$. . . . 91
5.2 Profils de vitesse longitudinale de traceurs passifs dans le cas d'une fraction volumique de E. Coli $\phi = 2\,\%$ et pour plusieurs débits imposés. À gauche : repère lagrangien. À droite : repère eulérien. 92
5.3 Profils de vitesse transversale de traceurs passifs dans le cas d'une fraction volumique de E. Coli $\phi = 0\,\%$ et $\phi = 2\,\%$ et pour plusieurs débits imposés. 92
5.4 Densités de probabilité du temps de résidence des bactéries. À gauche : Cas d'une suspension à une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ sans écoulement imposé et pour 3 hauteurs dans le canal. À droite : Même suspension à mi-hauteur pour 4 taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c$. 94
5.5 Temps de résidence pour des nageurs simulés numériquement sans écoulement et dans le cas dilué. À gauche : Nageurs balistiques. À droite : Nageurs de type *run-and-tumble*. 95
5.6 Temps caractéristique t_{res} de détection des bactéries sous écoulement. À gauche : En fonction de la hauteur dans le canal pour une fraction volumique de $\phi = 2\,\%$ et pour plusieurs taux de cisaillement caractéristiques $\dot{\gamma}_c$. À droite : Moyenne au centre du canal (partie grisée) en fonction du taux de cisaillement caractéristique du système $\dot{\gamma}_c$ et pour plusieurs fractions volumiques ϕ. 96
5.7 Projection U_{2D} de la vitesse de nage en fonction de la position selon l'axe z considérée pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et différents gradiets de vitesse $\dot{\gamma}_c$ imposés. 97
5.8 Vitesse de nage projetée U_{2D} des bactéries. À gauche : variation avec la concentration ϕ en E. Coli. À droite : variation avec le taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c$. 97
5.9 Distribution de la distance parcourue par les E. Coli dans le champ de vision du microscope pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et différent taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c$. 98
5.10 Évolution de la distance parcourue par les bactéries projetée dans le plan focal L. À gauche : variation avec la concentration ϕ en E. Coli. À droite : variation avec le taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c$. 99
5.11 N_{bal} en fonction du taux de cisaillement caractéristique $\dot{\gamma}_c$ imposé et de la fraction volumique ϕ en E. Coli. 99
5.12 À gauche : distributions de vitesse des bactéries dans le repère lagrangien pour d'une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et pour un taux de cisaillement imposé $\dot{\gamma}_c = 20\,\mathrm{s}^{-1}$ à différentes hauteur. À droite : profils de vitesse longitudinale des bactéries dans le repère lagrangien pour une fraction volumique de E. Coli $\phi = 2\,\%$ et plusieurs taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c$ 100
5.13 À gauche : Distributions des vitesses transverses des bactéries pour $\phi = 2\,\%$ à $H/4$ et à deux débits différents. À droite : vitesse transverse moyenne des bactéries en fonction du gradient de vitesse local $\dot{\gamma}$ dans l'écoulement de Poiseuille et pour plusieurs taux de cisaillement caractéristiques imposés $\dot{\gamma}_c$. 101

5.14 Mesure de la pente A de la vitesse transverse et courbe en fonction du taux de cisaillement caractéristique imposé $\dot{\gamma}_c$. 102
5.15 Distributions de l'orientation du déplacement des bactéries par rapport à l'axe de l'écoulement pour ϕ =2 %. À gauche : débit $Q = 0\,\mathrm{nL\,s^{-1}}$. À droite : $Q = 3\,\mathrm{nL\,s^{-1}}$. 103
5.16 Profils de densité pour plusieurs fractions volumiques et plusieurs débits imposés. 103
5.17 Fonctions de corrélation spatiale. À gauche : cas pour un gradient de vitesse $\dot{\gamma}_c = 2\,\mathrm{s^{-1}}$ et pour différentes fractions volumiques $\phi = 2\,\%$ au centre du canal. Pointillés : ajustement par une exponentielle décroissante. À droite : cas pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et pour différents gradients de vitesse $\dot{\gamma}_c$ au centre du canal. . . 104
5.18 Longueurs de corrélation spatiale des vitesses Λ. À gauche : variation avec la position dans le canal z/H pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et pour différents gradients de vitesses $\dot{\gamma}_c$. À droite : moyenne des longueurs de corrélation au centre du canal (partie grisée) $\langle\Lambda\rangle$ avec le gradient de vitesse $\dot{\gamma}_c$ pour différentes fractions volumiques ϕ. 105
5.19 Cartographies des orientations extraites du champ de vitesse *coarse-grainé* ($W = 5.76\,\mu\mathrm{m}$) pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$. Les champs de visions font $135.2\,\mu\mathrm{m}$ de côté. À gauche : cas sans écoulement. Au centre : cas pour $\dot{\gamma}_c = 2\,\mathrm{s^{-1}}$. À droite : cas pour $\dot{\gamma}_c = 10\,\mathrm{s^{-1}}$. 106
5.20 Fonctions de corrélation temporelle. À gauche : cas pour un gradient de vitesse $\dot{\gamma}_c = 2\,\mathrm{s^{-1}}$ et pour différentes fractions volumiques ϕ au centre du canal. Pointillés : ajustement par une exponentielle décroissante. À droite : cas pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et pour différents gradients de vitesse $\dot{\gamma}_c$ au centre du canal. . . 106
5.21 Temps de corrélation spatiale des vitesses T. À gauche : variation avec la position dans le canal z/H pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et pour différents gradients de vitesses $\dot{\gamma}_c$. À droite : moyenne des temps de corrélation $\langle T\rangle$ moyenné au centre du canal (partie grisée) avec le gradient de vitesse $\dot{\gamma}_c$ pour différentes fractions volumiques ϕ. 107

6.1 Principe de fonctionnement du rhéomètre microfuidique. Ici la largeur du fluide 1 est inférieur à celle du fluide 0, il a donc une viscosité plus faible. 110
6.2 Position de l'interface en fonction du rapport de débit dans les canaux pour deux rapport de viscosité différents et dans un canal de rapport d'aspect 6.5. Lignes : modèle théorique. Symboles : résultats expérimentaux (Galambos et al). 112
6.3 Rapport de viscosité entre les deux fluides η_1/η_0 en fonction du rapport des largeurs d'écoulements observées d_1/d_0 dans le cas de débits identiques et pour un canal de rapport d'aspect 6.5. Pointillé : droite $\eta_1/\eta_0 = d_1/d_0$. Les valeurs des points sont tirées de l'article de P.Galambos. 112
6.4 Puce microfluidique utilisée pour nos expériences. 114
6.5 Dispositif expérimental. (a) Image du microcanal moyennée sur le temps ($W = 600\,\mu\mathrm{m}$) pour $Q = 10\,\mathrm{nL\,s^{-1}}$ pour chaque échantillon une fraction volumique en bactérie $\phi = 0.35\%$. Le système est éclairé en lumière blanche. Les cadres rouge et bleu désignent les zones de mesure respectivement pour la viscosité et les mesures à l'échelle microscopique. (b) Profil de concentration en bactéries $C(y)$ normalisé par la concentration maximum C_c le *fit* par une fonction erreur utilisé pour repérer la position de l'interface. 114

6.6 Mesure de viscosité relative dans le cas de billes de 2 µm de diamètre à un taux de cisaillement caractéristique $\dot{\gamma} = 5\,\text{Hz}$. La courbe pleine correspond à une loi de Batchelor (6.7). 115
6.7 Variation de la position de l'interface avec la distance à la jonction du Y. 116
6.8 Largeur de l'interface en fonction de la distance à la jonction du Y. 116
6.9 Largeur carrée de l'interface en fonction du temps écoulé depuis l'arrivée des fluides dans le canal principal. 117
6.10 Images moyennes pour une fraction volumique $\phi = 0.35\,\%$. 118
6.11 Courbes de viscosité relatives dans le cas d'une suspension de bactéries actives et d'une suspension de bactéries désactivées pour une concentration identique $\phi = 0.8\,\%$. 119
6.12 Viscosité relative η_r de suspensions bactériennes en fonction du taux de cisaillements $\dot{\gamma}_c$ et pour plusieurs fraction volumique ϕ. 119
6.13 Viscosité relative η_r de suspensions bactériennes en fonction de la fraction volumique ϕ et pour plusieurs taux de cisaillements $\dot{\gamma}_c$. 120
6.14 Densité en bactéries dans le cas d'une fraction volumique attendue de 0.75 % selon la hauteur dans le canal z et pour différents taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c$ 121
6.15 Profils de vitesse de traceurs passifs dans l'écoulement pour une concentration de $\phi = 0.75\,\%$ et des taux de cisaillement de $\dot{\gamma}_c = 1$, 2, et 20 Hz. 121
6.16 Viscosité relative η_r de suspensions bactériennes en fonction du taux de cisaillements $\dot{\gamma}_c$ et pour une fraction volumique $\phi = 0.8\,\%$ ainsi que les ajustements à faibles et fort cisaillement selon la loi de Ostwald-de Waele. 122
6.17 Profils de vitesse de l'écoulement calculer pour le cas newtonien (rouge), le cas rhéo-épaississant, c'est à dire dans le cas des suspensions bactériennes pour de faibles gradients de vitesse (bleu), et le cas rhéo-fluidifiant, donc pour de forts gradients de vitesse (vert). 122
6.18 Exemple de dessin CAO. Cas de canaux pour viscosimétrie de 100, 300 et 600 µm de large 134
6.19 Exemple de wafer. Cas de canaux pour viscosimétrie de 100, 300 et 600 µm de large 135
6.20 Photo du microcanal 137

Introduction

Dans ce document, je présente les travaux effectués au cours de mon doctorat, et dont l'objectif est de caractériser expérimentalement la rhéologie de suspensions de Escherichia Coli, ainsi que leur comportement de nage lorsqu'elles sont soumises à un écoulement cisaillant.

Escherichia Coli est une bactérie très bien connue par les biologistes, et de plus en plus utilisée par les physiciens. En effet, ces derniers ont trouvé dans cette espèce un système bien caractérisé pour étudier le comportement de particules dites actives dans un environnement contrôlé. Ce caractère actif peut être défini comme la capacité de prélever localement de l'énergie dans le milieu et de la transformer au moyen d'un processus interne en déplacement directionnel, par opposition à des particules passives qui sont uniquement convectées par l'écoulement ou transportées par le mouvement Brownien. Dans le cas des bactéries, et donc de *Escherichia Coli*, il est important de prendre en compte le fait que les particules sont en suspension dans un fluide. On s'attend alors à ce que l'introduction de cette activité modifie en profondeur les propriétés du système à la fois au niveau microscopique, mais aussi à un niveau plus macroscopique, et donc qu'il diffère du cas des suspensions passives.

Lorsque l'on soumet une suspension passive à un écoulement, non seulement le liquide dissipe de l'énergie au travers de sa viscosité propre, mais les particules influent également sur le comportement de la suspension par leurs mouvements dans le fluide ainsi que les interactions à courte ou longue portée entre les particules. Cela introduit plusieurs particularités dans les phénomènes physiques liés à la présence de ces corps solides dans le fluide, et en particulier sur la viscosité. On comprend alors que plus la concentration en particules est grande, plus les interactions deviennent importantes et plus l'énergie est dissipée au sein du fluide. Il a été découvert par l'expérience que la viscosité augmente avec ϕ et qu'elle diverge pour une certaine concentration ϕ_m. Des modèles ont alors été développés pour prédire ce comportement dans le cas simplifié de particules sphériques monodisperses avec la fraction volumique.

Le premier d'entre eux a été écrit par A.Einstein [1] dans le cas de suspensions très dilués, c'est à dire dont les fractions volumiques restent en dessous de 3 %. Dans son modèle, il décrit la viscosité de la suspension η comme étant proportionnelle à celle du fluide porteur η_0, ce qui nous permet d'introduire une viscosité relative $\eta_r = {}^{\eta}/_{\eta_0}$ qui caractérise la contribution des particules dans la viscosité de la suspension, et qui s'écrit alors selon ce modèle comme $\eta_r = 1 + 2.5\phi$.

Plus tard, cette prédiction a été étendue à des fractions volumiques plus élevées, de façon théorique par G.K.Batchelor [2] en prolongeant la logique du premier modèle, et de façon semi-empirique par Krieger et Dougherty [3], D.Leighton [4], et plus récemment par Zarraga [5].

Par la suite, la viscosité de particules allongées, comme les ellipsoïdes, a été étudiée théoriquement au travers du cas des solutions de polymères. Il a en effet été remarqué par Dhont [6] que l'on pouvait se baser sur les travaux de Doi et Edwards [7] en considérant ces particules comme

un polymère rigide de même taille et rapport d'aspect que les particules considérées.

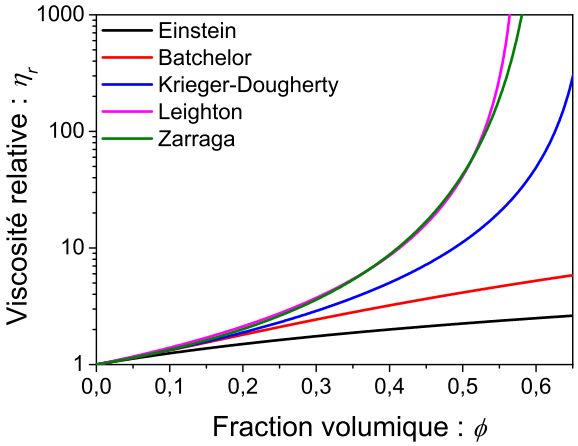


FIGURE 1 – Viscosité relative η_r donnée par les modèles d'Einstein [1], de Batchelor [2], ainsi que les fits empiriques de Krieger-Dougherty [3], de Leighton [4], et de Zarraga [5].

Les possibilités qui se cachent derrière l'ajout de l'activité à ces suspensions a amené de nombreuses équipes à travers le monde à s'intéresser de près aux particules actives, et ce de manière théorique, numérique et expérimentale. Une partie d'entre elles se concentrent sur le cas des granulaires actifs secs interagissant uniquement par collisions, tandis que d'autres, dont celle dans laquelle j'ai effectué mon doctorat, travail sur les suspensions actives où la présence du fluide est essentielle.

Le comportement individuel des bactéries est aujourd'hui assez bien compris grâce, entre autres, aux travaux de H.C.Berg [8–10], ainsi que de P.S.Lovely et F.W.Dahlquist [11]. On connait depuis lors la nage de Escherichia Coli, et comment la modéliser au moyen d'une marche aléatoire persistante. Ces travaux ont été étendus à d'autres espèces, et des modèles de plus en plus détaillés ont contribué à améliorer la compréhension de ce type de particules à la fois du point de vue de nageurs typiques que de leur mécanisme de nage propre [12–15].

Le concept de particules auto-propulsées a été introduit pour la première fois par le modèle de Vicsek [16, 17]. Il consiste à créer des particules imaginaires avec des règles de déplacements simples, par exemple une vitesse constante, et d'y ajouter une règle d'interaction entre une particule et sa plus proche voisine, ainsi que du bruit, afin de faire apparaître des comportements collectifs [18]. Ce modèle a été utilisé, et raffiné pour, par exemple, faire interagir une particule avec ses n plus proches voisins, dans le cadre des vols d'étourneaux ou des bancs de poissons, le but étant de trouver la règle la plus simple qui corresponde aux mouvements observés dans la nature. Dans le cas des animaux, les interactions sont complexes car elles mettent en jeu un processus cognitif.

Dans le cas de suspensions, le fluide est capable de porter des interaction au travers d'un champ hydrodynamique. Des études du champ créé par un nageur, études numériques [19, 20] et expérimentales [21], ont été effectuées et mettent en avant l'existence de champs de vitesse crées par les nageurs, et donc la possibilité d'interactions entre eux qui peuvent théoriquement mener à des comportements collectifs.

Ces comportements ont été étudiés numériquement dans beaucoup de cas différents. Ainsi, J.M.Yeomans a regardé un groupe de particules allongées libres de se déplacer dans un plan à deux

dimensions sans aucune interaction à distance et a cartographié les différents types de comportements observés en fonction de la fraction volumique de ces particules et leur rapport d'aspect [22].

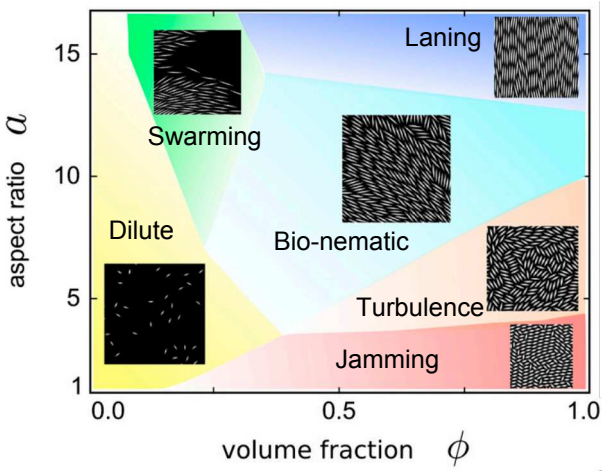


FIGURE 2 – Diagramme de phase schématique du comportement de particules actives dans le cadre du modèle 2D de bâtonnets auto-propulsés (SPR 2D) [22].

Cette étude prévoit de nombreux comportements différents allant d'une nage libre à de la bio-turbulence, en passant par du *swarming*, c'est a dire une nage corrélée en paquets.

D'autres travaux numériques incluant des interactions à distance basées sur les champs hydrodynamiques présentés par A.Baskaran ont été effectués et prévoient des comportements collectifs correspondant qualitativement à ceux décrits par Yeomans, bien que tous n'apparaissent pas dans les différentes études [23–28]. Les propriétés de ces suspensions numériques avec la concentration varient suivant les modèles, cependant ceux-ci se recoupent qualitativement.

D'un point de vue expérimental, plusieurs études ont été publiée utilisant des particules biologiques [29–32] ou des nageurs artificiels [33]. Ces résultats mettent en lumière plusieurs comportements, principalement des phénomènes de « clusterisation » de la population, de la bio-turbulence, ainsi que, dans des conditions bien définies, une nage organisée à grande échelle.

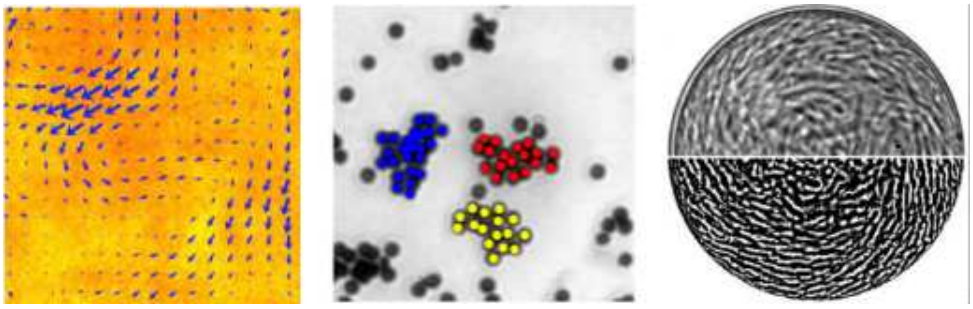


FIGURE 3 – À gauche : mouvements collectifs d'une suspension de *Bacillus Subtilis* (champ de 300 µm) [31]. Au centre : Particules Janus sphériques sur un plan horizontal (champ de 35 µm) [33]. À droite : Bacillus subtilis dans un réservoir de 70 µm [32].

Outre ces mouvements collectifs, une autre propriété importante des suspensions actives est attendue. En effet, en posant certaines hypothèses, entre autres sur l'orientation des nageurs sous cisaillement [34], il est prédit par de nombreux modèles et théories [35–38] que la rhéologie de ce types de suspensions change grandement par rapport aux cas passifs, voire dépende du type de champ hydrodynamique créé par les nageurs. La plupart de ces modèles ont été construits pour le cas dilué, mais celui de S.Ryan [37] s'étend dans le domaine semi-dilué dans lequel les

comportements collectifs prennent de l'importance.

Un nombre restreint de travaux expérimentaux ont été effectuées jusqu'à maintenant et avec différents types de nageurs [39–41]. Tous montrent que, dans certaines conditions de cisaillement, la viscosité montre en effet une différence notable avec celle que l'on obtient pour des suspensions passives. Par exemple, une étude de S.Rafaï [40] a montrée que les suspensions de *Clamydomonas Reinhardtii*, une algue capable de nager, ont des viscosités différentes selon que ces algues sont vivantes ou mortes.

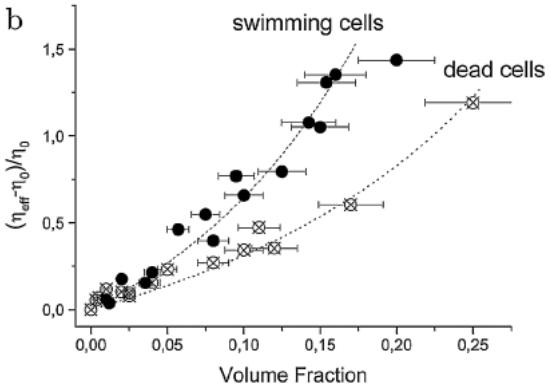


FIGURE 4 – Viscosité effective de suspensions de *Clamydomonas Reinhardtii* en fonction de la fraction volumique et dans le cas d'algues vivantes (noires) ou mortes (rouges) [40].

De plus, dans le cas de Escherichia Coli, les effets attendus par les modèles théoriques ainsi que les simulations sont à l'inverse de ceux présentés sur la figure 4, ce qui signifie que la viscosité de la suspension, sous certaines conditions, peut descendre en dessous de celle du fluide suspenseur. Les quelques expériences réalisées sur le sujet avec une autre bactérie qui possède les propriétés hydrodynamiques requises ont montrées que cet effet existait [39]. Cependant, aucune étude cherchant à définir la relation entre viscosité et taux de cisaillement de manière expérimentale n'a été publiée jusqu'ici.

Devant cette abondance de travaux théoriques et numériques, travaux ayant la particularité de prédire des comportements similaires qualitativement, mais différents quantitativement, et le faible nombre de travaux expérimentaux effectués sur le sujet, nous nous sommes intéressés de près à la rhéologie des suspensions de particules actives, ainsi qu'au comportement microscopique de ces nageurs, afin d'établir un lien entre les différentes échelles mises en jeu dans ce problème.

Afin de présenter ces travaux, ainsi que leurs résultats, nous organiserons notre propos selon le schéma suivant.

Dans un premier temps, nous définirons certains concepts et présenterons des études antérieures qu'il est nécessaire de connaitre afin de pouvoir appréhender la suite du document. Notre travail mêlant des bactéries à un cisaillement, ces deux éléments seront décrits, ainsi que leurs interactions qui ont déjà été caractérisées lors d'études précédentes.

Dans une seconde partie, nous nous attacherons à caractériser en détail le comportement individuel de la souche de bactérie que nous utilisons lors de toutes nos expériences. Nous nous servirons alors de ces bactéries comme d'un modèle de particules actives, ce qui nous permettra de relier les résultats expérimentaux qui sont présentés ici à des résultats issus de modèles et simulations numériques. Nous proposerons également un moyen de s'affranchir de limitations expérimentales liées à la sensibilité de E. Coli au manque d'oxygène.

Une fois le comportement de nage de E. Coli défini, nous nous intéresserons à la dynamique collective de ces particules actives ainsi qu'à leurs variations avec la concentration en bactéries de la suspension. Pour cela, nous nous servirons de deux outils d'analyse, les corrélations spatiales qui nous donnerons une taille typique de la structuration dans le système, ainsi que d'une analyse en cluster qui nous permettra de voir les effets de la structuration de la population sur leur comportement de nage.

Par la suite, nous étudierons numériquement le comportement individuel d'un nageur lorsque celui-ci est soumis à un écoulement cisaillant, travail entrepris en collaboration avec R.Soto de l'Université du Chili. Pour caractériser ce comportement, nous nous baserons sur les travaux de Taylor sur la dispersion de particules sous un écoulement de Poiseuille, et chercherons donc à accéder à la diffusion transverse des nageurs sous un écoulement cylindrique.

Dans une cinquième partie, nous nous pencherons sur le comportement de suspensions de E. Coli dans une cellule de Hele-Shaw. Nous regarderons en particulier les grandeurs statistiques qui caractérisent le mouvement global ainsi que la modification des structurations de la population suivant le cisaillement imposé et la concentration de nageurs impliquées.

Une fois ces comportements identifiés, nous présenterons une étude rhéologique de ces suspensions au moyen d'un dispositif microfluidique nous permettant de contrôler de manière très précise les conditions physiques et chimiques dans le système lors de la mesure.

Chapitre 1

État de l'art

Dans le cadre des travaux effectués lors de mon doctorat nous avons travaillé avec des Escherichia Coli. L'étude des nageurs biologiques renvoie à de nombreux travaux qui ont contribué à la compréhension et la caractérisation de ces objets. Pour être en mesure de tirer des conclusions des résultats expérimentaux qui sont présentés dans ce document, il est nécessaire de connaitre ces travaux antérieurs. Nous proposons dans ce chapitre une sélection de ces travaux qui ont un intérêt direct dans la suite de ce document, depuis le fonctionnement biologique de Escherichia Coli à des travaux théoriques et expérimentaux sur la rhéologie des suspensions de bactéries, en passant par la modélisation des nageurs autonomes par des dipôles de forces.

1.1 Escherichia Coli

1.1.1 Un objet biologique

Généralités

D'un point de vue biologique, Escherichia Coli — que nous appellerons désormais E. Coli par commodité — est une bactérie allongée, ou bacille, composée d'un "corps" dans lequel se trouve la machinerie nécessaire à sa vie et d'un faisceau de flagelles qui lui sert d'organe moteur. Elle mesure 0.8 µm de large sur 2 µm de long si l'on ne prend en compte que son corps, ou 12 µm avec ses flagelles. Sa vitesse de nage typique en conditions de laboratoire est de 20 à 30 µm/s.

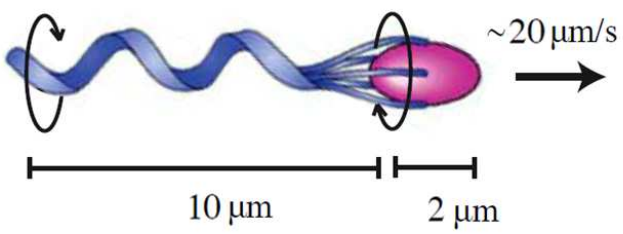


FIGURE 1.1 – Schéma d'une E. Coli

Elle se trouve communément dans les intestins grêles des mammifères. Généralement non-pathogène, elle permet, avec le reste de la flore intestinale, l'assimilation de certains aliments, tels que les fibres végétales. Cependant, sous certaines conditions, cette bactérie peut être responsable

de pathologies plus ou moins sérieuses allant de la gastro-entérite à la septicémie. Ces maladies sont causées par une modification de la flore intestinale, comme une sur-représentation de E. Coli pathogènes, ou une intrusion de l'espèce dans une partie du corps où sa présence est anormale, comme la circulation sanguine.

E. Coli est l'un des êtres vivants les mieux connus par les biologistes. Son génome a été séquencé entièrement, ce qui explique qu'il soit encore aujourd'hui l'un des plus utilisés en bioingéniérie. De très nombreux mutants ont ainsi été développés pour répondre aux divers besoins de la recherche scientifique. Le plus courant est E. Coli K12 principalement pour des raisons historiques, celle souche ayant été extraite dès 1922 du corps d'un patient à l'université de Stanford.

Cette utilisation massive a demandé une spécialisation artificielle de la bactérie dans des domaines très divers par le biais du génie génétique. Il existe ainsi des souches de E. Coli fluoresçant en vert, jaune ou rouge, voire plusieurs couleurs localisées sur différents organites. Certaines souches ont quant à elles été modifiées pour nager différemment, ou pour ne plus nager du tout.

Outre ce travail sur l'ADN, il est également possible d'ajouter dans la cellule des brins d'ARN comprenant un gène produisant l'effet désiré. Ces morceaux d'ARN, dits plasmides, permettent d'obtenir des mutants différents à partir d'une souche mère plus facilement et plus rapidement que par la modification directe de l'ADN.

Pour toutes ces raisons, E. Coli est devenue une bactérie modèle chez les physiciens et les chercheurs travaillant à l'interface entre physique et biologie.

Fonctionnement biologique

Comme pour tous les êtres vivants, le fonctionnement complet d'une E. Coli est extrêmement complexe car il met en jeu des systèmes à la fois parallèles et interdépendants. Il existe ainsi des diagrammes plus ou moins exhaustifs, et complexes, qui représentent les réactions chimiques et enzymatiques qui se produisent dans le corps de la bactérie (cf figure 1.4).

Certaines d'entre-elles sont importantes pour l'utilisation de E. Coli, ne serait-ce que vis-à-vis de sa culture. Savoir qu'en conditions de laboratoire une division cellulaire se produit en moyenne toute les 20 minutes à 30 °C permet de prévoir le temps nécessaire entre l'inoculation et l'expérience.

Dans le cadre de ce document, nous pouvons nous contenter du fonctionnement des moteurs qui entrainent les flagelles, et provoquent ainsi le déplacement de la bactérie, ainsi que de leur chaine d'activation qui contrôle une part importante de son comportement de nage.

Les flagelles propulseurs de E. Coli sont principalement composés de *flagelline*, une protéine spécifique, qui a la particularité de s'organiser de telle sorte que le flagelle aura une conformation privilégiée en forme d'hélicoïde, dont le pas typique est d'environ 2 µm, conformation qui introduit également une chiralité à cette particule, ce qui a son importance dans le mode de déplacement de la bactérie.

Le flagelle peut être subdivisé en deux parties, un crochet relié au moteur et le flagelle proprement dit attaché au crochet. La rotation du moteur entraine donc un mouvement rotatif du complexe crochet-flagelle.

Les moteurs flagellaire de E. Coli fonctionnent par l'intermédiaire d'un flux de protons. Leur transfert d'un côté à l'autre de la membrane cellulaire provoque des changements successifs de conformation des molécules composant le rotor, ce qui entraine la rotation de celui-ci dans le sens

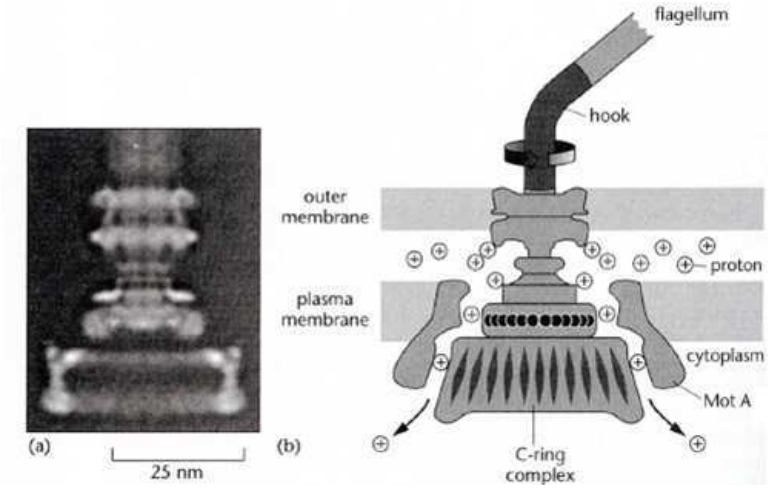


FIGURE 1.2 – (a) Image en microcopie electronique, (b) Diagramme d'un moteur flagellaire

trigonométrique, et donc du flagelle attaché à lui. Ce mouvement, allant dans le sens de la conformation du flagelle, propulse la bactérie dans une direction donnée.

Toutefois, suite à un stimulus de l'environnement, un processus enzymatique interne à la bactérie entraine en fin de course un changement de conformation d'une partie très précise du moteur. Ce changement se traduit alors par une inversion du sens de rotation.

Cette rotation anti-trigonométrique du moteur, allant en sens inverse de la conformation du faisceau de flagelles, provoque une séparation du flagelle soumis à ce phénomène du reste du faisceau de flagelles. En revanche, les différents moteurs de la bactérie ne changeant pas de sens de rotation au même moment, cet évènement provoque une asymétrie de la poussée, et donc un changement progressif de la direction de la bactérie. Le moteur retourne relativement rapidement dans son mode de fonctionnement usuel, et la nage directionnelle reprend alors, mais dans une direction différente.

Dans cette dynamique, un flagelle tourne en moyenne à 100 Hz. Par la simple conservation du moment cinétique et le rapport des résistances hydrodynamiques, le corps tourne, quant à lui, à près de 20 Hz en sens inverse.

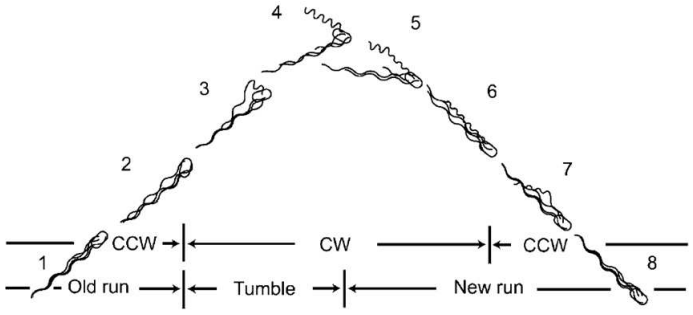


FIGURE 1.3 – Schéma du comportement de nage d'une E. Coli [42].

Ce comportement de la bactérie est appelé la nage en *run and tumble*, car celle-ci est composée de périodes de nage rectiligne, appelées *run*, entrecoupées de changements de direction, appelés *tumble*.

Ce mécanisme est entièrement contrôlé par la bactérie. Plus précisément, la phosphatation de la molécule, nommée *CheY*, responsable du changement de sens de rotation du moteur est due à une série de capteurs placés le long de la parois de la bactérie. Ceux-ci sont tous spécialisés dans la détection d'un composé chimique précis tel que l'oxygène ou le glucose.

Pour simplifier, il est possible de diviser les capteurs en deux grandes catégories. Ceux qui détectent des composés nécessaires à la bactéries, les attractants, et ceux qui détectent les composés dangereux, les répellants. Quel qu'ils soient, les capteurs permettent à la bactérie de détecter les gradients en composés chimiques. Pour ce faire, ils possèdent, par voie chimique, une "mémoire" qui leur permet de mesurer des gradients temporels sur quelques secondes, et donc, comme la vitesse est quasi constante, des gradients spatiaux. Dans la suite, nous nous concentrerons sur les attractants, les répellants ayant simplement un effet diamétralement opposé.

Lorsque la bactérie nage le long d'un gradient positif, l'activation des *CheY* est ralentie, ce qui allonge le temps durant lequel la bactérie nage de façon rectiligne, ou temps de *run*. A contrario, dans le cas d'un gradient négatif, cette activation est accélérée, ce qui réduit le temps de *run*. De la même manière, le temps de *tumble* est modifié de façon à changer l'angle en sortie. Plus ce temps est court, plus la bactérie garde sa directionnalité. Il en résulte que les bactéries nagent préférentiellement dans la direction du gradient en espèce chimique [43].

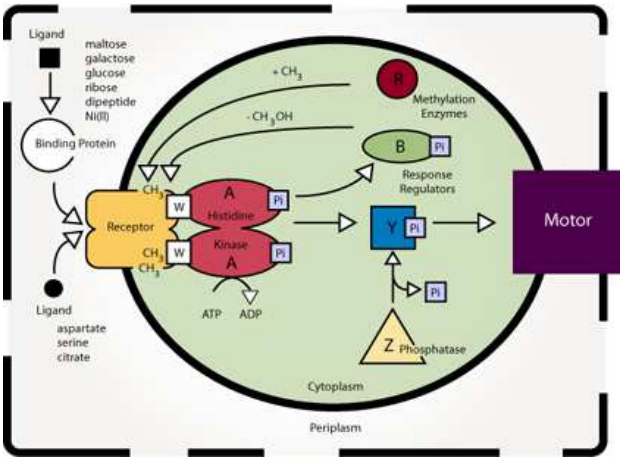


FIGURE 1.4 – Diagramme d'activation d'un moteur flagellaire [44].

Sur cette figure est représenté le diagramme d'activation du run d'une E. Coli. La détection d'un attractant par le capteur provoque un changement de conformation de ce récepteur, ce qui modifie la vitesse des réactions enzymatiques, et ici ralentit la production de la protéine *CheY*. Lorsque le récepteur est activé, des enzymes viennent le bloquer dans cet état, des méthylateurs, tandis que d'autres tentent de le libérer, des régulateurs. Il se produit donc une compétition entre ces deux phénomènes. Or la seconde conséquence de l'activation du capteur est la modification des régulateurs pour les rendre moins efficaces. Plus les capteurs sont activés, moins les régulateurs peuvent libérer les capteurs, plus les CheY sont produites, et donc les *run* sont longs. Lorsque le capteur est libéré, les régulateurs sont réactivés, ce qui induit une diminution du blocage des capteurs en position activée, ce qui diminue la production de *CheY*, et donc provoque un *tumble*.

Dans ce travail, nous avons utilisé la souche nommée E. Coli W-Strain, ou *ATCC9637* selon son numéro d'enregistrement, qui a une histoire différente de K12, et ne descend pas de celle-ci par mutation. Elle a été récupérée dans le sol près de l'Université de Rutgers dans le New-Jersey. Son génome est également parfaitement connu depuis plusieurs années [45].

Elle a la particularité de ne pas avoir été sélectionnée par la génétique, et donc possède une dispersité génotypique qui la rend intéressante de par sa polyvalence. Elle fait ainsi partie, parmi les souches non-pathogènes et non-mutantes, des plus rapides dans les liquides et les poreux.

1.1.2 Un objet physique

Cette vision biologique minimaliste des choses est nécessaire pour comprendre le fonctionnement de E. Coli, et donc à la bonne marche des expériences. Toutefois, ce travail restant une étude physique, il faut caractériser le plus fidèlement possible la bactérie, son comportement et l'action mécanique qu'elle produit sur le milieu.

Pour cela, on peut la voir de deux manières complémentaires.

Trajectoires de nage et modèle cinétique

Comme je l'ai développé plus haut, une bactérie présente dans un fluide a un comportement très particulier appelé nage en *run and tumble*. En première approximation, cette nage consiste en une succession de déplacements directionnels et globalement linéaires entrecoupés de modifications aléatoire de la direction de nage, et peut être vue comme une marche aléatoire persistante.

La nage directionnelle est caractérisée par plusieurs paramètres, la vitesse linéaire du nageur U_0 et un temps $t_{run,i}$ qui correspond au temps durant lequel il avance en ligne droite au cours du i$^{\text{ème}}$ *run*. Ce temps est une variable aléatoire Poissonienne dont la moyenne correspond au temps t_{run} défini comme le temps moyen de *run* d'un nageur [46].

Au terme de chaque *run* se produit alors un *tumble* qui consiste à réorienter le nageur selon un angle solide aléatoire Ω. Celui-ci peut-être décomposé selon la forme classique (φ, θ), avec φ l'angle azimutal et θ l'angle d'élévation pris dans le repère du *run* précédent du nageur. Ainsi, φ représente la projection de l'angle solide Ω dans le plan normal à la direction de nage antérieur, et θ sa projection dans le plan tangentiel, comme présenté sur la figure 1.5.

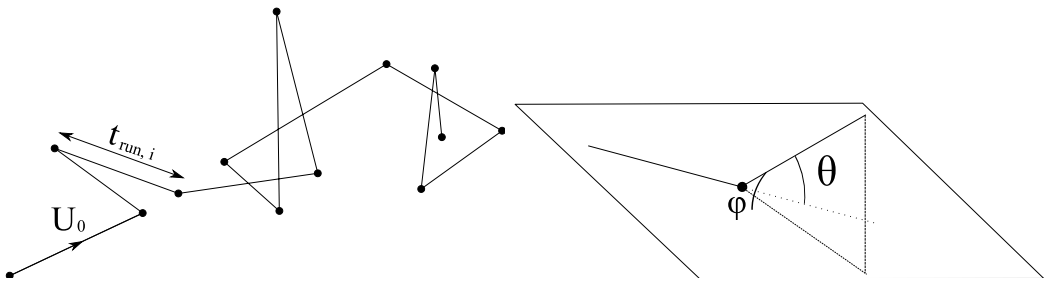


FIGURE 1.5 – À gauche : schéma d'un marche aléatoire de paramètres U_0 et $t_{run,i}$. À droite : réorientation d'un nageur selon un angle solide $\Omega(\varphi, \theta)$.

La réorientation selon l'angle φ est peu intéressante car, en dehors d'un possible biais imposé par le milieu environnant, celle-ci est purement uniforme, ce qui donne que $p(\varphi) = {}^1/_{2\pi}$. En effet, la bactérie E. Coli ne possède pas les capteurs nécessaires pour s'orienter activement par rapport aux possibles champs présents autour d'elle comme les champs de pesanteurs ou magnétiques, contrairement à d'autres espèces comme certaines bactéries magnétotactiques. De plus, E. Coli subissant une rotation constante selon cet direction en raison du mode de fonctionnement de son système moteur, elle n'a donc *a priori* aucun moyen de contrôle direct sur cette composante de sa réorientation.

En revanche, la loi de probabilité de réorientation de E. Coli selon l'angle θ est moins immédiate. Plusieurs équipes de recherche ont étudié ce phénomène et des points subtils en sont ressortis. Dans son travail sur le mouvement aléatoire des nageurs biologiques, H.C.Berg a mesuré expérimentalement cet angle lors de *tumble* de bactéries E. Coli K12 [8–10].

À partir de l'observation en trois dimensions de 1200 évènements de *tumble* actif de cette bactérie, il a tiré une distribution des réorientations qu'il présente sous la forme d'une courbe :

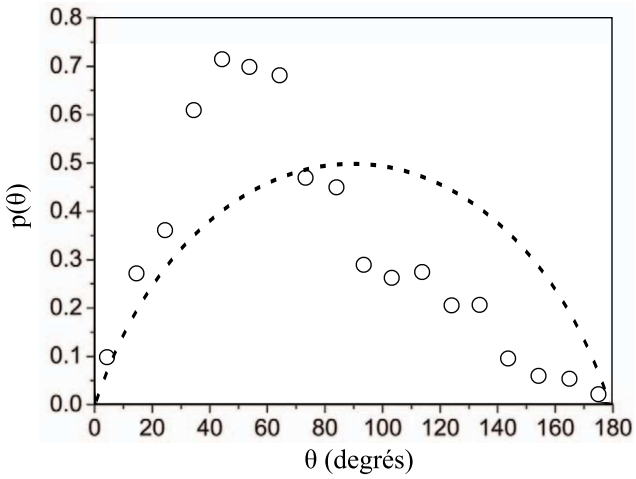


FIGURE 1.6 – Distribution de l'angle en sortie de *tumble* basé sur les résultats de Berg. Cercles : résultats expérimentaux [8]. Pointillés : courbe correspondant à une réorientation isotrope dans l'espace ($p(\theta) = {}^1\!/_2 \sin\theta$).

De ces résultats, il sort deux grandes informations. La première est la réorientation n'est pas isotrope. Lors d'un *tumble* actif, une E. Coli effectue un angle moyen $\langle\theta\rangle \approx 63^\circ$ avec un écartement typique d'environ 26°. En plus de cette donnée, il a pu extraire de ses expériences le temps moyen que dure un *tumble* : $< t_{tumble} >= 0.14\,\mathrm{s}$.

Il est possible d'analyser ce type de mouvement aléatoire en regardant le déplacement en fonction du temps. Pour cela, il faut prendre en compte la distance $R(t, \Delta t)$ entre les positions d'un nageur entre les instants t et $t + \Delta t$. Sachant que les comportements limites de ce déplacement quadratique moyen sont des comportements de type balistique et diffusifs respectivement aux temps courts devant un temps caractéristique t_c relié au temps de *run* moyen $t_{run} = \langle\langle t_{run,i,n}\rangle_i\rangle_n$, il est possible d'écrire une relation entre $\langle R^2\rangle$ et Δt :

$$\begin{cases} \langle R^2\rangle(\Delta t) &= U_0^2 \Delta t^2 \qquad \Delta t \ll t_c \\ \langle R^2\rangle(\Delta t) &= 6 D_t \Delta t \qquad \Delta t \gg t_c, \end{cases} \tag{1.1}$$

avec D_t le coefficient de diffusion de translation équivalent, et t_c le temps caractéristique de retournement d'un nageur.

Dans le cas de nageurs dont la vitesse U_0 ainsi que le temps caractéristique t_c sont constants dans le temps et dans la population, le coefficient de diffusion D_t se calcule directement à l'aide de ces deux valeurs comme [11] :

$$D_t = \frac{U_0^2 t_c}{3}. \tag{1.2}$$

Ainsi, plus le temps t_c est grand, plus sera élevé, ce qui correspond au fait que le nageur explorera un espace plus grand pour une même distance parcourue. Le facteur $^1/_3$ vient pour corriger la diffusion dans le cas à 3 dimensions. Dans le cas d'une nage en d-dimension, il doit être remplacé par un facteur $^1/_d$.

En s'appuyant sur les travaux de P.S.Lovely [11], Berg assimile la nage des bactéries à une chaine de polymère. Il introduit dans le problème le fait que les longueurs et angles de cette chaine sont des variables aléatoires dont les moyennes valent respectivement $\langle l_{pc} \rangle = U_0 t_{run}$ et $\theta_{pc} = \langle \theta \rangle$ et que le temps de *run* suit une loi Poissonienne. Il montre alors qu'il est possible d'écrire le coefficient de diffusion de translation comme :

$$\begin{aligned} D_t &= \frac{U_0^2 t_{run}}{3(1 - \langle \cos\theta \rangle)} \\ &= \frac{U_0^2}{6 d_r}, \end{aligned} \tag{1.3}$$

où $\langle \cos\theta \rangle$ est la valeur moyenne du cosinus de l'angle de réorientation des nageurs lors d'un *tumble* et d_r le coefficient de diffusion rotationnelle de la bactérie au cours de sa nage. Ce qui donne l'expression suivante pour t_c :

$$\begin{aligned} t_c &= \frac{t_{run}}{1 - \langle \cos\theta \rangle} \\ &= \frac{1}{2 d_r}. \end{aligned} \tag{1.4}$$

Ce modèle considère donc que les changements de directions sont instantanés, ce qui est une simplification du phénomène étudié. Récemment, l'équipe de A.Buguin [13,15] s'est emparée de la question dans le but de comprendre la raison d'une telle distribution. Pour cela, ils se sont penché sur le *tumble* en lui même et l'ont décortiqué afin de sortir de cette vision d'un *tumble* instantané dont la distribution d'angle est arrêtée.

Ils ont décidé de modéliser la dynamique de tumble comme une diffusion de rotation d'une particule Brownienne. Ainsi, en prenant $t_{tum} = 0$ comme la fin du *run* précédent et $\theta = 0$ comme orientation à ce moment là, il est possible de définir une loi $p(\theta, \phi, t_{tum})$, dont la valeur à $t_{tum} = 0$ s'écrit $p(\theta, \varphi, t_{tum}) = \delta(\theta)$, qui défini la probabilité pour que le nageur soit orienté selon un angle solide $\Omega(\theta, \varphi)$ à l'instant t_{tum}.

Cette probabilité doit alors suivre l'équivalent rotationnel de la loi de Fick translationnelle [47] :

$$\frac{\partial p}{\partial t_{tum}} = D_r \nabla^2 p. \tag{1.5}$$

Cette loi permet d'introduire le coefficient de diffusion de rotation au cours d'un *tumble* actif D_r qui s'exprime en $\mathrm{rad}^2\,\mathrm{s}^{-1}$ [48].

Étant donnée la condition initiale $p(\theta, \varphi, t_{tum} = 0) = \delta(\theta)$, la solution se développe selon des harmoniques sphériques [49] :

$$p(\theta, t_{tum}) = \sum_{l=0}^{\infty} \frac{2l+1}{2} e^{-D_r l(l+1) t_{tum}} P_l(\cos\theta) \sin\theta, \tag{1.6}$$

avec P_l le polynôme de Legendre d'ordre l.

Il est alors possible de mesurer une fonction de corrélation afin de déterminer la désorientation d'un nageur $\langle \cos\theta \rangle(t_{tum})$. En introduisant la loi de probabilité calculée précédemment dans cette corrélation, ils trouvent le résultat :

$$\langle \cos\theta \rangle(t_{tum}) = e^{-2D_r t_{tum}}. \tag{1.7}$$

Ce résultat montre que plus le *tumble* est long, plus la réorientation est isotrope, jusqu'au point où, t_{tum} devenant très grand devant $1/2D_r$, la corrélation soit nulle, ce qui atteste d'une réorientation totalement uniforme dans l'espace.

En introduisant ce résultat ce résultat dans l'équation de Berg (1.4), et en faisant une approximation au premier ordre, ils écrivent la relation suivante :

$$D_t \approx \frac{U_0^2 t_{run}}{6 D_r t_{tum}}. \tag{1.8}$$

Ce qui donne l'expression pour t_c :

$$t_c \approx \frac{t_{run}}{2 D_r t_{tum}}. \tag{1.9}$$

On voit que les interprétations de Berg [9] et de Saragosti [15] de ce mouvement bactérien sont liées car elles décrivent un même phénomène de diffusion rotationnelle, la principale différence provenant de l'échelle de temps sur laquelle il est considéré.

Influence du couple Oxygène/L-Serine sur la nage

Escherichia Coli a besoin de composés chimiques extérieurs pour maintenir son activité pour la durée d'une expérience, le premier d'entre eux étant l'oxygène. C.Douarche a mis en évidence dans un de ses travaux l'importance de l'oxygène sur le comportement de la souche *RP437* de E. Coli, ainsi que celui d'un autre composé, la L-Serine, qui permet de maintenir l'activité de E. Coli en l'absence d'oxygène sans que celle-ci ne devienne anaérobique.

Dans leurs expériences, ils ont observé la dépendance de la diffusion des bactéries, de leur vitesse, ainsi que du niveau d'oxygène présent en solution avec le temps écoulé depuis le scellement de l'échantillon pour une concentration en bactéries de $n = 3 \times 10^{11}\,\mathrm{L}^{-1}$. Dans un premier temps, l'étude a porté sur des bactéries placées dans un milieu minimal composé principalement d'un tampon phosphate, de L-lactate de sodium ainsi que de L-méthionine ayant la même fonction que celui que nous utilisons, étude dont les résultats sont présentés dans la figure 1.7.

La première chose que l'on remarque sur ces courbes est la présence d'un plateau d'activité pendant environ 30 min bien que le taux d'oxygène diminue.

Lorsque l'oxygène devient rare dans la solution minimale qui sert à suspendre les bactéries, l'activité chute brutalement. Le coefficient de diffusion atteint une valeur de l'ordre de celui attendu pour des particules browniennes de la taille des E. Coli dans ce milieu, soit $D_b \approx 2.18.10^{-13}\,\mathrm{m^2\,s^{-1}}$

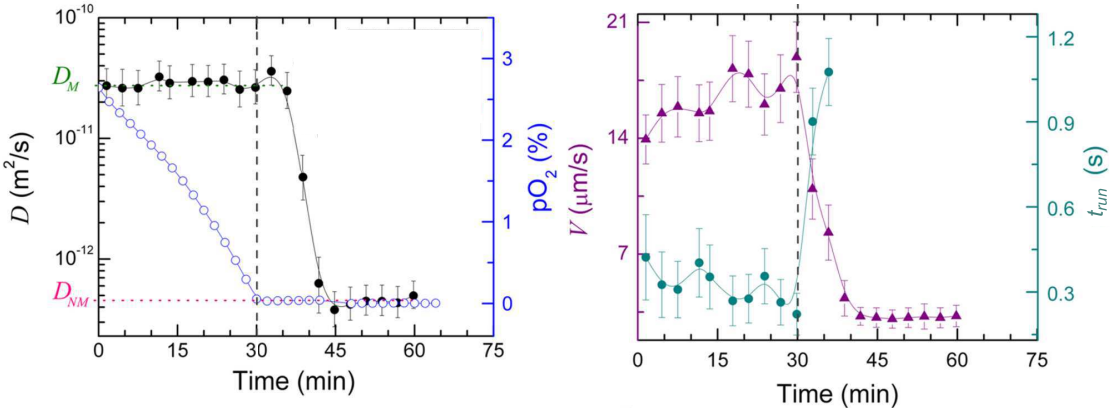


FIGURE 1.7 – Diffusivité D, vitesse de nage V, temps caractéristique t_{run} et taux d'oxygène en fonction du temps pour une même expérience. À gauche : diffusion de E. Coli RP437 et taux d'oxygène présent en solution en fonction du temps. À droite : vitesse de nage, et temps caractéristique t_{run} en fonction du temps [12].

Concernant la vitesse, la diminution brutale de celle-ci une fois l'oxygène trop rare est très proche de celle que nous avons obtenue, ce qui semble aller dans le sens d'un comportement générique. Dans le cas du temps de run τ_{run}, ils observent une augmentation très violente lorsque l'oxygène vient à manquer.

Dans un second temps, cette équipe a réalisé des expérience dans leur milieu auquel a été ajouté de la L-Serine ou de la Threonine à une concentration de $250\,mM$, le second servant de témoin. Ils ont alors observé la diffusion des E. Coli dans cette situation

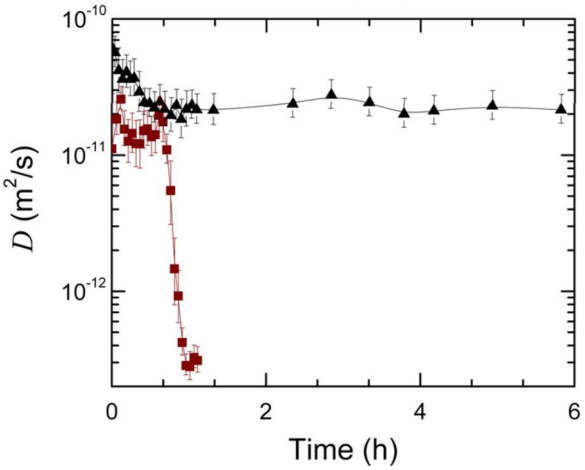


FIGURE 1.8 – Mesure de la diffusion de E. Coli RP437 en fonction du temps et en présence de L-Serine (triangles noirs) ou de Threonine (carrés rouges) [12].

Plusieurs choses sont visibles dans cette figures.

Pour commencer, la threonine semble avoir un effet limité, voire quasi nul, comme cela était prévu *a priori*. Au contraire, la présence de L-Serine semble avoir plusieurs effet dignes d'intérêt.

Tout d'abord, la diffusivité est plus grande à t=0 que dans le cas sans L-Serine. Le coefficient D est ainsi multiplié par deux et passe de $2.8.10^{-11}\,\text{m}^2\,\text{s}^{-1}$ à $6.10^{-11}\,\text{m}^2\,\text{s}^{-1}$. Ensuite, on voit que les bactéries conservent une diffusivité prononcée, environ $2.10^{-11}\,\text{m}^2\,\text{s}^{-1}$, en l'absence d'oxygène pendant plusieurs heures.

Modèle hydrodynamique

Une chose importante pour comprendre la physique de cette particule est de voir qu'une bactérie est un nageur *autonome*. Cela signifie que le déplacement de cette particule n'est en aucun cas dû à une force extérieure. Pour se mouvoir, cette particule produit donc sa propre force en prélevant de l'énergie dans le fluide à l'échelle locale via des processus chimiques.

De plus, étant données sa taille et sa vitesse, le nombre de Reynolds correspondant à sa dynamique de nage est très faible que ce soit durant les *run* ou les *tumble*. Ces évènements se produisent donc dans le régime de Stockes qui est intrinsèquement réversible temporellement. Cet état de fait à amené Purcell [50] à étudier les modes de propulsions viables dans ce régime. Il en a déduit qu'une nage réversible temporellement est inefficace (nage de la coquille Saint-Jacques), ce qui oblige le nageur à utiliser une technique brisant la symétrie temporelle. Escherichia Coli, et une grande partie des bactéries, utilise la chiralité de ses flagelles afin d'obtenir par leurs rotation un mouvement complètement irréversible, et donc très efficace. En considérant une vitesse de nage $U_0 = 20\,\mu\text{m/s}$, une largeur de bactérie $l = 1\,\mu\text{m}$, une masse volumique $\rho = 10^3\,\text{kg/m}^3$ et une viscosité $\eta = 10^{-3}\text{mPa s}$, il ressort $Re = \frac{\rho U_0 l}{\eta} = 2.10^{-5}$.

Tout ces éléments permettent de dire que la particule ne transfère ni force, ni couple net au fluide. Et donc que, en champ lointain, il est possible de la considérer comme un dipôle de force qui crée un champ hydrodynamique autour de lui qui explique les effets des particules sur le milieu ainsi que les interactions entre les particules, champ dont l'intensité décroit en d^{-4} avec d la distance par rapport à la particule le générant.

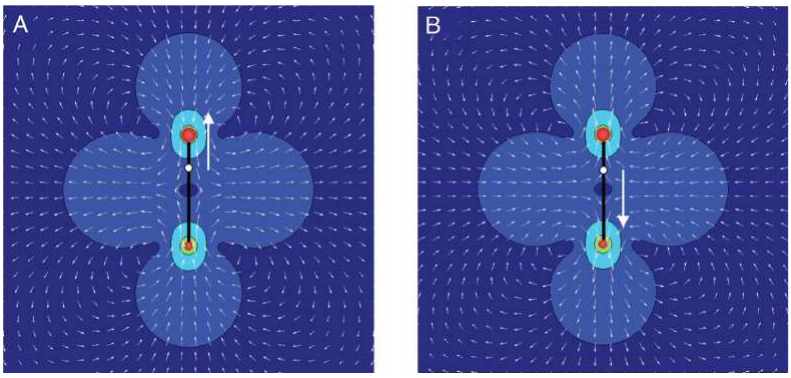


FIGURE 1.9 – Schémas de dipôles de force et des champs induits [20]. A) Cas d'un puller, B) Cas d'un pusher

Une fois ce concept pris en compte, il apparait que le dipôle peut être positif, négatif, ou nul. Ce changement de signe va modifier le sens du champ hydrodynamique induit, et donc avoir un impact important sur les effets physiques qui nous intéressent. Ce signe correspond à la position du système moteur par rapport au sens du déplacement. Ainsi, un dipôle négatif correspond à une particule qui est tractée par son système moteur (Chlamydomonas Reinhardtii [21]), un dipôle positif correspond à une particule qui est propulsée, comme E. Coli.

Dans le reste de ce travail, nous ne considèreront plus que le cas des dipôles de forces positifs, et donc des *pushers*.

1.2 Impact de son environnement

1.2.1 Interaction nageur-surface

La présence d'un champ hydrodynamique créé par les nageurs induit de nombreuses propriétés, dont la principale est l'existence d'interactions à longue portée, interactions qui peuvent être à l'origine d'effets. L'observation directe a montrée que, même dans le cas de surfaces traitées spécifiquement pour empêcher toute adhésion, la concentration en bactéries est plus élevée aux environs des parois que dans le volume. Cet effet peut la faire monter d'un facteur 2 à 3 par rapport à l'intérieur de l'échantillon considéré.

Même sans prendre en compte les possibles forces de contact entre un nageurs et une surface, il existe une interaction à distance entre eux. En effet, lorsque l'on regarde le champ hydrodynamique produit par une bactérie — prenons ici le cas qui nous intéresse, à savoir les *pushers* — on peut voir que sur ses bords, la bactérie "pompe" du fluide pour le rejeter devant et derrière elle (Fig 1.9 page 28). Ainsi, si l'on place un objet dans l'axe de cette aspiration, l'objet sera attiré vers le nageur. Mais dans le cas d'une surface immobile, si la force est suffisante, la bactérie sera attirée par la surface et, grâce à aux symétries du champ, sa direction de nage sera parallèle à la surface.

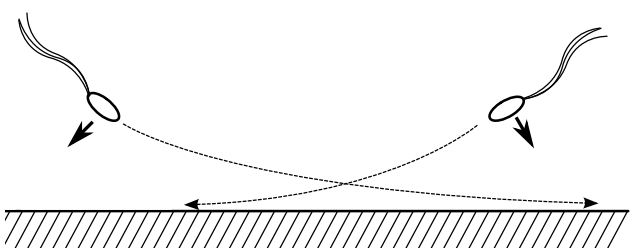


FIGURE 1.10 – Schéma de l'absorption des bactéries aux parois.

1.2.2 Interactions avec des particules passives

Une première approche de ce problème, au sein de notre groupe, a été de regarder l'impact de la présence de nageurs sur des particules passives, comme des billes [51,52]. En retirant à l'un des protagonistes la capacité à créer activement un champ hydrodynamique, il est possible de mesurer indirectement les interactions dues à des nageurs solitaire, et non des paires de nageurs. Pour cela, des bactéries et des billes de latex de diamètre $d = 1 - 2\,\mu\text{m}$ placées dans un milieu dont la densité est inférieur à celles-ci ce qui a permis de les faire sédimenter et de regarder le phénomène à 2 dimensions.

Le résultat obtenu a montré que la présence de nageurs augmente la diffusivité des billes. Pour caractériser cette augmentation, un paramètre décrivant l'activité des nageurs a été introduit, le *flux actif* J_a qui se calcule comme :

$$J_A = n_A U_0 \tag{1.10}$$

avec n_A la concentration en bactérie et U_0 la vitesse moyenne de ces bactéries.

Il s'agit donc d'une mesure de l'activité mise à disposition pour augmenter la diffusion des traceurs passifs. Il vient donc que pour une activité nulle, le coefficient de diffusion mesuré doit correspondre au coefficient classique. L'ajout d'activité dans la suspension ne se substituant pas

au mouvement brownien, mais ne pouvant que produire une diffusion supplémentaire, le coefficient final doit être de la forme :

$$D = D_B + \beta J_A, \tag{1.11}$$

avec D_B le coefficient brownien, et β un facteur décrivant le transfert de moment dû à l'activité d'un unique nageur.

De plus, à priori, si les nageurs sont identiques, modifier la taille des traceurs passifs ne devrait pas changer le facteur β. Donc seul le coefficient brownien devrait être modifier.

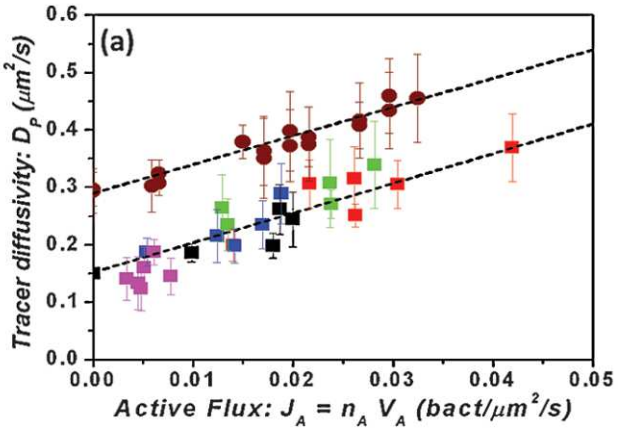


FIGURE 1.11 – Coefficient de diffusion en fonction du flux actif. Carrés : $d = 2\,\mu m$, cercles : $d = 1\,\mu m$ [51]. Pointillés : courbes théoriques.

Les résultats semblent valider la théorie développée, et donnent un coefficient β, dans le cas des bactéries de $\beta = 5\,\mu m^4 = (1.5\,\mu m)^4$.

1.2.3 Interactions nageur-nageur

Les interactions résultant du champ hydrodynamique créé par un nageur ont tendance à aligner les *pushers* parallèlement à l'objet avec lequel ils interagissent, comme dans le cas des surfaces vu plus haut dans ce document. Lorsque les champs de deux *pushers* se recouvrent suffisamment pour que la force ressentie soit de l'ordre de la force motrice des nageurs, il y a interaction entre eux.

Plusieurs théories et modèles [26,53] considère que celle-ci peuvent être de deux types suivant le signe des dipôles de forces considérés.

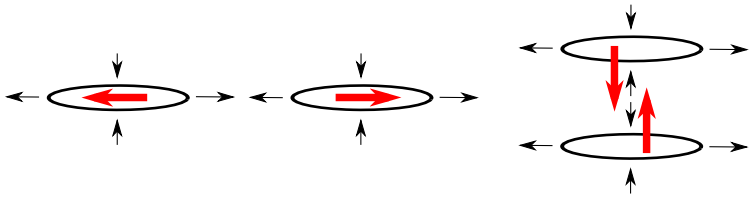


FIGURE 1.12 – Schéma d'interaction entre deux *pushers*. À gauche : cas d'une répulsion. À droite : cas d'une attraction. Les flèches noires représentent les champs hydrodynamiques produits par les nageurs, les flèches rouge les forces ressenties par les nageurs

Lorsque les champs s'opposent, les nageurs se repoussent et ont tendance à aller dans des

direction différentes, alors que dans le cas inverse, les nageurs s'attirent l'un l'autre et ont tendance à s'aligner. Il en découle que lors de la nage libre dans un fluide, les *pushers* ont tendance à s'aligner sur les flancs, alors que les *pullers* eux s'attirent les uns derrière les autres.

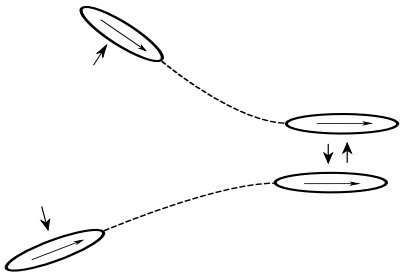


FIGURE 1.13 – Alignement entre deux *pushers*

Ces interactions par paires peuvent alors produire des mouvements collectifs dans lesquels de nombreux nageurs s'alignent et nagent dans la même direction. Certains modèles prévoient également la formation de *clusters* qui consistent en le regroupement dans certaines régions de l'espace des nageurs par les interactions entre eux.

Un moyen de mesurer ces mouvements collectifs est de regarder les corrélations de vitesse ainsi que la longueur caractéristique de ces corrélations. Plusieurs travaux numériques [23, 26] ou expérimentaux [29] ont été effectués ces dernières années. La plupart d'entre eux montrent une variation de cette longueur de corrélation avec la concentration non-linéaire.

Une étude numérique de ce problème a été publiée par D.Saintillan [26]. Il place des nageurs allongés dans un volume avec des conditions aux limites périodiques et regarde en fonction de la fraction de volume exclu les longueurs de corrélation de la vitesse de nage des particules.

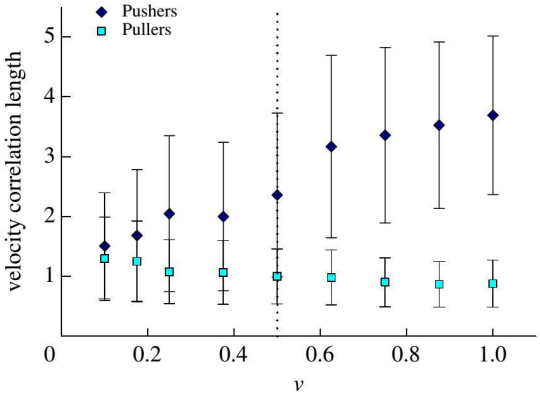


FIGURE 1.14 – Longueur de corrélation des vitesses en fonction de la fraction du volume exclu [26].

Il montre alors que, dans le cas des *pushers*, cette longueur de corrélation augmente avec la concentration. Cependant, dans une certaine gamme de fraction volumique, la courbe semble changer de comportement.

En se basant sur d'autres marqueurs tels que la vitesse moyenne de nage, il en déduit qu'il existe une valeur seuil de concentration à partir de laquelle le comportement des nageurs change radicalement.

Dans une étude expérimentale utilisant des Bacillus Subtilis, un autre type de bactérie *pusher*, A.Sokolov [29] mesure la même longueur de corrélation des vitesses.

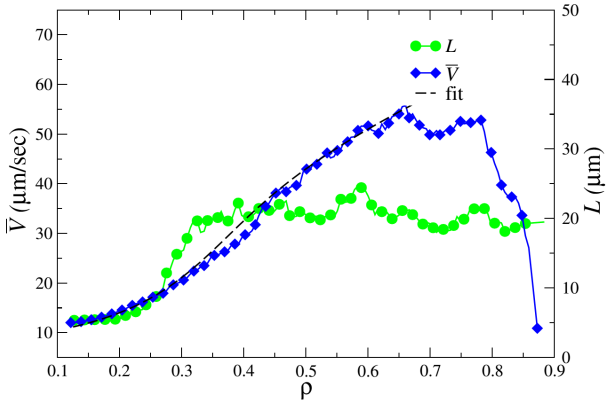


FIGURE 1.15 – Longueur de corrélation des vitesses et vitesse moyenne en fonction de la fraction volumique [29].

Il montre l'existence d'une valeur seuil en concentration à partir de laquelle la longueur de corrélation augmente radicalement, puis se stabilise sur une autre valeur.

Outre ces interactions directes entre objets solides, les champs hydrodynamiques créés par les bactéries peut également affecter et être affecté par des champs de vitesse induits par des écoulements globaux imposés au système.

1.2.4 Écoulements cisaillant

Le cœur d'une part non-négligeable de nos expériences est la présence d'un écoulement imposé à la suspension étudiée, il faut donc prendre en compte tous les effets physiques qui peuvent découler de cette situation.

Écoulement de Couette

Lors de l'écoulement d'un fluide, celui-ci est soumis à ce que l'on appelle le taux de cisaillement $\dot{\gamma}$. Le cisaillement est un taux de déformation de la matière correspondant au déplacement des couches de ce matériau parallèlement les unes des autres. L'écoulement permettant d'avoir un taux de cisaillement constant dans l'espace se nomme l'écoulement de Couette. Le profil de vitesse correspondant s'écrit comme $v(z) = zV_{max}/h$ avec V_{max} la vitesse maximum du fluide et h la taille caractéristique de l'écoulement. Le taux de cisaillement s'écrit alors :

$$\begin{aligned}\dot{\gamma} &= \frac{\partial \gamma}{\partial t} \\ &= \frac{1}{h}\frac{\partial \delta x}{\partial t} \\ &= \frac{\partial v}{\partial z},\end{aligned}$$

d'où le fait qu'il soit également appelé *gradient de vitesse*.

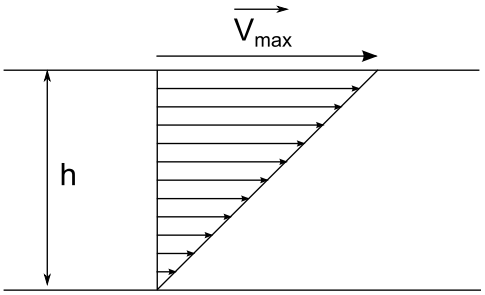


FIGURE 1.16 – Schéma d'un écoulement de Couette.

Écoulements de Poiseuille plan et rectangulaire

Dans ce travail, il sera principalement question d'écoulements en systèmes microfluidiques, et donc d'écoulements rectangulaires.

Dans une première approximation, nous nous placerons dans une configuration dite de Hele-Shaw. Il s'agit d'une géométrie simplifiée où le liquide est emprisonné entre deux plaques infiniment longues et larges.

Le fluide est alors poussé dans une direction parallèle aux plaques et, à cause des conditions aux limites, il prendra un profil parabolique de la forme :

$$v(z) = 4V_{max}\frac{z(h-z)}{h^2}, \tag{1.12}$$

où V_{max} s'écrit comme :

$$V_{max} = -\frac{1}{8}\frac{h^2}{\eta}\frac{\partial p}{\partial x}. \tag{1.13}$$

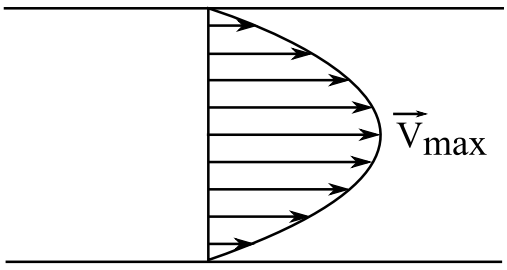


FIGURE 1.17 – Schéma d'un écoulement de Poiseuille en cellule de Hele-Shaw.

Dans la pratique, une telle situation est impossible. Tout canal doit être fermé dans au moins deux directions. On parle alors d'écoulement rectangulaire défini par une largeur w.

Cet écoulement est principalement caractérisé par le rapport d'aspect w/h de la section du canal. Plus il est grand, plus le profil se rapproche de celui d'un écoulement de Poiseuille plan. Mais dans tout les cas, près des parois verticales et sur une épaisseur de l'ordre de la hauteur du canal (dans l'hypothèse d'un canal plus large que haut), la vitesse diminue jusqu'à atteindre la condition de raccordement à la parois et donc modifie le profil complet.

En revanche, si l'on reste dans une zone raisonnablement lointaine des parois verticales, il est possible de se placer dans l'hypothèse d'un écoulement de type parabolique dont la vitesse

maximum est modifiée selon un rapport dépendant du rapport d'aspect et calculé via des séries de Fourier [54].

On passe ainsi d'une vitesse dans une géométrie de Poiseuille s'écrivant comme :

$$V_{max} = \frac{3}{2} v_m, \tag{1.14}$$

à une vitesse maximale s'écrivant, pour un rapport d'aspect de 6, comme :

$$\begin{aligned} V_{max} &\approx 1.67 v_m \\ &\approx 1.67 \frac{Q}{hw} \end{aligned} \tag{1.15}$$

dans le cas d'un rapport d'aspect de 6, ce qui est le rapport d'aspect des canaux utilisés dans nos travaux, avec v_m la vitesse moyenne dans le canal, Q le débit imposé et, w la largeur du canal.

Bâtonnets cisaillés

Une question importante pour cette étude est celle du comportement d'une particule dans un écoulement cisaillant, les bactéries étant elles-même des particules. Il est indéniable que leur activité joue un rôle non négligeable. Cependant, une première approche est de savoir si

Le problème est le suivant. Une particule ponctuelle prise dans un écoulement cisaillant ne voit qu'une seule vitesse, celle de l'endroit où elle se trouve.

En revanche, dès lors que l'on donne une taille fini à cette particule, elle couvrira une partie du profil de vitesse, et donc sera affectée par plusieurs vitesses différentes.

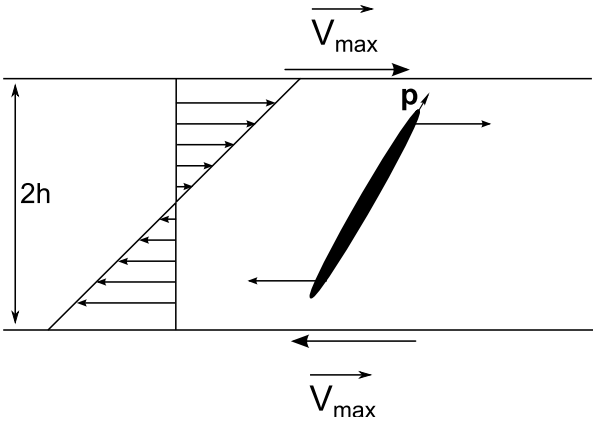


FIGURE 1.18 – Bâtonnet soumis à un cisaillement

Dans cette configuration, il est clairement visible qu'une particule soumise à un cisaillement, ici de type Couette, subit un gradient de vitesse sur sa longueur. Il en résulte qu'elle effectue une rotation autour de son centre de gravité, appelée *orbite de Jeffery* du nom de celui qui l'a étudié en 1922 [55].

Dans le cas d'ellipsoïdes, il en tire une équation sur le vecteur orientation $\mathbf{p}$ de la particule qui s'écrit comme :

$$\dot{\mathbf{p}} = \overline{\overline{\Omega}}\mathbf{p} + \frac{r^2 - 1}{r^2 + 1}\left[\overline{\overline{E}} - \mathbf{p}\left(\mathbf{p} \cdot \overline{\overline{E}} \cdot \mathbf{p}\right)\right], \tag{1.16}$$

avec $\overline{\overline{\Omega}}$ et $\overline{\overline{E}}$ respectivement les tenseurs rotationnel et élongationnel de l'écoulement, et r le rapport d'aspect de la particule.

Un point important de ce résultat est que la vitesse de rotation de l'ellipsoïde sous cisaillement ne dépend pas de sa taille, mais uniquement de son rapport d'aspect.

À partir de ce résultat, il a été montré [34,36] qu'une particule allongée, en présence d'un bruit angulaire, a une direction préférentielle dont la composante normale à l'écoulement est non-nulle.

Rhéotaxie

La chiralité des flagelles de E. Coli introduit un autre effet du cisaillement sur les bactéries, phénomène décrit par l'équipe de R.Stocker [56,57]. Lorsque l'on cisaille un objet chiral, celui-ci subit une force normale au plan du cisaillement. Cette force est due à la différence de vitesse sur l'objet et à l'interaction du fluide sur cet objet.

Si l'on impose un écoulement de Couette selon l'axe x dont le cisaillement s'effectue selon l'axe y, on obtient, pour un hélicoïde qui suit le sens trigonométrique, une force résultante selon l'axe z.

Sur la figure suivante est représentée une vue de dessus d'un hélicoïde simplifié. Les segments rouges représentent les parties de l'hélicoïde situées en haut, c'est à dire soumises à des vitesses élevées, et les segments noirs représentent les parties situées en bas, et donc soumises à des vitesses faibles.

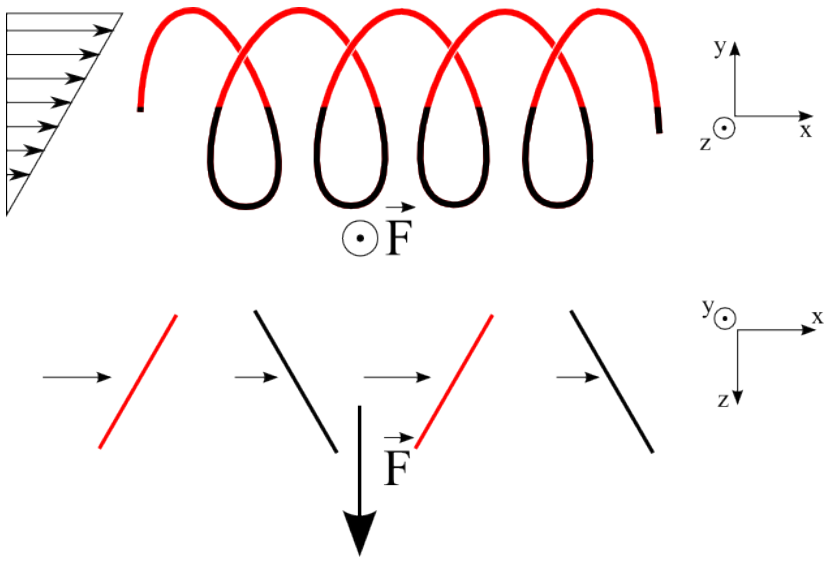


FIGURE 1.19 – Schéma de la rhéotaxie dans le cas de particules chirales simples. En haut : vue générale. En bas : schéma explicatif, vue de dessus simplifiée.

Étant donnée la géométrie de l'hélicoïde, on voit que, dans le cas considéré dans cette figure, la force résultante $\overrightarrow{F}$ est selon à l'axe z.

Dans le cas des bactéries, le corps induit un déplacement du centre de masse de l'objet par rapport au flagelle seul. La force due au cisaillement est donc excentrée par rapport à celui-ci, ce qui entraine une rotation de la particule autour de ce centre de masse, et donc, dans le cas de nageurs, de la direction de nage de la bactérie.

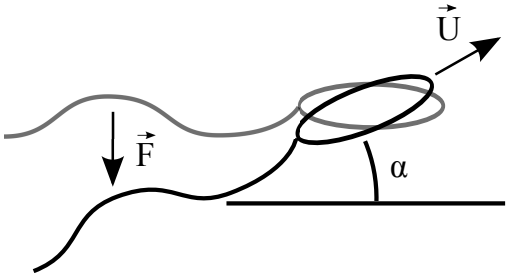


FIGURE 1.20 – Schéma explicatif de la rhéotaxie dans le cas de E. Coli.

On voit que la direction de nage de la bactérie a alors une composante négative selon l'axe z. C'est ce que l'équipe de R.Stocker appelle la rhéotaxie.

Selon leur modèle, ainsi que des expériences qu'ils ont conduits, l'intensité de cet effet est directement proportionnel au gradient de vitesse ressenti par le nageur, ce qui donne le résultat suivant pour des *Bacillus Subtillis*, un autre type de *pusher*.

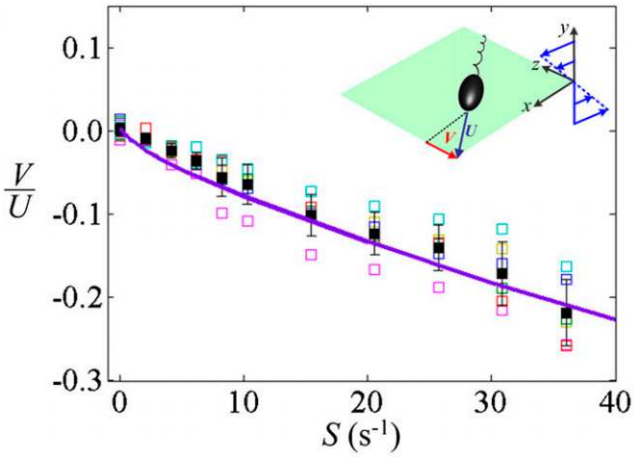


FIGURE 1.21 – Vitesse *rhéotactique* V/U en fonction du taux de cisaillement S pour des *Bacillus Subtillis* ($U \approx 55\,\mu m/s$) et modèle théorique pour des conditions similaires.

On voit que la vitesse *rhéotactique*, c'est à dire la projection de la vitesse selon l'axe z, s'amplifie quasi-linéairement avec le taux de cisaillement S.

Activité et viscosité

À cet effet purement passif de l'écoulement sur les particules se surajoute le caractère actif des particules en questions.

Cette activité ne modifie que très peu l'effet du cisaillement sur la particule. Celle-ci a la même propension que la particule passive et la même tendance à s'aligner avec l'axe élongationnel du cisaillement. En revanche, comme il a été dit plus haut, l'activité de la particule crée toujours autour de celle-ci un champ hydrodynamique qui interfère avec le champ de vitesse dû au cisaillement. Ainsi la particule a un impact sur le cisaillement en cours qui modifie incontestablement les propriété du fluide.

L'un des premiers articles à mettre en évidence ce comportement de nageurs cisaillés est celui de Y.Hatwalne (2004) [34] dans lequel elle prédit un effet direct de la présence de micronageurs

sur la viscosité de l'ensemble. Ainsi, elle fait un parallèle entre les nageurs et les particules passives en considérant un point très précis.

Lorsque une particule passive se trouve le long de l'axe élongationnel, le champ de vitesse qui l'entoure tente de l'étirer sur sa longueur. La particule résiste donc en imposant un dipôle de force contraire qui lui permet de conserver sa forme. Sa contribution au champ est donc opposée au cisaillement. De plus, comme elle a tendance a rester plus de temps dans cette position que dans n'importe quelle autre, la contribution totale de la particule va dans ce même sens. Cela explique qu'une suspension passive d'ellipsoïdes a une viscosité plus forte qu'une suspension de sphères à faible cisaillement.

Dans le cas de particules active, en plus de la contribution passive s'ajoute le champ dû à l'activité des nageurs. Or, comme nous l'avons vu plus tôt, il existe en champ lointain deux types de champs actif possibles, le champ des *pushers* et celui des *pullers*.

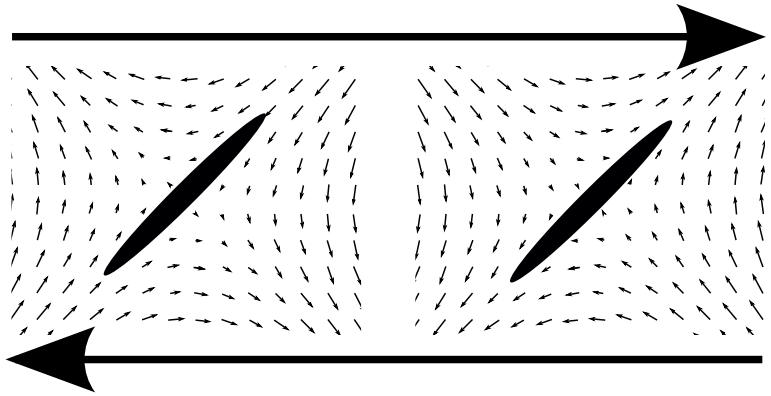


FIGURE 1.22 – Schéma simplifié de la superposition des champs hydrodynamiques de cisaillement (grandes flèches) et actif (petites flèches). À gauche : cas d'un *puller*, à droite : cas d'un *pusher*.

Dans le cas des *pullers*, le champ hydrodynamique dû à l'activité s'oppose au champ dû au cisaillement. En ressort que leur présence dans un fluide contribue à augmenter la viscosité globale de la suspension.

Dans le cas de *pushers*, cas des E. Coli, le champ induit va dans le même sens que celui du cisaillement. Par leur présence, ces nageurs contribuent positivement au cisaillement, et donc, abaissent la viscosité de la suspension.

Par ce raisonnement relativement simple découle cette conclusion contre-intuitive qui dit que l'ajout d'une phase solide active dans un liquide permet de diminuer la viscosité de la suspension finale par rapport au fluide seul.

Cependant, dans tout ceci, il n'a pas été question d'une des caractéristiques principales des nageurs biologique, le *tumble*. En effet, celui-ci incorpore du bruit dans ce problème, au même titre que la diffusion purement brownienne.

Une manière simple de le faire est d'introduire deux paramètres représentant ces sources d'aléatoire, une diffusion de rotation d_r et un temps de *run* τ. Le premier représente la contribution brownienne angulaire et le second représente la contribution active. Plus d_r est grand, et plus la partie rectiligne de la trajectoire sera bruitée, et plus τ est petit, plus les *run* seront court, donc plus le nageur changera de direction.

Pour définir l'importance de ces paramètres dans le problème, il faut introduire un temps caractéristique défini comme :

$$t_c = \frac{\pi \mu L^3}{6|\sigma_0| \log\left(\frac{2}{\epsilon}\right)}, \tag{1.17}$$

où μ est la viscosité dynamique du fluide porteur, L la longueur du nageur, σ_0 la valeur du dipôle de force, et ϵ est le rapport d'aspect inverse du nageur.

Ce temps caractéristique peut être interprété comme étant le temps nécessaire au nageur pour parcourir sa propre longueur. On peut ainsi définir les grandeurs adimensionnées $\tilde{\dot{\gamma}}$, $\tilde{d_r}$, et $\tilde{\tau}$.

Le modèle introduit dans cet article défini, dans la limite diluée, la contribution des particules à la viscosité comme :

$$\eta_c = \eta_p \eta_0 n \frac{\pi}{6} \frac{L^3}{\log\left(\frac{2}{\epsilon}\right)} \tag{1.18}$$

avec n la concentration en nageurs, η_0 la viscosité du fluide porteur, et η_p un facteur numérique représentant la contribution active due à un nageur.

Il décrit une variation de viscosité linéaire avec la concentration, ce qui va bien dans le sens de la limite diluée. La contribution est également linéaire avec la viscosité du fluide porteur, de la même manière que dans le cas de la formule d'Einstein pour les suspensions passives de sphères dures.

On peut alors tracer ce facteur en fonction du taux de cisaillement $\tilde{\dot{\gamma}}$ sur deux courbes, l'une montrant sa variation avec $\tilde{d_r}$, et l'autre avec $\tilde{\tau}$. Pour ces résultats, ne sera considérée que la limite des corps infiniment allongés.

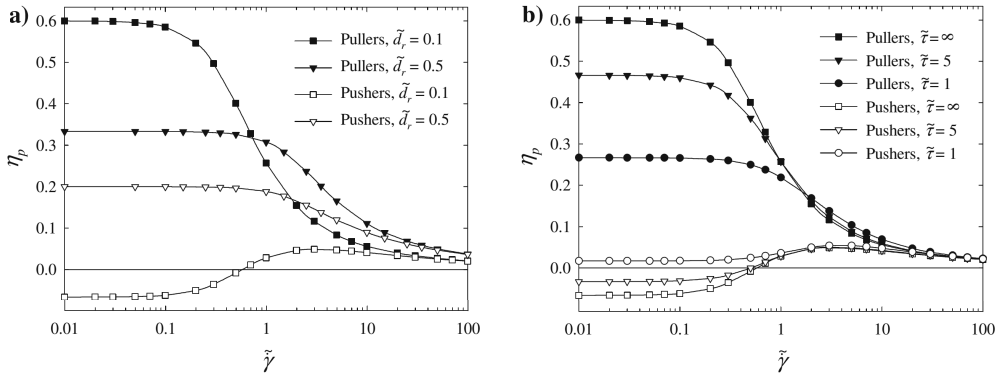


FIGURE 1.23 – Contribution des nageurs à la viscosité issue du modèle [36], le facteur numérique η_p en fonction de $\tilde{\dot{\gamma}}$ a) $\tau = \infty$, b) $d_r = 0.1$.

Il est visible que, lorsque la nage est relativement directionnelle, l'ajout de *pushers* semble effectivement induire un facteur η_p négatif pour une certaine gamme de taux de cisaillement $\tilde{\dot{\gamma}}$. Or si l'on écrit la viscosité finale de la suspension, trouve une formulation proche de celle d'Einstein dans sa forme puisqu'elle va comme :

$$\eta = \eta_0 + \eta_c = \eta_0 \left(1 + \eta_p \kappa n\right), \tag{1.19}$$

avec

$$\kappa = \frac{\pi}{6} \frac{L^3}{\log\left(\frac{2}{\epsilon}\right)}. \tag{1.20}$$

Il est alors visible que ce facteur négatif implique, pour les faibles taux de cisaillement, une viscosité globale inférieur à la viscosité du fluide porteur. Puis, avec l'augmentation du taux de cisaillement, se produit un changement de comportement, et la partie passive de la contribution devient la plus importante, et ainsi la courbe de viscosité rejoint la courbe pour une suspension purement passive.

Une étude expérimentale de la viscosité d'un *pusher*, *Bacillus Subtilis*, a montrée que, dans le cas de faible taux de cisaillement, la viscosité relative descend en dessous de la viscosité du fluide suspenseur [39]. Celle-ci a été obtenue en mesurant le temps de décroissance d'un vortex induit dans un film de suspension bactérienne au moyen d'une particule magnétique. En parallèle, la même équipe a développé nu algorithme afin d'effectuer des simulations numériques pour la viscosité de suspensions de pushers à faible gradient de vitesse [37].

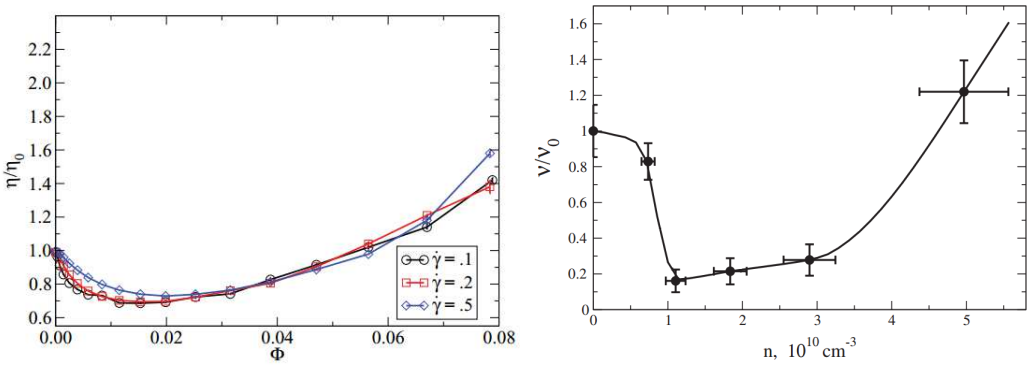


FIGURE 1.24 – Viscosité relative en fonction de la fraction volumique pour des taux de cisaillement faibles. À gauche : simulations numériques [37]. À droite : expérience utilisant des *Bacillus subtilis* [39].

Les expériences de A.Sokolov et les résultats numériques de S.Ryan montrent clairement que la viscosité d'une suspension bactérienne peut descendre en dessous de celle du fluide porteur, et ce pour une gamme assez large de fraction volumique.

Chapitre 2

Caractérisation de l'activité de E. Coli

En nous appuyant sur les travaux de J.Saragosti [13, 15] et de C.Douarche [12] présentés précédemment, nous cherchons dans ce chapitre à définir, mais aussi à contrôler, l'activité de nage des E. Coli que nous utilisons lors de nos expériences. Pour cela, nous sommes partis de l'observation directe sous microscope des trajectoires de ces bactéries afin d'en extraire deux paramètres moyens caractérisant leur nage : la vitesse U_0 et le temps caractéristique de *run* t_c.

2.1 Protocole expérimental et méthodologie d'observation

En rapport avec les conditions d'utilisation des bactéries dans des cellules micro-fluidiques, une question essentielle se pose quant à la reproductibilité des expériences et la quantification des propriétés de nos suspensions bactériennes. À cet effet, nous nous proposons d'étudier l'évolution temporelle de l'activité dans les milieux et conditions utilisés dans nos expériences. Plus précisément nous avons étudié l'influence de la présence de deux composés chimiques : le dioxygène d'une part et la L-Serine d'autre part. La L-sérine est un acide aminé qui a la particularité de pouvoir activer indirectement les capteurs d'oxygène de E. Coli, ce qui permet de maintenir une activité significative en absence d'O_2, sans que la bactérie ne change de mode de comportement et devienne anaérobique. L'intérêt est de voir si l'effet de ce composé pourrait nous servir dans des situations de faible oxygénation.

La préparation de suspensions de E. Coli suit un protocole établi qui a été optimisé pour nos besoins au sein de l'équipe. Afin d'assurer la reproductibilité biologique des nageurs, les échantillons de base de la souche que nous utilisons sont stockés dans un congélateur à -80$^\circ C$ d'où sont issus des échantillons de culture eux-mêmes stockés à -20$^\circ C$. La veille d'une expérience, 10µL de ces échantillons sont prélevés et inoculés dans 15mL de LB, un milieu comprenant les éléments nécessaires à la culture de E. Coli. Après environ 20h sous agitation orbitale à 200 rpm et à 25$^\circ C$, température régulée au moyen d'une armoire thermostatique, les bactéries sont, en majorité, dans un état dit de *baby-runner*, c'est à dire des bactéries uniques qui ont une vitesse de nage élevée, environ 30 µm/s. Elles sont alors prêtes à être utilisées. Cependant, dans la perspective d'utiliser des modèles de suspensions bactériennes bien contrôlés, il nous faut maîtriser la concentration en bactéries, tout d'abord en la mesurant préalablement à l'expérience et en empêchant la division cellulaire une fois la suspension préparée.

Pour établir la concentration de la suspension, nous utilisons un specrophotomètre qui nous

permet de mesurer l'absorption lumineuse, ou densité optique, de la suspension, plus celle-ci est élevée et plus la concentration en bactéries est grande. Une courbe d'étalonnage entre la densité optique et la concentration a ainsi pu être établie. Pour passer d'une concentration à une fraction volumique, la fraction de volume occupée par les bactéries, nous avons choisi de ne considérer que le volume des corps des bactéries. Certains travaux utilisent le volume exclu, c'est à dire le volume de la sphère dont le diamètre correspond à la longueur totale de la bactérie. Cependant, la question de leur longueur effective est complexe car la longueur effective des flagelles n'est pas clairement définie, celles-ci pouvant se plier sous l'action des autres nageurs ou des champs locaux de cisaillement.

Pour contrôler la concentration dans le temps, les bactéries sont transférées depuis leur milieu de culture dans un milieu dit « minimal », le MMA, qui contient les composés chimiques nécessaires à leur survie ainsi qu'au maintien de leur activité de nage, mais reste démuni des nutriments leur permettant de se multiplier. Pour cela, nous utilisons une centrifugeuse *Hettich Universal* réglée sur une accélération de $2370g$. Les bactéries se retrouvent alors au fond du tube en formant un « culot », le but étant de retirer le liquide surnageant, c'est à dire au dessus du culot, pour le remplacer par le MMA. Pour éviter au maximum une sédimentation de la suspension bactérienne, le MMA est préalablement mélangé dans un rapport volumique 1 : 1 à du *Percoll*, une suspension de particules nanométriques. Cette suspension colloïdale a l'avantage de ne pas pouvoir être assimilée par les bactéries, donc de garder une concentration constante avec le temps, et en outre de ne pas provoquer de choc osmotique entre l'intérieur et l'extérieur du corps cellulaire. Le détail de ces opérations est présenté en annexes de ce document.

Quand cela est précisé, de la L-Serine est ajoutée à ce milieu à hauteur de 250 mM, soit $25\,\mathrm{g\,L^{-1}}$. Cette quantité a été choisie pour être compatible avec la durée de nos expérimentations (1-2 heures maximum) et ainsi pouvoir se prémunir des effets du manque de sérine sur l'activité qui pourraient venir s'ajouter à ceux provoqués par l'absence d'oxygène.

Afin de faire varier l'apport en oxygène, nous utilisons deux dispositifs expérimentaux dans lesquels sont introduites les suspensions bactériennes à étudier.

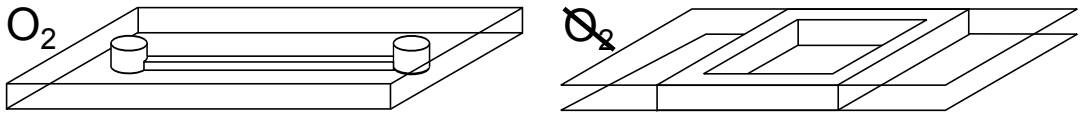


FIGURE 2.1 – Schémas des deux dispositifs expérimentaux utilisés dans cette étude. À gauche : canal microfluidique en PDMS. À droite : chambre scellée et imperméable à l'oxygène.

Le premier dispositif consiste en un canal microfluidique rectiligne de largeur $W = 600\,\mu\mathrm{m}$, de hauteur $h = 100\,\mu\mathrm{m}$ et de longueur $L = 1.8\,\mathrm{cm}$. Celui-ci est obtenu par la technique dite de *soft lithography* (détaillée en annexe de ce document). Le bloc de PDMS ainsi fabriqué est fixé à l'aide d'un *plasma cleaner* sur une lamelle de verre elle-même recouverte d'une couche de $27.8\,\mu\mathrm{m}$ de PDMS. Cette couche a pour but de rendre les quatre parois du canal en PDMS, et ainsi d'avoir des conditions de contact aux parois identiques. La grande perméabilité du PDMS aux gaz autorise un apport suffisant, et constant, en oxygène pour alimenter la suspension de bactéries durant tout le

déroulement de l'expérience. L'appauvrissement en oxygène au sein de la cellule peut donc dans ce cas être négligé. La suspension est injectée au moyen d'une seringue *Hamilton* de 50 µL de volume reliée au canal par le biais d'un tuyau en plastique *Tygon Microbore tubing* de 500 µm de diamètre, ainsi que par un tube en inox de 15 mm et 23 G qui permet la connexion au microcanal. L'injection en elle-même est effectuée par un pousse-seringue *neMESYS* à un débit de 200 nL s^{-1}. Celui-ci a été choisi afin de garantir l'intégrité des flagelles des bactéries et de remplir le système microfluidique en un temps raisonnable, soit quelques minutes. Des vannes sont également placées en entrée et en sortie de façon à pouvoir interdire tout écoulement global lors de la mesure qui sera faite en absence de flux.

Le second dispositif de test est une cellule constituée de deux lamelles de verre sur la surface desquelles se trouve une couche de PDMS d'une épaisseur d'environ 28 µm et séparées l'une de l'autre par un système de *spacer* commercial, nommé *GeneFrame*, parfaitement imperméable aux gaz créant ainsi une chambre de 270 µm de hauteur et 2 cm de côté. Celle-ci est entièrement remplie par l'échantillon afin d'éviter la présence de bulle d'air au sein de la cellule.

La prise de vue est assurée par une caméra rapide *Photron SA3*. Celle-ci permet de capturer jusqu'à 4092 images à une fréquence d'acquisition allant jusqu'à 2000 images/s pour une résolution de $1024x1024$ pixels. Cette caméra est placée sur un microscope inversé *Zeiss Observer Z1*.

Le choix du grossissement ainsi que celui de la fréquence d'acquisition a été fait de façon à respecter certains impératifs du traitement des images par suivi de particules auquel sont soumis les images obtenues expérimentalement. En effet, pour que les résultats finaux soient pertinents, il faut que les prises de vue permettent de détecter les bactéries avec une précision suffisante, ce qui demande un fort grossissement. Cependant, il est également nécessaire d'avoir un grand nombre de bactéries dans le champ d'observation, c'est à dire un champ le plus large et le plus épais possible. Or ces deux paramètres sont fortement liés à l'objectif utilisé et décroissent rapidement lorsque le grossissement augmente. La profondeur de champ va également jouer sur le temps durant lequel un nageur reste dans le champ d'observation. Plus elle sera grande, plus le temps nécessaire à un nageur pour quitter le champ de d'observation sera long, et donc plus la statistique temporelle sera élevée.

Afin d'obtenir les meilleurs résultats possibles, il faut également se pencher sur les conditions de prise de vue, i.e. fréquence d'acquisition f et temps d'acquisition δT. En effet, nous voulons avoir des données fiables à la fois pour des fréquences suffisemment élévées afin de pouvoir suivre les bactéries et mesurer les vitesses de nages, mais aussi pour des temps d'acquisition suffisemment longs devant le temps de *run* typique, afin de pouvoir déterminer les coefficients de diffusion. Ce temps caractéristique de *run* est généralement estimé à quelques dixièmes de seconde et peut aller jusqu'à 1 s [10]. Il faut donc effectuer une prise de vue rapide pendant un temps long, ce qui est limité dans notre cas par le nombre d'images maximum dû à la mémoire interne à la caméra. Ainsi, plus la prise de vue est rapide, plus sa durée est courte. Il nous faut donc trouver un compromis raisonnable ce qui s'est traduit pour le grossissement par le choix d'un objectif 20x à contraste de phase, Ph2, et, pour la caméra, sur une fréquence d'acquisition de 125 i/s pendant 43 s. Ainsi, un pixel correspond à 0.42 µm, ce qui garantit qu'une bactérie occupera environ 5 pixels sur l'image. De plus, une E. Coli nageant *a priori* à une vitesse $U_0 \approx 20\,\mu m/s$, elle parcourra une distance faible devant sa taille, ce qui permet de minimiser les erreurs de détection des trajectoires.

Notons que les données résultant des expériences effectuées dans cette étude correspondent à une projection de la trajectoire sur un plan perpendiculaire à l'axe optique du microscope, on obtient ainsi le déplacement quadratique moyen 2D : $\langle R_{2D}^2 \rangle = \langle x^2 \rangle + \langle y^2 \rangle$.

Cependant, comme les mesures sont effectuées dans un milieu 3D homogène, il n'existe pas de gradient de propriétés qui pourraient briser la symétrie spatiale (si on se place suffisamment loin des surfaces). Il est donc possible en supposant l'isotropie du système de retrouver le déplacement quadratique moyen $\langle R^2 \rangle$ à trois dimensions en posant $\langle x^2 \rangle = \langle y^2 \rangle = \langle z^2 \rangle$, ce qui donne :

$$\begin{aligned} \langle R^2 \rangle &= \langle x^2 \rangle + \langle y^2 \rangle + \langle z^2 \rangle \\ &= \langle R_{2D}^2 \rangle + \langle z^2 \rangle \\ &= \frac{3}{2} \langle R_{2D}^2 \rangle. \end{aligned} \tag{2.1}$$

En appliquant à ces données un ajustement par la fonction, présentée dans le chapitre précédent, définissant ce comportement de type ballisto-diffusif :

$$\langle R^2 \rangle (dt) = 6 \frac{U_0^2 t_c}{3} \left(t - t_c \left(1 - e^{-t/t_c} \right) \right), \tag{2.2}$$

il est possible de récupérer la vitesse U_0 et le temps caractéristique t_c, et donc le coefficient de diffusion D au moyen de la formule présentée en début de document [11] :

$$D = \frac{U_0^2 t_c}{3}. \tag{2.3}$$

On obtient alors des données semblables à celles-ci :

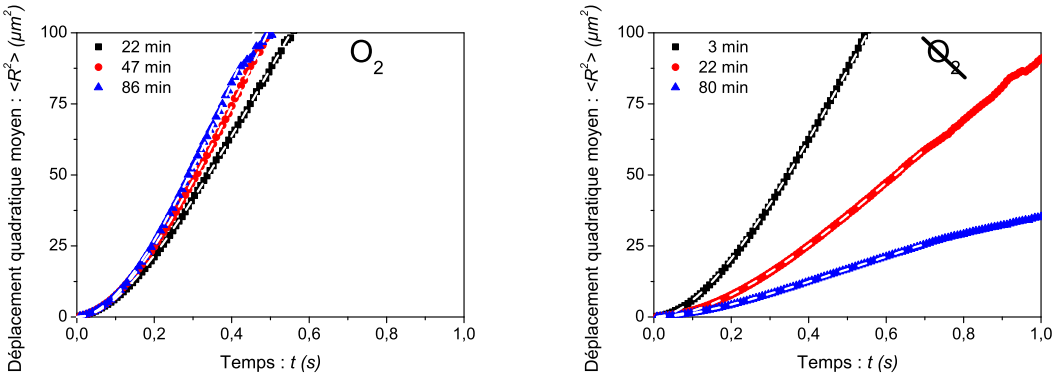


FIGURE 2.2 – Déplacement quadratique moyen des E. Coli pour une fraction volumique $\phi = 0.3\,\%$ et sans L-Serine à trois temps t différents après le scellement complet de l'échantillon. À gauche : cas oxygéné (PDMS). À droite : cas non-oxygéné (parois en verre).

Sur ces figures, on voit qu'il existe un changement de comportement entre les temps inférieurs à 0.3 s où $\langle R^2 \rangle$ est proportionnel au carré du temps, et la variation linéaire aux temps longs. Ceci est la signature du passage d'un comportement balistique à un comportement diffusif typique des marches aléatoires persistantes comme cela a été développé précédemment.

De plus, lorsque l'on compare les cas oxygéné et non-oxygéné, on remarque que la figure de droite montre un effet du temps sur la forme de ces courbes qui est absent dans le cas oxygéné. Il est

raisonnable de penser que ces effets sont dûs à l'appauvrissement en oxygène de la suspension, et qu'à une concentration donnée de ce gaz correspond un couple précis des paramètres (D_t, U_0). La diminution de l'oxygène étant due à sa consommation par les bactéries, la vitesse de décroissance de sa concentration doit dépendre ce la fraction volumique de E. Coli présentent dans la suspension. On peut donc penser que la concentration en bactérie influera sur la variation temporelle de la vitesse et de la diffusivité. Pour le vérifier, nous avons fait varier la fraction volumique entre $\phi = 0.1\%$ et 0.5%, des densité supérieures rendant le traitement moins efficace dans les conditions d'observation choisies.

2.2 Dépendance temporelle des paramètres d'activité

Une fois le déplacement quadratique moyen $\langle R^2 \rangle$ ajusté par le modèle présenté dans l'équation (2.2), on obtient les courbes suivantes :

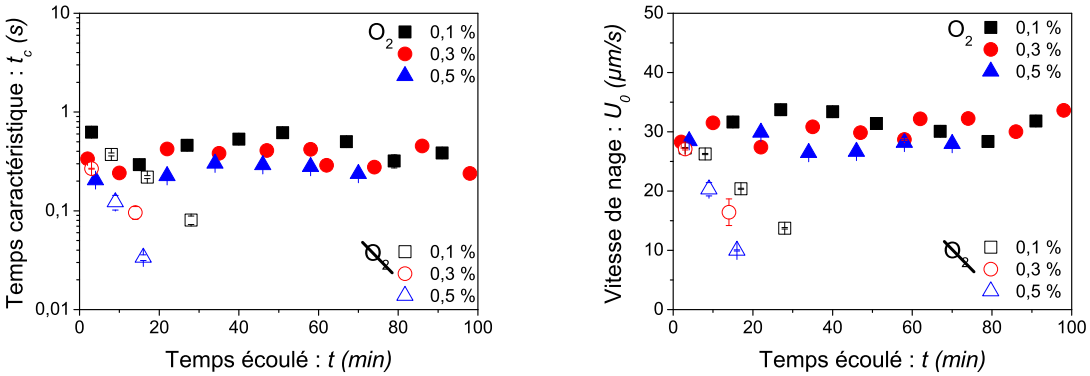


FIGURE 2.3 – Variation de l'activité bactérienne avec et sans apport en oxygène (en suspension dans du MMA-Percoll). À gauche : temps t_c en fonction du temps écoulé. À droite : vitesse U_0 en fonction du temps dans la même situation.

La première chose a retenir de ces courbes est que si l'environnement est continuellement approvisionné en oxygène à la fois le temps caractéristique et la vitesse de nage demeurent constants. Cela va dans le sens de l'existence d'un état stable de l'activité des bactéries lorsque l'environnement lui-même reste stable dans le temps. À noter également les valeurs de ces deux paramètres de la nage des bactéries, à savoir $t_c = 0.3\,\mathrm{s}$ et $U_0 = 30\,\mu\mathrm{m/s}$.

À l'inverse, si l'on restreint l'apport en oxygène, ces mêmes paramètres chutent dramatiquement jusqu'à atteindre des valeurs très faibles. Dans le cas de la vitesse de nage, U_0 diminue et pour les temps longs, il devient impossible de mesurer une vitesse, ce qui semble vouloir dire que les bactéries ont cessé de nager de façon suffisamment rectiligne dans le milieu pour que l'on puisse extraire une vitesse. De même le temps caractéristique chute et atteint des valeurs extrêmement faibles, plus petites que le temps entre deux images de la prise de vue, environ $5 \times 10^{-4}\,\mathrm{s}$. En revanche, il demeure toujours possible d'extraire des données un coefficient diffusion D.

Il est également intéressant de remarquer que la concentration en bactérie joue effectivement le rôle que nous lui avions prédit, à savoir diminuer le temps caractéristique de décroissance des deux paramètres.

Un autre paramètre intéressant à regarder est le coefficient de diffusion D en fonction du

temps écoulé.

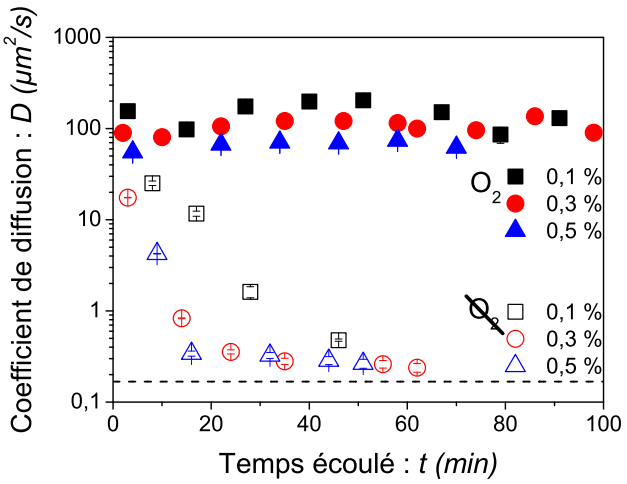


FIGURE 2.4 – Variation du coefficient de diffusion D en fonction du temps. La ligne en pointillés représente la diffusion brownienne pour des particules sphériques de diamètre $d = 2\,\mu m$ définie à l'équation (2.4).

Comme cela était prévisible à partir des données précédentes, on voit que la présence de l'oxygène influe beaucoup sur le coefficient de diffusion D. Lorsque la suspension est continuellement approvisionnée en oxygène, celui-ci reste constant comme le prévoit l'équation (2.3).

En l'absence d'oxygène, ce coefficient décroit très rapidement, et atteint une valeur de l'ordre de la diffusivité Brownienne, soit dans l'approximation d'une sphère de diamètre $d = 2\,\mu m$, d'un environnement à $T = 25\,^{\circ}C$ et d'un fluide de viscosité $\eta = 1.3\,mPa.s$, celle du milieu dans lequel sont les bactéries, un coefficient :

$$D_b = \frac{k_b T}{6\pi\eta r} \approx 1.68.10^{-1}\,\mu m^2\,s^{-1}. \tag{2.4}$$

Il s'agit d'une limitation majeure pour nos expériences. En effet, il est nécessaire d'assurer un approvisionnement constant en oxygène pour s'assurer du caractère constant de l'activité des bactéries présentes en suspension. Tant que les expériences sont effectuées dans un environnement perméable aux gaz tel que le PDMS, ce problème n'apparait pas. Cependant, dans le cadre de collaborations avec le laboratoire *FAST* (cf chap 6 p 123), cette question s'est imposée comme primordiale et devant être résolue.

La solution qui a été trouvée est de remplacer l'oxygène en solution par de la L-Serine qui, comme cela a été dit plus haut, a la faculté de palier la chute de la concentration en oxygène [12]. Nous espérons de cette façon réussir à créer un état d'activité stable durant un temps suffisant pour pouvoir mener des expériences dans des environnements hermétiquement fermés, ce qui augmenterait le nombre d'instruments utilisables sur ces suspensions.

De la même façon que dans le cas sans L-Serine, les expériences ont été répétées pour différentes fractions volumiques en E. Coli afin de mesurer son impact sur les temps de caractéristiques de décroissance des valeurs étudiées. Les résultats obtenus lors de ces expériences sont résumés sur la figure 2.5 :

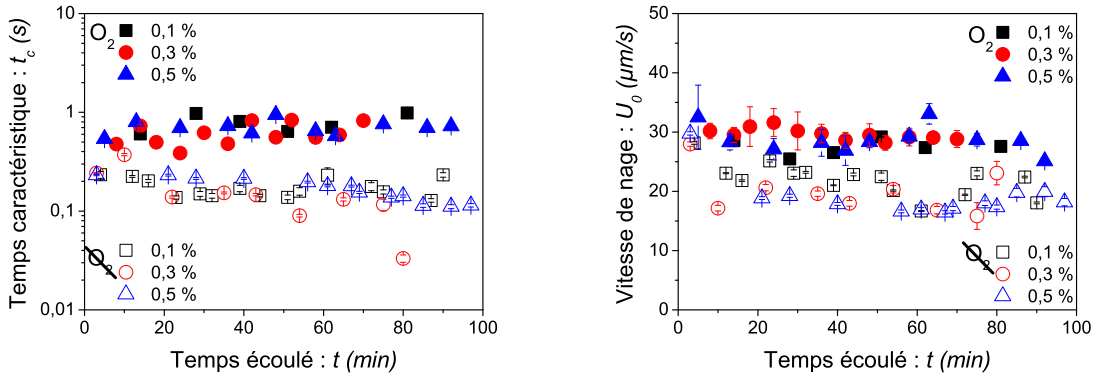


FIGURE 2.5 – Variation de l'activité de Escherichia Coli avec et sans apport en oxygène et en présence de L-Serine à une concentration de 250mM. À gauche : temps caractéristique de nage t_c en fonction du temps écoulé t. À droite : vitesse de nage 3D U_0 en fonction du temps t dans la même situation.

On voit sur ces graphiques que la présence de L-Sérine n'empêche pas la diminution du temps caractéristique t_c et de la vitesse U_0 avec l'appauvrissement du milieu en oxygène. Cela peut s'expliquer par le fait que, bien qu'il existe une grande affinité entre la L-Sérine et les capteurs d'oxygène, celle-ci n'est pas parfaite.

En revanche, ce composé chimique agit bien sur ces deux paramètres de la nage bactérienne en limitant leur diminution en induisant un plateau pour ces valeurs à un niveau plus élevé qu'en son absence. Il est donc possible de maintenir une certaine activité des E. Coli en l'absence d'oxygène bien que celle-ci soit inférieure à celle que ces bactéries auraient dans un milieu oxygéné.

On voit également que lorsque l'on regarde les résultats dans les cas oxygénés suivant la présence, ou l'absence, de L-Sérine, l'activité est légèrement plus forte lorsque les deux composés sont présents en même temps dans le milieu. Si la vitesse de nage n'est que peu affectée, le temps caractéristique est plus élevé, ce qui se traduit par une nage plus efficace.

Il semble que l'influence de la L-Serine et de l'oxygène sur les bactéries se cumulent pour les doper légèrement à la fois du point de vue de leurs vitesses que de leur mécanisme de diffusion active. Une explication est que les circuits d'assimilation de l'oxygène et de L-Serine travailleraient de concert dans cette situation, ce qui provoquerait un effet chemotactique supérieur, et donc une augmentation de l'activité.

Ensuite, alors que la vitesse tend à conserver une valeur constante, le temps t_c diminue ce qui semble indiquer que le système qui régule le temps des *run* et *tumble* de la bactérie est plus sensible à l'oxygène et à la L-Sérine que ceux régulant la vitesse de nage. Cela peut provenir du fait que ces derniers fonctionnent principalement via le gradient de protons entre la bactérie et l'environnement extérieur, point sur lequel les deux composés dont l'impact est étudié dans ce chapitre n'influent pas.

De la même manière que dans le cas sans L-Serine, le coefficient de diffusion D, présenté sur la figure 2.6, est un paramètre important dans notre modèle. Mesurer à la fois son comportement temporel que sa valeur relative par rapport au cas précédent devrait permettre de mieux comprendre les variations de t_c et de U_0 que nous avons observées dans la figure précédente.

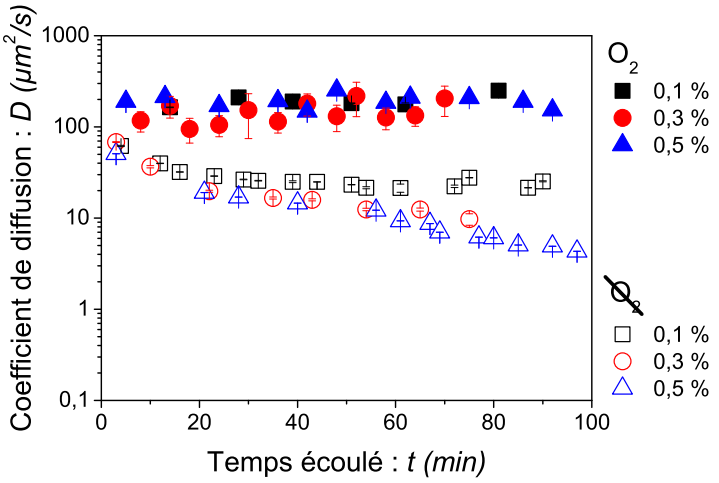


FIGURE 2.6 – Variation du coefficient de diffusion D en fonction du temps et en présence de L-Serine.

Ce graphique montre deux choses importantes. Tout d'abord, la présence de L-Serine semble augmenter légèrement le coefficient de diffusion D, ce qui signifie que les bactéries ont tendance à allonger la distance sur laquelle elles nagent de façon rectiligne. Cela confirme cette impression que les bactéries sont "dopées" par l'ajout de ce composé chimique.

On voit également que la présence de L-Serine assure en absence d'oxygène l'existence d'un plateau d'activité durant quelques temps, suivi d'une diminution de la diffusivité. Cette diminution semble dépendre de la concentration à la fois sur son temps caractéristique, mais également sur le moment où elle apparait. Cela va dans le sens d'une consommation de la L-Sérine, qui atteint après un temps donné une concentration critique à partir de laquelle les bactéries commencent à ressentir son manque dans le milieu environnant.

2.3 Conclusion

Nous avons défini par l'expérience un modèle de particules actives qui reproduit le comportement de nage de la souche de E. Coli que nous utilisons lors des travaux présentés ici dans le régime dilué, c'est à dire pour une fraction volumique inférieure à $\phi = 0.5\,\%$. Ainsi, il nous est possible de définir, grâce aux résultats obtenus via l'ajustement des données par le modèle de nage en *run and tumble*, dans le cas où l'oxygène et la L-Serine sont présents en solution, la vitesse de nage des bactéries est de $U_0 = 28.7\,\mu\text{m/s} \pm 1.3\,\mu\text{m/s}$ et le temps caractéristique $t_c = 0.69\,\text{s} \pm 0.08\,\text{s}$.

Il nous a également été possible de concevoir un moyen de s'affranchir en partie des contraintes dues à l'oxygénation du milieu et a mesurer dans cette situation ces paramètres. Grâce à cela, il nous est désormais possible d'envisager d'effectuer une mesure dans un dispositif expérimental interdisant totalement le passage des gaz, ou, tout du moins, le limite de manière trop importante pour permettre une oxygénation suffisante des bactéries.

Dans la gamme de temps dans laquelle l'activité sans oxygène et en présence de L-Serine est quasi constante à partir de 20 min s'étend au delà de 90 min tant que la fraction volumique demeure en dessous de $\phi = 0.5\,\%$. En se plaçant dans ces conditions, il nous est possible de définir

des paramètres de nage caractéristique. De la même façon dans le cas oxygéné, nous avons défini les paramètres typiques pour modéliser la nage des E. Coli dans ce régime stable, à savoir la vitesse de nage des bactéries $U_0 = 19.5\,\mu m/s \pm 0.9\,\mu m/s$ et le temps caractéristique $t_c = 0.16\,s \pm 0.03\,s$.

Ces paramètres de l'activité établis expérimentalement définissent donc un modèle de nageurs qui représentent la souche de E. Coli que nous utilisons dans nos expériences. Il nous servira donc de base pour des études numériques qui sont développées dans la suite de ce document.

Chapitre 3

Comportement collectif des Escherichia Coli

À toutes les échelles du vivant, la capacité à ce mouvoir implique souvent la possibilité de le faire de manière coordonnée avec d'autres individus. Le mouvement d'un individu provoque alors une réaction du groupe, réaction qui, en règle générale, cherche à maintenir une certaine cohésion. Pour certaines espèces, ce comportement provient de processus réfléchis sans être nécessairement conscients (comportement grégaire, interprétation de signaux chimiques ...). Cependant, ces mouvements collectifs coordonnés ont été également observés dans des systèmes passifs (non-vivants) comme les milieux granulaires denses. Cette organisation collective n'est alors due qu'aux interactions physiques.

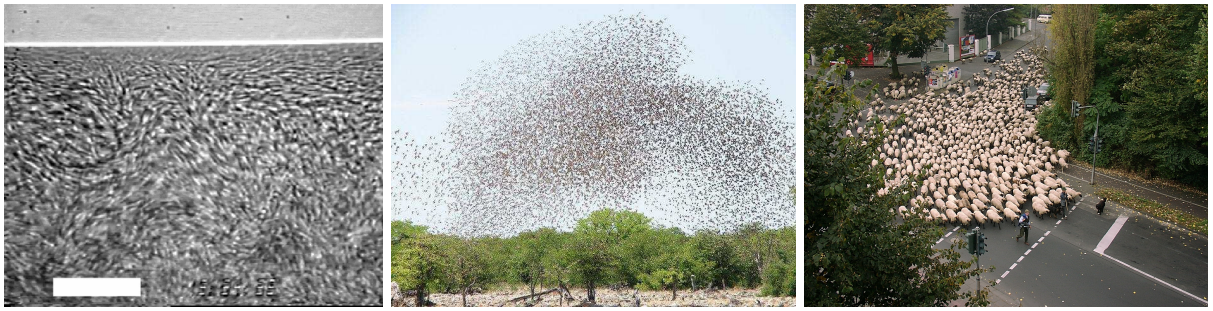


FIGURE 3.1 – À droite : image de *Bacillus Subtilis* près d'une ligne de contact, l'échelle mesure 35 µm [58]. Au centre : vol en essaim de travailleurs à bec rouges *CC : Alastair Rae.* À gauche : troupeau de moutons à Cologne *CC : Túrelio.*

Dans le cas de particules actives, ou auto-propulsées, des modèles numériques et quelques expériences ont été conduits pour lesquels les particules peuvent interagir de différentes manières. Un exemple est celui de particules nématiques qui s'alignent entre elles par les collisions solides . On peut aussi noter le cas de particules avec des interactions polaires qui alignent leurs directions de mouvement.

La grande majorité des modèles proposés ignorent la présence d'un fluide autour des particules ; si ce n'est, dans les simulations, pour introduire trivialement un couplage visqueux dont le but est d'ajuster dynamiquement les vitesses autour d'une vitesse moyenne de déplacement. Dans certain cas, comme le célèbre modèle de Viscsek [16], les interactions sont à courte portée supposant un ajustement de la vitesse autour d'une vitesse moyenne locale. En général, dans ces modèles

statistiques, les interactions à longue portée comme celles médiées par la présence d'un fluide sont ignorées. Il est à noter que dans certains cas (mouvements de foule, mouvement de troupeaux ou même d'oiseaux) on peut considérer que ce sont des modèles physiques raisonnables qui rendent compte largement de la phénoménologie des comportements collectifs. En revanche, il n'est pas évident que cette approche puisse être directement appliquée à des nageurs comme les bactéries, évoluant à faible nombre de Reynolds et pour lesquels le fluide environnant est essentiel.

Néanmoins, certains travaux prennent en compte la présence d'un liquide. Ils peuvent se classer en deux grandes catégories. Tout d'abord des modèles théoriques produisant directement des équations phénoménologiques du transport macroscopique. Dans ce cas la nature des interactions et la présence du fluide environnant sont traités de manière effective dans la forme des termes présents dans les équations de transport en respectant les symétries essentielles du problème [20]. Cette approche est séduisante mais le prix à payer est la compréhension et la validation expérimentale des coefficients phénoménologiques de couplage. Une deuxième catégorie propose de réaliser un passage micro-macro afin d'établir des équations macroscopiques du transport à partir d'une représentation microscopique du mouvement bactérien et des interactions hydrodynamiques [24]. Cette approche de physique statistique est souvent limitées par des difficultés analytiques. Elle permet au mieux pour l'instant de traiter les cas dilués. Numériquement, il est possible d'aller plus loin par des simulations numériques modélisant directement des interactions hydrodynamiques à partir d'une représentation mécanique simplifiée des nageurs. Les moyens modernes de calcul permettent pour l'instant d'atteindre le régime semi-dilué pour des tailles de boîte ne dépassant pas une dizaine de tailles de bactéries. On commence à voir se développer dans ces simulations numériques des effets collectifs.

D'un point de vue expérimental, plusieurs études ont été publiées concernant les nageurs autonomes, que ce soient des bactéries [59], des algues [40] ou des colloïdes autopropulsés.

Dans le cas des *Bacillus Subtilis*, plusieurs études ont été menées sur des mouvements collectifs à grande échelle, dits bioturbulence [29]. Ces études montrent que que la présence (ou l'absence) d'oxygène est un élément essentiel qui participe au mouvement collectif.

Nous avons alors effectué une étude expérimentale en utilisant des E. Coli, étude dont une partie a fait l'objet d'une publication présente en annexe [60], dans le but de mesurer ces aspects collectifs et surtout déterminer les conditions pour lesquelles ceux-ci apparaissent. Pour cela nous avons développé un protocole précis aussi bien du point de vue expérimental que de celui des analyses permettant d'en retirer des données quantitatives.

3.1 Méthodes de mesure

3.1.1 Dispositif expérimental

Deux dispositifs différents ont été utilisés pour étudier l'aspect collectif de la nage des E. Coli.

Le premier est un canal PDMS du même type que celui utilisé précédemment, c'est à dire rectiligne de largeur $W = 600\,\mu\text{m}$, de hauteur $h = 100\,\mu\text{m}$ et de longueur $L = 1.8\,\text{cm}$. De la même manière, il est très perméable à l'oxygène, et une fois la suspension injectée, des vannes sont fermées pour supprimer tout écoulement global rémanent. La suspension est laissée au repos 5 minutes avant mesure pour s'affranchir des effets pouvant provenir de l'histoire de l'écoulement.

Le second dispositif consiste à piéger une goutte de suspension bactérienne entre deux la-

melles de verre recouvertes d'une couche de PDMS d'environ 28 µm d'épaisseur. Ces lamelles sont maintenues séparées par la présence d'écarteurs de 100 µm d'épaisseur, aux extrémités. L'apport en oxygène du cœur de la suspension est alors grandement réduit, ce qui permet d'observer l'effet du manque d'oxygénation sur les bactéries. La goutte piégée de cette façon a un volume de 2 µL et une forme cylindrique de diamètre $D \approx 5\,\text{mm}$ et de hauteur $h \approx 100\,\mu\text{m}$. Après l'avoir placée dans la chambre, la suspension est laissé au repos entre les deux lamelles pendant 5 min afin de laisser l'oxygène se raréfier car consommé par les bactéries.

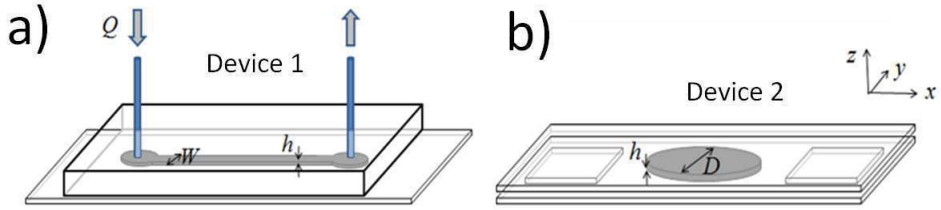


FIGURE 3.2 – Schémas de principe des dispositifs expérimentaux utilisés dans ce chapitre. a) Dispositif du canal en PDMS. b) Dispositif de la goutte piégée.

Pour la prise de vue, nous avons utilisé une caméra rapide *Photron SA3* réglée à une fréquence d'acquisition de 125 fps et un temps d'acquisition de 1/500 s. Celle-ci est montée sur un microscope inversé *Zeiss Observer Z1* configuré pour utiliser un grossissement 100 X en contraste de phase Ph1, ce qui donne un champ de vision de 135.2 µm de côté et une profondeur de champ de 3.4 µm. Cet objectif ayant une distance de travail très réduite, inférieure au millimètre, cela nous oblige à utiliser des lamelles de verre d'une épaisseur typique de 100 µm en lieu et place de lames de verre plus classiques dont l'épaisseur est bien trop grande, environ 1 mm.

Toutes les prises de vue considérées dans ce chapitre ont été effectuées à mi-hauteur, soit 50 µm, et au centre du volume afin de se débarrasser des effets de bords dans les trois directions. Les vidéos capturées ainsi sont faites sur 4092 images, soit une durée d'environ 32 s pour la fréquence d'acquisition considérée.

Les bactéries sont cultivées en *LB* et placées en suspension dans le milieu de type MMA-Percoll, selon le protocole présenté en annexe de ce document. Les différentes concentrations utilisées sur une même demi-journée proviennent d'un même échantillon initial et lorsque une courbe regroupe des données venant de plusieurs séries d'expériences, les gammes de concentration se recoupent dans le but de s'assurer de la reproductibilité des résultats.

Dans ces expériences, notre unique paramètre de contrôle est la fraction volumique en bactéries ϕ, que nous feront varier de 0.02 à 8 %, soit une concentration allant de $n = 0.2 \times 10^{12}$ à $80 \times 10^{12}\,\text{bact.L}^{-1}$. Les expériences ont été faites en 2 campagnes espacées de plusieurs mois, les concentrations inférieures à 2 % avec oxygène, les mêmes sans oxygène en premier, puis les concentrations supérieures à 1.8 % avec oxygène, et sans oxygène. Au sein de chaque expérience, une suspension initiale à la plus forte concentration est préparée, puis les autres découlent de celle-ci par simple dilutions uniques.

3.1.2 Analyse des données

Une fois les images capturées, leurs sont appliqués deux procédés de traitement en parallèle. Le premier consiste en une analyse par corrélation d'images, méthode dite *PIV*, et la seconde par suivi de particules, dite *tracking*. Ceci nous permet de mesurer par deux méthodes différentes les vitesses des particules présentes dans notre champ de visualisation et ainsi de recouper les données obtenues.

Dans le cas de la *PIV*, nous avons utilisé le logiciel propriétaire *Davis 7.2.2* de la société *LaVision*. Cette technique consiste à subdiviser une image à l'aide d'une grille dont le pas est défini suivant la situation qui nous intéresse. Ce découpage est alors reproduit sur toutes les images de la prise de vue, chaque portion d'image résultant de ceci étant appelée une boîte. Le déplacement des particules présentes dans le champs de vision est ensuite calculée par des corrélations d'images. Chaque boîte est corrélée avec celle qui lui correspond sur une image précédente. Le pas de temps *dt* utilisé par le logiciel pour cette mesure est également choisi à l'avance, pour cela, la vidéo est traitée de façon à créer des paires d'images sur lesquelles est effectuée le traitement par *PIV*. Les données subissent donc l'équivalent d'une moyenne glissante sur le temps dont le paramètre serait le pas de temps *dt* de la *PIV*. Le résultat obtenu est alors un champ de vitesse $\overrightarrow{V}(\overrightarrow{r}, t)$ pour chaque temps t de la prise de vue et aligné spatialement sur la grille choisie.

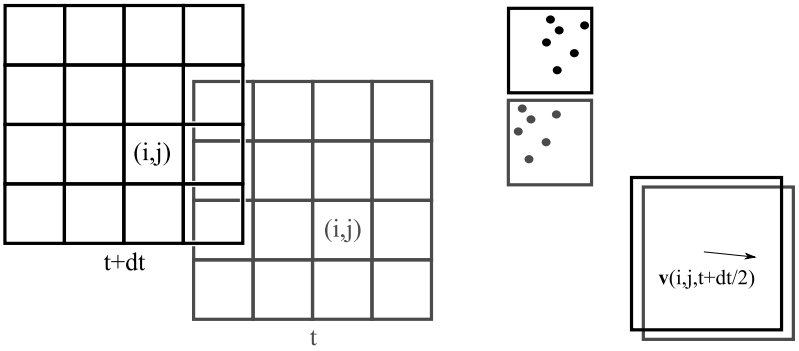


FIGURE 3.3 – Schéma de principe de la PIV.

Le choix du pas de temps *dt* ainsi que de la taille des boîtes utilisés lors d'une PIV suit une logique largement acceptée dans la communauté scientifique. Ils doivent être pris de façon à ce qu'au moins une particule entière puisse se trouver à l'intérieur d'une boîte, que le déplacement soit compris entre $^1/_3$ et $^2/_3$ de la taille d'une boîte et être long de quelques pixels.

Les mesures présentées ici utilisant cette méthode ont été effectuées avec un pas de temps de 0.1 s. Les bactéries nageant à environ 20 µm/s, elle n'ont pas le temps de parcourir l'ensemble du champ de vision, y compris verticalement. Cela nous assure que les vitesses mesurées sont bien représentatives et que nous ne filtrons pas les bactéries selon leur angle moyen de nage. En effet, si ce temps avait été pris trop grand, seules les bactéries nageant parallèlement au plan focal aurait été prises en compte. Les données récupérées par ce biais correspondent donc essentiellement aux projections des trajectoires sur le plan horizontal.

Concernant la taille des boîtes, un traitement en plusieurs passes a été utilisé. En effet, comme dit plus haut, la corrélation se fait entre les deux boîtes se situant au même endroit. Bien entendu, les algorithmes actuels permettent de chercher dans les boîtes voisines, voire même éloignées, mais cela accroît le risque d'erreur dans la détection. Une autre méthode consiste à calculer le champ

de vitesse plusieurs fois avec des boîtes de tailles différentes, de la plus grande à la plus petite. Cela permet de mesurer des mouvements d'ensembles, puis d'augmenter la résolution du champ en prenant en compte le résultat précédent en décalant les boîtes entre les deux images. Dans le cas présent, chaque mesure a été faite sur des boîtes carrées variant de 128 à 12 pixels de côté, soit d'environ 20.48 µm à 1.92 µm. Cette méthode de mesure permet de ne pas être tributaire d'un écouleemnt à grande échelle car celui-ci est retirer par la PIV à grandes boîtes, ce qui permet de se placer sans risque d'erreur de mesure à une taille typique de bactérie pour la dernière passe de la PIV.

Le désavantage principal de cette méthode est qu'elle donne un déplacement pour chaque boîte de la grille, or la présence d'une particule à chaque emplacement n'est pas garantie, surtout à faible concentration. Pour s'affranchir de ce problème, le champ de vitesse a été passé au travers de filtres permettant de supprimer les cas trop éloignés de ce qui est attendu ou qui trop proches du bruit de mesure.

Le premier consiste en un filtre sur la fonction de corrélation elle-même. Si la valeur de son maximum ne se détache pas suffisamment de la moyenne de ceux de toutes les autres boîtes de l'image, cet emplacement est considéré comme vide de particule et laissera une case vide dans le champ de vitesse.

Un autre filtre utilisé consiste simplement à retirer déplacements mesurés dont la valeur est inférieur à 1 pixel. Cela a le double avantage de retirer les quelques particules qui pourraient être inactives et de s'affranchir du bruit de mesure éventuel.

Le risque de ces filtres est bien évidemment de retirer des bactéries actives, et donc de perdre de la statistique. Cependant, il a été vérifié en post-traitement que la quasi-totalité des E. Coli étaient détectées par cette méthode.

Le second protocole d'analyse que nous utilisons, est le suivi de particules détaillé en annexes. Cette méthode a le principal intérêt que si la fréquence d'acquisition de la caméra est suffisante pour s'assurer que les bactéries ont parcourue une distance inférieur à leur propre longueur, les trajectoires calculées sont attribuées à une seule bactérie. Cependant, il est nécessaire de sous-échantillonner les trajectoires, ou alors d'effectuer une moyenne glissante, car l'erreur relativement faible sur la position, 0.04 µm, est à mettre en relation avec la fréquence d'acquisition élevée de la caméra 125 fps, ce qui donne une incertitude sur la vitesse instantanée d'environ 5 µm/s.

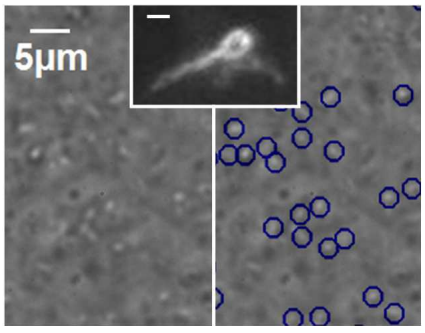


FIGURE 3.4 – À gauche : image typique après filtrage. À droite : exemple de détection par tracking. En haut, E. Coli prise en fluorescence, l'échelle est de 2 µm

Un moyen simple de palier à ce problème est de mesurer le déplacement des particules pour un écart de temps plus grand. L'erreur sur la vitesse est ainsi réduite car l'erreur sur le déplacement est compensée par un temps plus élevé.

Cependant, plus le temps choisi pour calculer la vitesse est grand, et plus le nombre de trajectoires considérées diminue. En effet, quelque soit la durée d'une trajectoire, il est possible de la prendre en compte dans le cadre d'un calcul de déplacement entre deux images. En revanche, si ce calcul ce fait entre des images séparées par un pas de temps de 25 images, alors, les trajectoires qui durent moins de 0.1 s ne seront pas prisent en compte, et plus encore pour un pas de temps plus grand. Il est donc nécessaire de faire un compromis. Pour cela, il nous faut étudier la courbe décrivant la vitesse mesurée en fonction du pas de temps considéré, ainsi que la distribution des trajectoires en fonction de leur durée de détection.

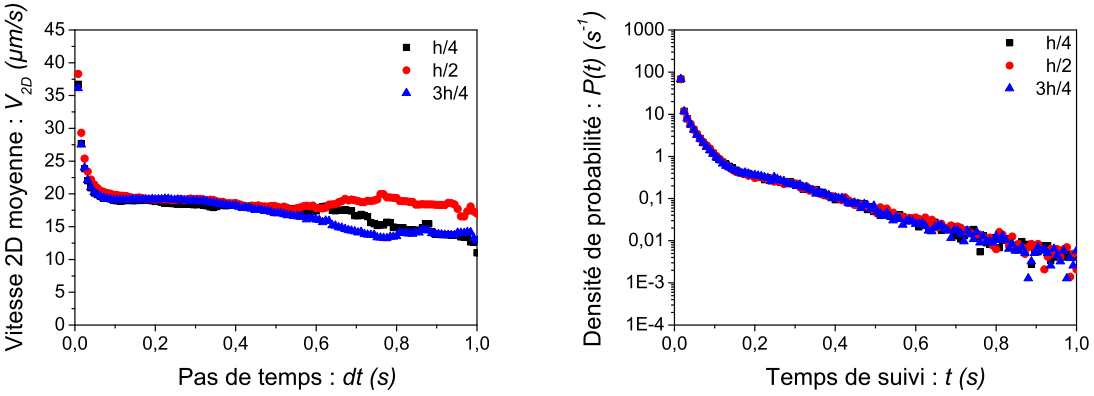


FIGURE 3.5 – À gauche : la vitesse de nage mesurée en fonction du pas de temps et pour différentes positions verticales dans le canal pour plusieurs hauteurs dans le canal. À droite : distribution du temps de suivi pour plusieurs hauteurs dans le canal. Cas d'une suspension de E. Coli concentrée à $\phi = 0.5\,\%$ alimentée en oxygène et non soumise à un écoulement externe.

Ces données montrent clairement l'existence d'un changement de comportement pour un pas de temps identique $dt \approx 0.1\,\mathrm{s}$. Afin d'obtenir des résultats à la fois représentatifs et physiquement valables, nous avons décidé de nous placer dans la suite de nos mesures à une pas de temps dt correspondant à ce changement de comportement de la courbe dans le suite de nos expériences.

En plus de cela, la présence d'un trop grand nombre de particule peut parasiter la détection provoquer une perte de statistique ou des détections fantômes si elle n'est pas optimisée pour chaque situation. Ainsi, le coefficient de bruit servant à définir un maximum réel doit être défini à la main dès que la concentration devient suffisamment importante pour modifier radicalement l'histogramme des intensités.

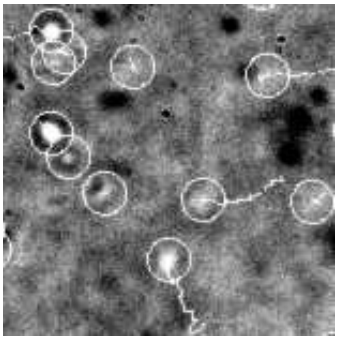


FIGURE 3.6 – Exemples de trajectoires obtenues par le *tracking* pour $\phi = 0.1\,\%$.

Sur les images sont présentes deux « populations » de bactéries, les noires et les blanches.

Cette différence de couleur se produit car les bactéries ne se trouvent pas du même côté du plan focal, les blanches se trouvant au-dessus et les noires en-dessous. Pour le *tracking*, nous avons choisi ne considérer que les bactéries blanche, choix dicté par la netteté de l'image. Ce choix de diviser par deux la profondeur de champ effective, ce qui donne une hauteur de 3.4 µm, et donc la population disponible pour notre mesure.

Ces deux méthodes peuvent être vues comme complémentaires car possédant chacune leurs propres limites et artefacts. Ainsi, la *PIV* s'avère problématique aux faibles concentrations à cause du manque de texture à corréler, alors que le *tracking* se montre récalcitrant aux fortes concentrations à cause de la perte progressive de contraste entre le fond et les bactéries. C'est la raison pour laquelle elles sont toutes deux utilisées dans cette étude.

Une fois les données traitées, nous pouvons regarder les résultats liés aux positions des bactéries. Tout d'abord, nous nous intéressons au rapport qui existe entre la concentration de bactéries effectivement visibles dans le champs de vision de la caméra et la fraction volumique mesurée préalablement par absorption (voir annexes). Une autre grandeur que l'on peut observer à partir des positions des bactéries est la fluctuation spatiale de densité des bactéries avec le nombre moyen de E. Coli présents dans des *boîtes* virtuelles qui quadrillent le champ de vision de l'expérience. Dans un cas purement aléatoire, on s'attend à une loi d'échelle comme $\sigma_N \propto N^{0.5}$, alors que si les bactéries se groupent entre elles, la puissance de cette loi d'échelle augmente, ce que l'on nomme alors des fluctuations géantes, une des caractéristiques attendues pour les systèmes actifs.

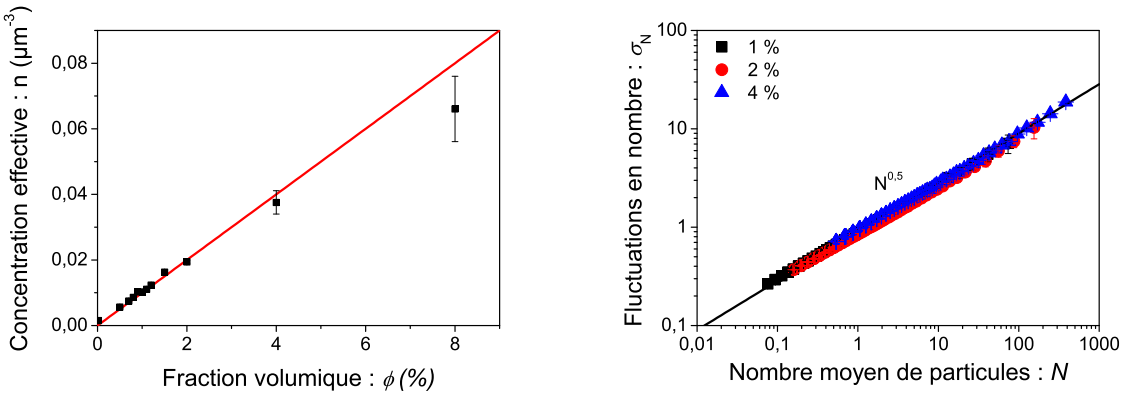


FIGURE 3.7 – À gauche : concentration volumique en bactérie mesurée par traitement d'image en fonction de la fraction volumique mesurée par absorption préalablement à l'expérience. La droite correspond à un accord pour un volume bactérien de $1\,\mu m^3$. À droite : fluctuations de densité en fonction de la densité moyenne pour différentes fractions volumiques. La droite correspond à une loi d'échelle en $N^{0.5}$.

On voit sur la figure de gauche que les concentrations obtenues sont très proches de celles prévue lors de la préparation de l'échantillon pour des fractions volumiques inférieures à 2 %. En revanche, à partir de $\phi = 4\,\%$, les concentrations mesurées par traitement d'images semblent s'écarter de la droite idéale en diminuant. De plus, on peut remarquer que les fluctuations temporelles de la concentration n, représentées que le graphique par les barres d'erreur, augmentent, ce qui semble aller dans le sens d'une détection de moins en moins fiable avec la fraction volumique. Cependant, dans cette limite de fraction volumique, la détection demeure raisonnable.

Sur la figure de droite, on remarque que quelque soit la fraction volumique considérée, le

coefficient de la loi d'échelle des fluctuations de densité en fonction de la densité moyenne est toujours de 0.5, ce qui va dans le sens d'une distribution purement aléatoire des bactéries dans l'espace. Il ne semble donc pas exister de regroupements de bactéries, dit *clusters*, au sens de zones de l'espace où les bactéries sont plus concentrées qu'à d'autres.

En s'intéressant aux déplacements des bactéries, il est possible de calculer des fonctions de corrélation spatiales de ces vitesses ainsi que des orientations. Il existe de nombreuses définitions possibles pour ces fonctions de corrélations. Nous nous sommes arrêtés sur deux d'entre-elles.

La première mesure directement les corrélations des vitesses brutes mesurées par nos deux méthodes. Il s'agit de regarder la corrélation des vitesse selon les deux principales orientations de l'espace à deux dimensions de l'image : la direction longitudinale au canal et la direction transverse. La prise de vue a été effectuée de façon à aligner ces directions avec les abscisses et ordonnées de l'image.

La fonction de corrélation des vitesses est définie dans ce travail comme :

$$C_{ij}\left(R\right) = \left\langle \frac{\left\langle V_i(\overrightarrow{r}) \cdot V_j(\overrightarrow{r}+\overrightarrow{R})\right\rangle_{\overrightarrow{r}} - \langle V_i(\overrightarrow{r})\rangle^2_{\overrightarrow{r}}}{\left\langle V_i^2(\overrightarrow{r})\right\rangle_{\overrightarrow{r}}} \right\rangle_t , \tag{3.1}$$

en fonction de la distance $R = \left\|\overrightarrow{R}\right\|$, où i et j représentent les directions x ou y.

De la même façon la fonction de corrélation de l'orientation, calculée sur le vecteur directeur $\overrightarrow{n} = \overrightarrow{V}/\|\overrightarrow{V}\|$, est prise comme :

$$C_{\alpha}\left(R\right) = \left\langle \left\langle \overrightarrow{n}(\overrightarrow{r}) \cdot \overrightarrow{n}(\overrightarrow{r}+\overrightarrow{R})\right\rangle_{\overrightarrow{r}} - \langle \overrightarrow{n}(\overrightarrow{r})\rangle^2_{\overrightarrow{r}} \right\rangle_t . \tag{3.2}$$

La différence entre ces deux fonctions réside principalement dans le fait que contrairement à la corrélation des vitesses, le calcul à partir des angles n'est pas sensible aux variations de la vitesse de nage.

3.2 Étude des corrélations spatiales des vitesses

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés aux vitesses des bactéries en elles-mêmes au travers de la cartographie de l'orientation des vitesses mesurées au moyen de la PIV. Pour cela, le plus parlant est d'afficher le vecteur orientation en fonction de la position, ainsi que l'angle lui-même via un code couleur. On obtient ainsi un premier aperçu de la nage des bactéries, aperçu qualitatif certes, mais qui permet de s'assurer visuellement de la pertinence des traitements effectués, et donc des résultats ultérieurs. Souhaitant regarder l'aspect collectif de la nage des E. Coli, la figure 3.8 représente le cas de trois fractions volumiques différentes $\phi = 0.1$, 1 et 2% en E. Coli.

Cette représentation simple montre de façon assez claire que l'accroissement de la concentration en bactéries a un impact direct sur la structure de la nage des celles-ci. Alors que les directions de nage semblent indépendantes dans le cas le plus dilué, il est visible que dans le cas à $\phi = 2\%$ des groupes de nageurs, appelés *clusters*, se forment dans la suspension. Ces clusters sont purement dynamiques et se font défont au fil du temps. Il semble donc exister une relation entre la concentration en bactéries et le caractère coopératif de la nage.

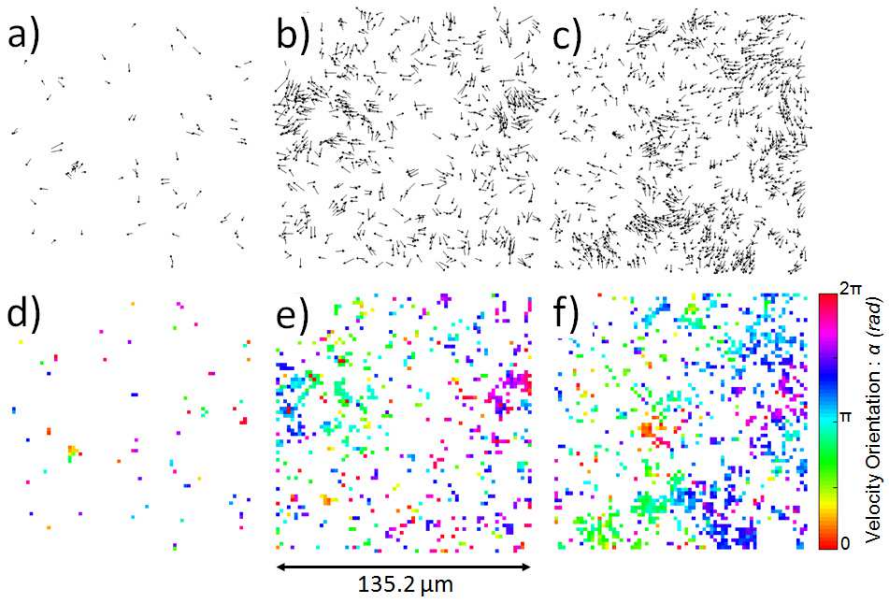


FIGURE 3.8 – Distributions spatiales des vitesses obtenue par *PIV* dans un microcanal (dispositif 1). Vecteurs vitesse : (a) $\phi = 0.1\%$, (b) $\phi = 1\%$ et (c) $\phi = 2\%$. Directions de nage : (d) $\phi = 0.1\%$, (e) $\phi = 1\%$ et (f) $\phi = 2\%$.

Le cas de concentrations allant jusqu'à 2% montre l'apparition progressive de blocs de nageurs, cependant, il existe un autre type de régime qui fait son apparition à encore plus forte concentration.

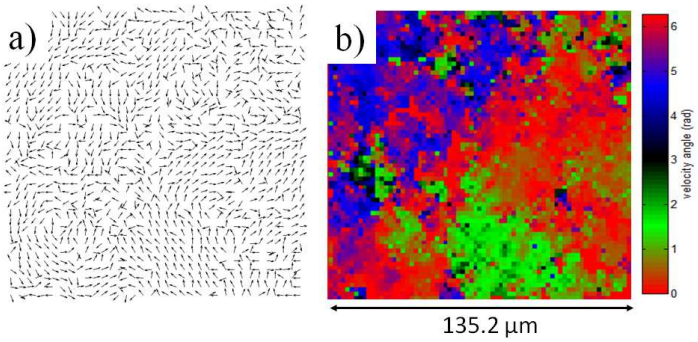


FIGURE 3.9 – Distributions spatiales des vitesses obtenue par *PIV* pour $\phi = 8\%$ dans un microcanal (dispositif 1). (a) Vecteurs vitesse et (b) orientation des vitesses.

Lorsque l'on atteint une fraction volumique en bactéries de $\phi = 8\%$, la suspension se retrouve dans un régime caractérisé par un comportement ressemblant qualitativement à celui de la bioturbulence. Celui-ci se défini par une nage collective dont la statistique rejoint les propriétés classique de la turbulence, à savoir un mouvement chaotique qui à la particularité de maximiser le mélange dans la solution. C'est très probablement cet aspect qui donne un intérêt biologique à ce comportement atypique en créant des conditions où le plus d'individus parviendront à survivre. Cette bioturbulence a également été observée pour des *Bacillus Subtilis* [22]. Une fois le phénomène reconnu, il nous faut quantifier ce comportement collectif. Pour cela, nous avons décidé de calculer les fonctions de corrélation spatiale et de trouver leurs longueurs caractéristiques. On obtient ainsi une mesure de la taille des structures principales du mouvement collectif présent dans le système.

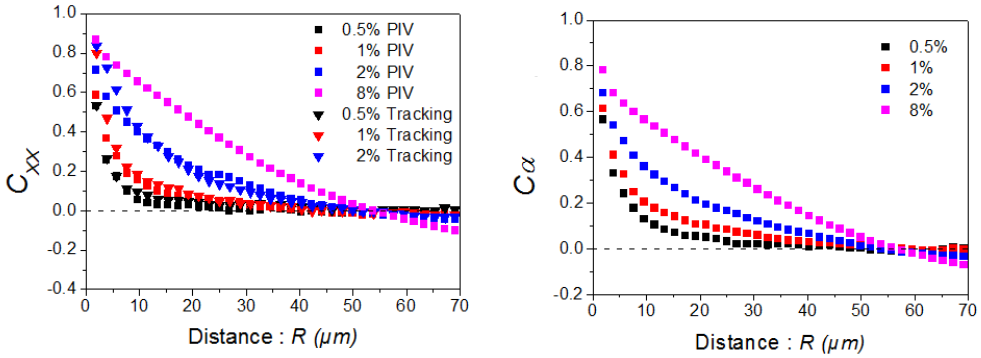


FIGURE 3.10 – À gauche : des fonctions de corrélations de vitesses C_{xx} pour différentes concentrations et pour deux méthodes de traitement : la PIV et le tracking. À droite : des fonctions de corrélations des orientations C_α pour les mêmes expériences.

Dans les figures 3.10 sont représentées les fonctions de corrélation des vitesses et des orientations pour quatre fractions volumiques ϕ différentes dans le cas des suspensions oxygénées. Lorsque l'on regarde les courbes de corrélation des vitesses et des angles, il est clair qu'il existe une réelle dépendance de celle-ci avec la concentration, visible à la fois sur les données issues de la *PIV* et du *tracking*.

En utilisant un fit exponentiel sur ces courbes, il est possible de récupérer la longueur caractéristique des structures présentes dans l'écoulement, que nous appellerons longueur de corrélation. Dans les figures 3.11 sont montrées ces longueurs de corrélation pour les différents cas étudiés.

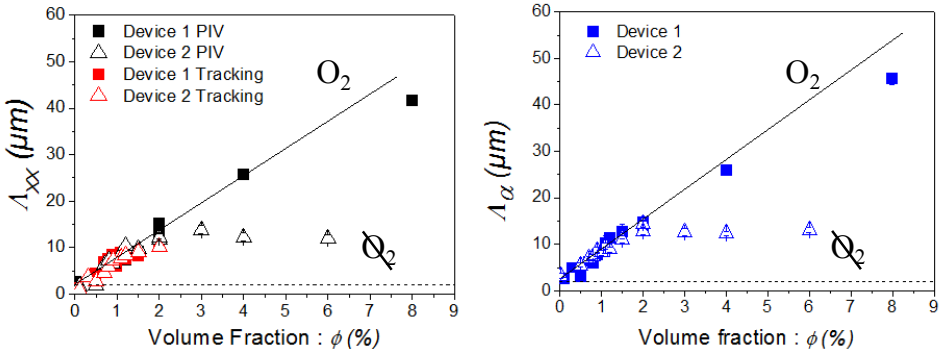


FIGURE 3.11 – À gauche : longueurs de corrélations de vitesses Λ_{xx} en fonction de la fraction volumique ϕ pour deux méthodes de traitement et pour deux approvisionnement différents en oxygène. À droite : longueurs de corrélations des orientations Λ_α pour les mêmes expériences.

Les carrés pleins représentent le cas avec une oxygénation constante (canal en PDMS), et les triangles vides le cas sans oxygène (goutte piégée). Les couleurs représentes quant à elles la technique de traitement utilisée : en noir la corrélation des vitesses mesurées par *PIV*, en rouge la corrélation des vitesses mesurées par *tracking* et en bleu la corrélation des orientations mesurées par *PIV*. Les lignes noires présentes dans les deux figure sont identiques, ce qui indique la robustesse de ces résultats. On voit que quelque soit l'oxygénation ou la méthode de mesure, la variation de la longueur de corrélation en fonction de la concentration suit la même loi pour $\phi \leq 2\%$. Pour des concentrations plus fortes, la longueur de corrélation mesurée dans le cas de bactéries oxygénées semble continuer à augmenter quasi linéairement, puis lentement décrocher et augmenter de moins en moins vite pour atteindre des valeurs de l'ordre de 40 µm pour une fraction volumique

de 8%. En revanche, dans le cas sans oxygène, la longueur de corrélation stagne à une valeur de 10 µm une fois les concentrations supérieures à 2%.

Quelle que soit la méthode de mesure utilisée, l'augmentation de la longueur de corrélation des angles, et également celle des vitesses, se fait de manière progressive. Nos mesures ne montrent aucune valeur seuil en concentration en dessous de laquelle aucune structure de serait présente. En cela, elles se rapprochent des simulations numériques effectuées par D.Saintillan et M.J.Shelley [26], qui ont étudié le comportement collectif de bâtonnets rigides actifs de types *pushers* dans les régimes dilués et semi-dilués. En effet, ils ont également trouvé une augmentation quasi-linéaire de la longueur de corrélation avec la concentration.

Il est cependant important de remarquer que ces simulations numériques à trois dimensions ont été effectuées dans des boîtes de taille relativement petites, 10 fois la taille d'un nageur et les auteur pointent la dépendance de la longueur de corrélation vis à vis de la boîte. Dans notre cas, la taille caractéristique du système est la hauteur des géométries, $h = 100\,\mu m$, soit entre 10 et 50 fois la taille des nageurs suivant la définition que l'on en donne. Une comparaison quantitative directe entre les résultats numériques et nos travaux est donc compliquée.

Les résultats deviennent très différents quand la suspension bactérienne est privée d'un apport suffisant en oxygène. On observe alors une saturation de la longueur de corrélation à une valeur $\Lambda = 14\,\mu m$. Cela pourrait indiquer qu'à forte concentration l'oxygène s'épuise rapidement ce pourrait augmenter la fréquence de "tumbling"et donc affecter les effets de mouvements collectifs , comme observé par A.Sokolov [27]. Il est également intéressant de regarder la variation de la vitesse des bactéries avec la fraction volumique de la suspension en se basant sur les résultats issus du *tracking*. En effet, certains modèles [26,27] prévoient une augmentation de la vitesse des nageurs avec leur concentration. Tout d'abord, les distributions de vitesse V_x sont présentées ici pour les fractions volumiques ϕ de 1, 2, et 4 %. Pour cela, elles ont été normalisées de façon à les regrouper autour d'une gaussienne d'amplitude 1, de moyenne nulle, et d'écart-type 1.

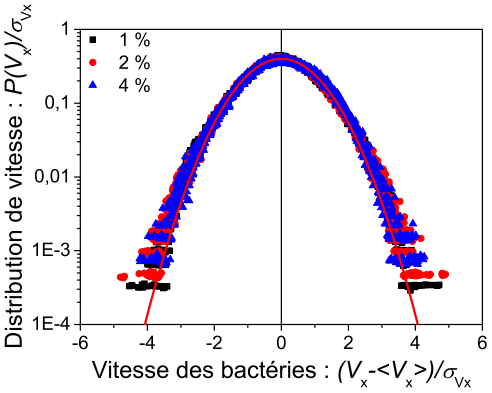


FIGURE 3.12 – Distributions renormalisées pour des suspensions de E. Coli à différentes fractions volumiques.

Ces distributions de vitesses correspondent bien aux distributions gaussiennes attendues dans le cas d'une nage non biaisée, ce qui montre l'absence, à l'échelle de nos prises de vue, de mouvement globale directionnel. On peut remarquer que les queues des distributions semblent se séparer légèrement de la gaussienne, bien que cet écart reste très léger.

Il nous est donc possible de tirer un écart-type des vitesses selon les deux axes qui sont accessibles par cette méthode de prise de vue, x et y. De même, nous pouvons extraire des données des

expériences la vitesse de nage moyenne, prise comme la moyenne des modules de vitesses mesurés.

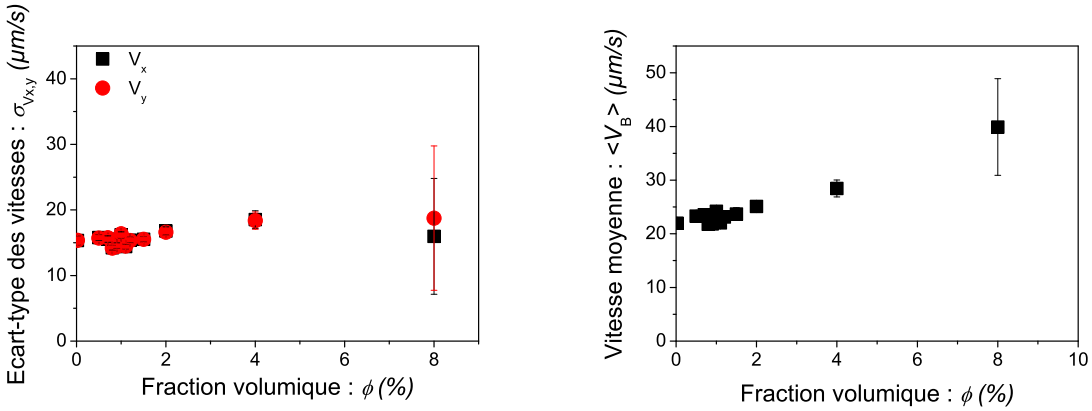


FIGURE 3.13 – À gauche : écart-type de la distribution de vitesse des bactéries selon les axes x et y en fonction de la fraction volumique de la suspension. À droite : vitesse moyenne de nage des bactéries en fonction de la fraction volumique de la suspension.

On voit sur la figure de gauche que l'écart-type des vitesses selon les axes x et y augmente pour des fraction volumiques inférieures à 4 % jusqu'à atteindre une valeur 50 % plus élevée qu'à $\phi = 0.02\,\%$, puis diminue légèrement.

À l'inverse, la vitesse de nage moyenne à deux dimensions présentée à droite augmente sans discontinuer jusqu'à $\phi = 8\,\%$ où elle atteint une valeur deux fois supérieur à celle obtenue pour la fraction volumique la plus faible. On peut remarquer que cette augmentation se fait de façon quasi-linéaire avec la concentration, soit de la même façon que les corrélations de vitesses. Il est donc raisonnable de penser qu'il existe un lien physique entre ces grandeurs.

Dans le cas d'une nage parfaitement isotrope, l'écart-type $\sigma_{\mathrm{Vx,y}}$ est proportionnelle à la vitesse de nage moyenne à deux dimensions $\langle V_B \rangle$. On remarque grâce les résultats présentés dans la figure 3.13 que les suspensions étudiées respectent ce principe pour des fractions volumiques inférieures à 4 %. Cependant, pour une concentration de 8 %, la vitesse de nage augmente alors que les écarts-types des vitesses V_x et V_y semblent rester stables. Bien que cela puisse sembler contradictoire, il nous faut prendre en compte le fait que les corrélations de vitesses pour cette même fraction volumiques atteignent des tailles du même ordre que la taille du champ de vision. Les structures de l'écoulement sont donc telles que les variations de vitesse dans ce champ de vision sont réduites, ce qui se traduit par une diminution de l'écart-type de leurs distributions. En revanche, la mesure des modules de vitesses n'est en rien affectée par cet effet de structuration, ce qui permet de continuer à visualiser son augmentation avec la fraction volumique. Ce résultat fait écho à ceux obtenus par différentes équipes, résultats aussi bien théoriques [26, 27] qu'expérimentaux [30].

3.3 Étude statistique de la formation de clusters

Une autre façon de mesurer l'apparition de mouvements collectifs est de s'intéresser à la formation des groupes de nageurs appelés clusters. Ce travail, bien que récent et encore en cours de mûrissement, permet de regarder les mouvements collectifs selon un autre angle de vision et de regarder si ces clusters expliquent les mouvement collectifs vu précédemment. Pour cela, il faut tout d'abord choisir les critères qui déterminent l'appartenance d'une particule à un groupe de nageurs ou à un autre.

Un premier type de critère porte sur la distance séparant deux E. Coli, ainsi deux particules suffisamment proches sont considérées comme membre d'un même cluster. Cependant, les particules considérées étant des nageurs, il nous est possible d'utiliser leurs déplacements comme base pour un critère qui porte alors sur une cohérence de nage. Deux bactéries ayant des directions de nage proches sont intégrées dans un même cluster. Cette méthode a l'avantage de se baser sur la notion de mouvement collectif, c'est à dire la formation d'une cohérence de nage à grande échelle entre les bactéries, nous choisissons donc ce critère angulaire appliqué sur liens du réseau reliant les bactéries, réseau qui est défini plus bas.

Afin de les appliquer aux suspensions utilisées lors de ces expériences, nous utilisons les données obtenues au moyen du *tracking* de particules qui nous donne à la fois la position et la vitesse des bactéries. À chaque temps de la vidéo, un réseau reliant toutes les positions est calculé au moyen de la méthode de la triangulation de Delaunay [61]. Celle-ci consiste à créer des triangles reliant les particules de telle sorte que les cercles circonscrits à chaque triangle ne contienne que les particules du-dit triangle. Les arêtes de ces triangles correspondent aux couples de bactéries qui sont testés pour définir les clusters. Les conditions d'acceptations sont donc testées à un niveau *microscopique*, c'est-à-dire sur un couple. Il est possible de prendre en compte le fait que seuls deux couples au sein d'un même triangle correspondent au critère choisi. Les trois particules sont alors liés entre-elles, y compris celles qui ne sont pas couplées par le critère. Dans le cas où le couple est l'entité de base des clusters, cela ne pose pas de problème particulier. Cependant, si l'on prend le triangle pour brique élémentaire, cet état ne peut être accepté, il est alors nécessaire de briser un autre couple afin que seul les deux particules les plus semblables soient liées.

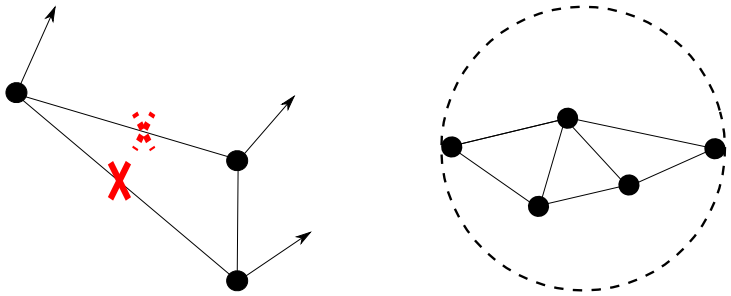
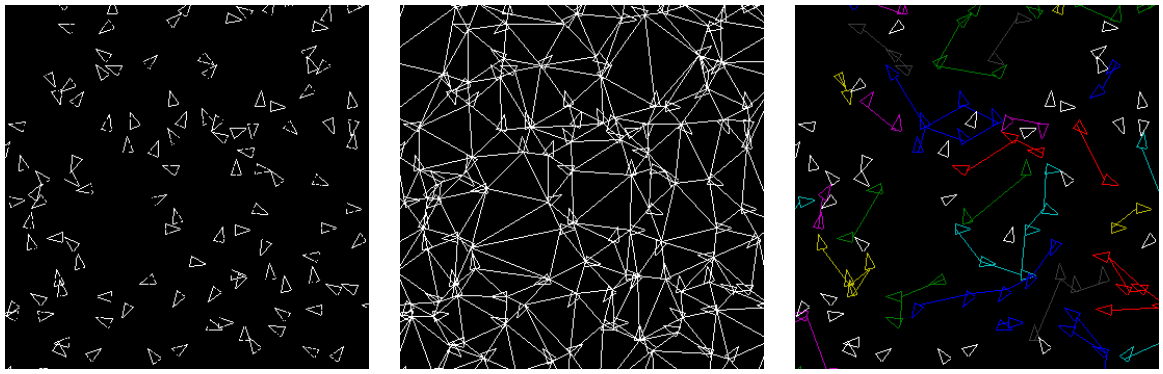


FIGURE 3.14 – a) : Schéma du test sur les couples d'un triangle dont l'un des liens ne respecte pas le critère imposé. Dans le cas des *éléments-couples*, les deux liens respectant le critère sont acceptés. Dans le cas des *éléments-triangles*, seul est conservé celui qui respecte le plus le critère. b) : Schéma d'un cluster comprenant $N = 5$ particules et dont l'extension Δ est définie comme le diamètre du cercle en pointillés.

Au delà de ces conditions à petite échelle, rien dans le protocole de traitement n'empêche de raccorder les trois particules d'un même triangle an passant par les autres triangles du réseau de Delaunay. De même, il n'existe aucune condition à grande échelle. L'influence du critère sur la taille des clusters se produit indirectement. Cette dernière peut se mesurer de deux façons, le nombre de bactéries composant le cluster, ou bien la taille réelle de celui-ci. Cette taille, dite « extension » est définie comme la distance séparant les deux particules les plus éloignées du cluster.

Une fois ce traitement effectué sur chaque image de la prise de vue, il est possible d'en extraire plusieurs informations comme la distribution de taille des clusters, la distribution de probabilité pour une particule d'appartenir à un cluster d'une taille donnée. Celles-ci nous renseignent sur

l'influence de la fraction volumique sur la formation de groupes de nageurs. Il est également possible d'étudier la variation de la vitesse moyenne de nage des nageurs incorporée dans le cluster ainsi que celle de la vitesse globale du cluster lui-même en fonction de sa taille.



a) b) c)

FIGURE 3.15 – Exemple du résultat de l'algorithme de tracking pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et un angle $\delta\theta = 25^\circ$. a) Résultats de la détection. b) Triangulation de Delaunay. c) Clusters finaux, les triangles blancs représentant les bactéries solitaires. Les triangles indiquent la direction de nage.

Pour déterminer la valeur optimale de ces paramètres d'acceptations, nous passons par la mesure de la taille moyenne des clusters présents dans le cas d'une fraction volumique $\phi = 1\,\%$ et pour plusieurs paramètres d'acceptations. Les données suivantes sont alors obtenues.

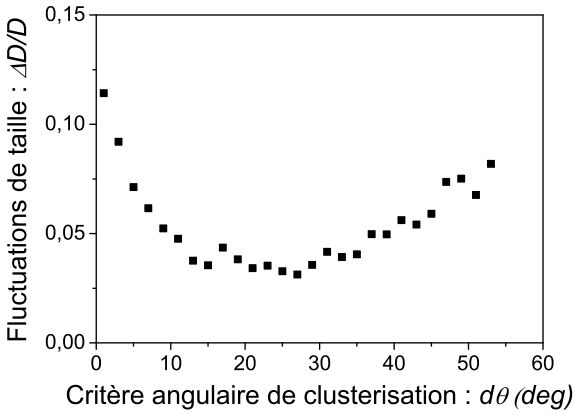


FIGURE 3.16 – Fluctuations de l'extension des clusters pour différents $\delta\theta$ et $\phi = 1\,\%$.

On remarque sur cette figure l'existence d'un plateau sur les fluctuations de taille pour des valeurs de paramètres d'acceptation comprises entre 20° et 30°. Nous choisissons donc d'effectuer les mesures statistiques sur les clusters pour un paramètre $\delta\theta = 25^\circ$.

Pour étudier le comportement de cette mesure avant de l'appliquer de manière systématique sur les suspensions bactériennes, nous proposons d'étudier les données obtenues sur un système créé artificiellement en créant aléatoirement des nageurs dont le nombre correspond aux expériences réalisées sur un domaine de taille identique à celui de l'expérience. Les directions de nages sont uniformément distribuées dans l'espace. La vitesse des nageurs est, quant à elle, fixée à une valeur constante $U_0 = 1$. Les distributions de taille de clusters en nombre et en extension donnent alors les courbes présentées en figure 3.17. L'extension est alors mesurée par rapport à la longueur

typique séparant deux particules $l_0 = \sqrt{S/N_{\text{bact}}}$ avec S la surface de la projection du champ de vision dans le plan d'observation et N_{bact} le nombre de particules dans ce même champ car elle constitue la longueur typique du système dans le cas de particules ponctuelles.

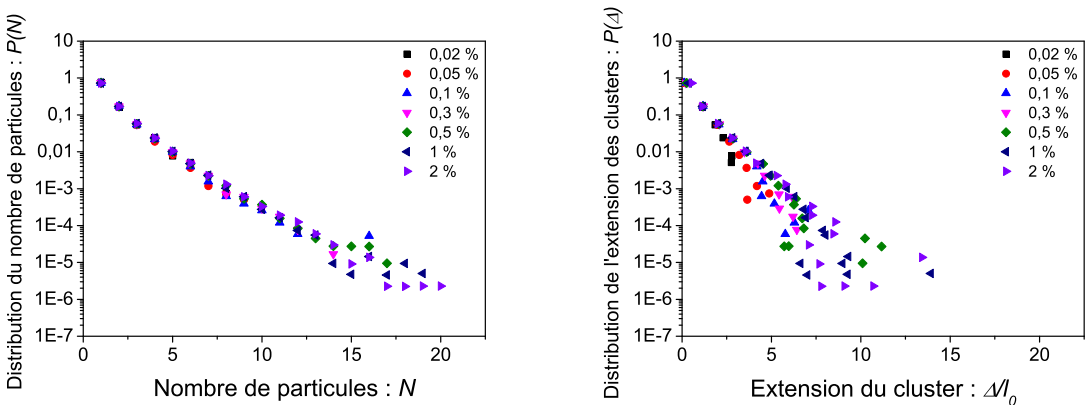


FIGURE 3.17 – Distributions des tailles de clusters dans le cas de particules créées aléatoirement pour différentes fractions volumiques et pour $\delta\theta = 25^\circ$. À gauche : distribution du nombre de particules. À droite : distribution de l'extension des clusters.

Ces courbes décroissent de manière quasi exponentielle avec la taille des clusters. On remarque également que les distributions en nombre de particules $P(N)$ semblent être indépendantes de la fraction volumique. Les distributions d'extension de ces mêmes clusters, lorsque l'on normalise celle-ci par la distance typique entre deux particules, seule distance existant dans la simulation, décroissent avec une pente quasi similaire bien que l'on remarque un léger écartement des courbes. Le caractère exponentiel de ces distributions nous permet de mesurer aisément leur décroissance typique par le biais de la valeur moyenne du nombre de particules N et de l'extension des clusters Δ.

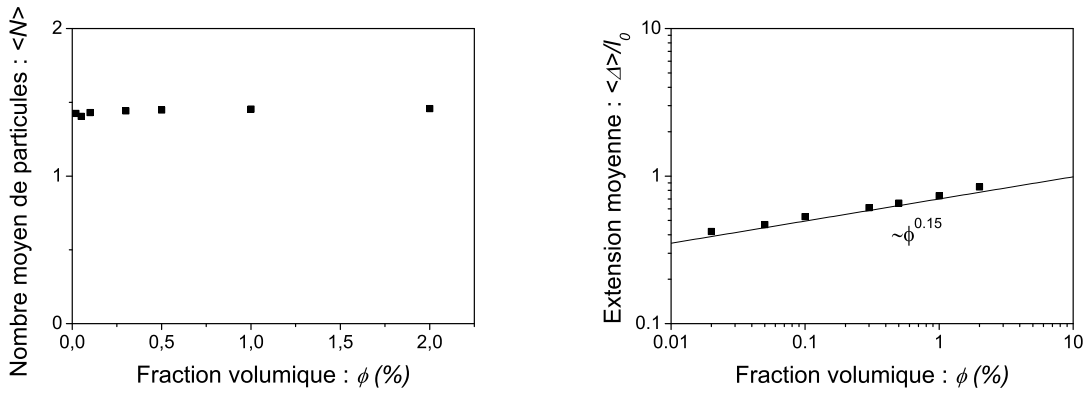


FIGURE 3.18 – Valeurs moyennes des tailles de clusters dans le cas de particules créées aléatoirement pour différentes fractions volumiques et pour $d\theta = 25^\circ$. À gauche : nombre moyen de particules dans un cluster. À droite : extension moyenne des clusters.

On remarque que le nombre moyen de particules dans un cluster est constant et prend une valeur d'environ 1.4 particules. Cela est du au fait que la distance entre les particules n'intervient pas dans la définition des cluster, or les orientations des particules numériques étant purement aléatoires, la probabilité pour qu'un couple de particule soit accepté par le programme est constante et vaut $d\theta/\pi$ indépendamment de la fraction volumique. D'autre part, en ce qui concerne la distri-

bution de l'extension de clusters $P(\Delta)$, la taille caractéristique de la distribution semble dépendre directement de la concentration en particules comme $< \Delta > /l_0 \propto \phi^{0.15}$.

Cette valeur est peu intuitive. On s'attendrait à retrouver une valeur constante puisque la longueur l_0 est directement liée à la fraction volumique. Cela ressemble au phénomène dit des animaux de percolation, cependant notre cas ne correspond pas à une percolation car les valeurs attachées aux liens sont interdépendantes. Elles ne peuvent donc pas être tirées de façon purement aléatoire mais doivent suivre une règle. Cette puissance particulière peut également être liée au fait que le nombre moyen de particules est inférieur à 2, ce qui signifie que les clusters sont globalement unidimensionnels.

Malgré tout, grâce à ces données générées artificiellement nous connaissons le comportement attendu dans le cas purement aléatoire et nous savons expliquer la variation de chacune des grandeurs évoquées précédemment. Nous pouvons donc étudier ce qui se produit dans le cas de données extraites des expériences basées sur les E. Coli.

De la même façon que pour les nageurs numériques, nous commençons par étudier les distributions de taille des clusters présents en suspension à la fois dans le cas de la taille en nombre et de la taille en unité de longueur.

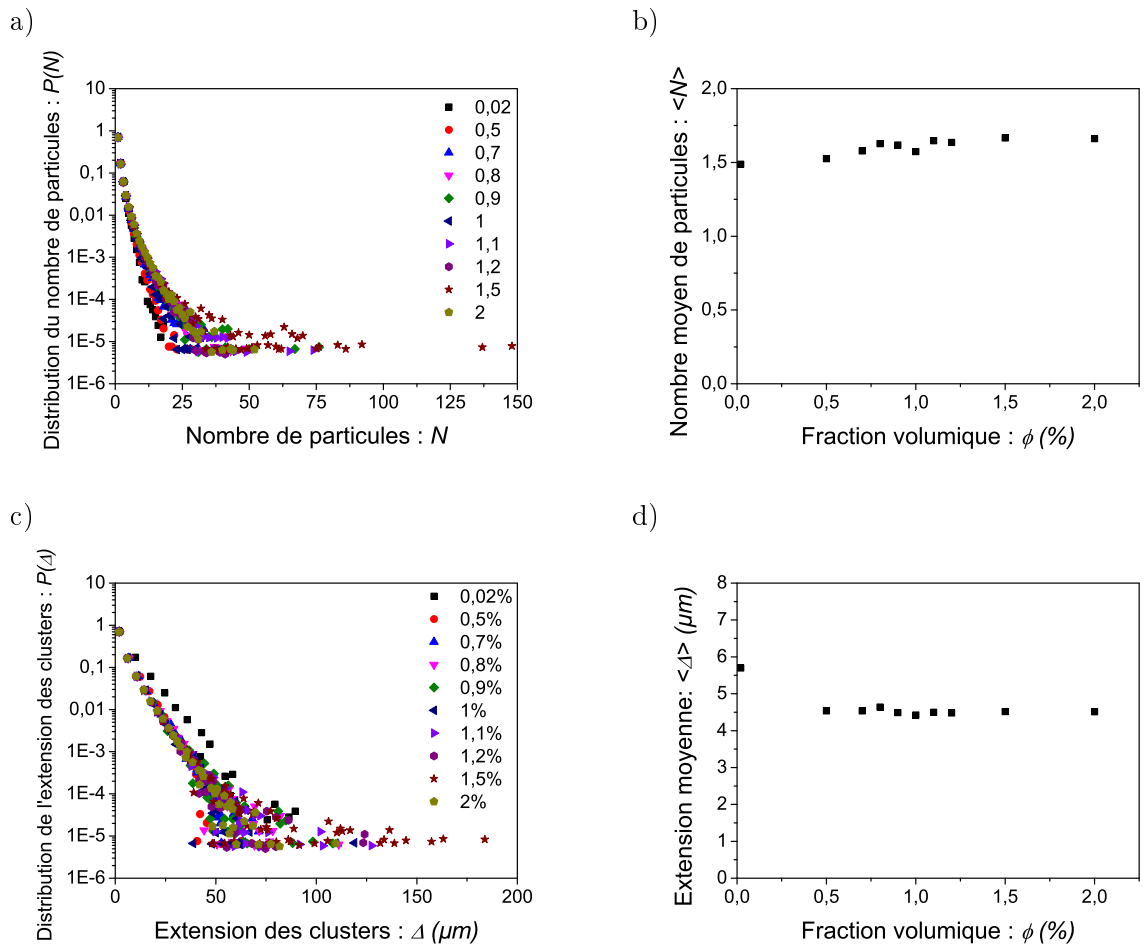


FIGURE 3.19 – Distributions et moyennes des tailles de clusters dans le cas de bactéries pour différentes fractions volumiques et pour un paramètres $d\theta = 25^{\circ}$.a) distribution du nombre de particules. b) nombre moyen de particules dans un cluster. c) distribution de l'extension des clusters. d) extension moyenne des clusters.

Lorsque l'on regarde ces courbes, plusieurs choses ressortent très clairement si on les compare

à celles obtenues au moyen de données numériques, la forme des distributions des tailles en nombre et le regroupement des distributions.

La forme de $P(N)$, figure 3.19 a), est assez différente de celle vue précédemment en ce qu'elle semble sortir du cadre strictement exponentiel. Il est possible d'identifier un changement de comportement aux alentours d'une taille de 15 bactéries. Malheureusement, cette valeur correspond à la queue de la courbe obtenue dans le cas des nageurs fictifs, il est donc difficile de se prononcer sur ce point. En revanche, il est visible que les distributions ne se regroupent plus autour d'une courbe maitresse contrairement au cas précédent. Cela semble aller dans le sens d'une variation du nombre moyen de bactéries dans un cluster avec la concentration, et donc d'un changement de comportement des bactéries. De plus, si l'on essaie de définir qualitativement cette variation, il semble que plus la concentration est élevée, plus les clusters de grande taille sont nombreux.

Si l'on réfléchit en terme d'extension, figure 3.19 c), on remarque que toutes les courbes sont de type exponentielle et qu'elles se superposent autour d'une courbe maitresse, à l'exception de la fraction volumique la plus faible. Cette forme exponentielle semble aller dans le même sens que le cas fictif, cependant ce regroupement est inédit. Pour aller plus loin, il nous faut étudier directement les tailles moyennes de clusters.

On voit sur les figures b) et d) que les clusters conservent une extension constante alors que le nombre moyen augmente légèrement avec la fraction volumique. Cela semble indiquer l'existence d'une taille d'écrantage dans le système.

Ce résultat sur l'extension des clusters semble être en contradiction avec celui obtenu au moyen des corrélations de vitesse et d'orientation. En effet, l'échelle des tailles ainsi que leur variation sont très différentes. En cela, il nous apprend que les clusters tels que nous les avons définis ne sont pas moteurs des corrélations de vitesse et d'orientations que nous avons pu voir plus haut. Cependant, ils possèdent une statistique propre qui est intéressante en elle-même.

L'étude des vitesses des clusters a également un comportement particulier avec la taille qu'il nous faut relever.

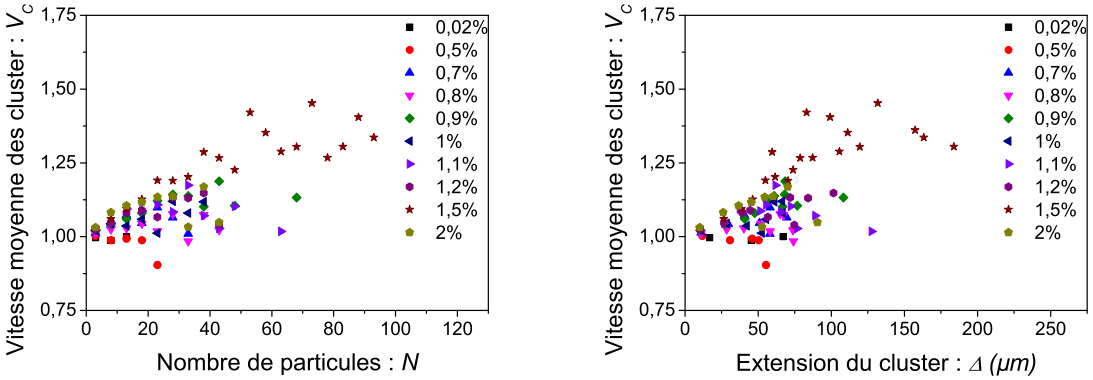


FIGURE 3.20 – Vitesse de déplacement du centre de masse des clusters en fonction de leurs tailles et pour différentes fraction volumiques dans le cas bactéries. À gauche : variation avec la taille en nombre de particules. À droite : variation en fonction de la taille en unité de longueur.

La caractéristique principale de ces résultats est le fait que la vitesse de déplacement des clusters augmente avec le nombre de bactéries qu'ils contiennent ou leur extension. Cela ne peut pas s'expliquer par la distribution d'orientation seule. Pour que ce soit possible, il faut introduire le fait que la vitesse de nage des bactéries varie également lorsqu'elles se trouvent dans des clusters

de grande taille. Pour le vérifier, nous pouvons regarder directement la moyenne des modules de vitesse au sein des clusters.

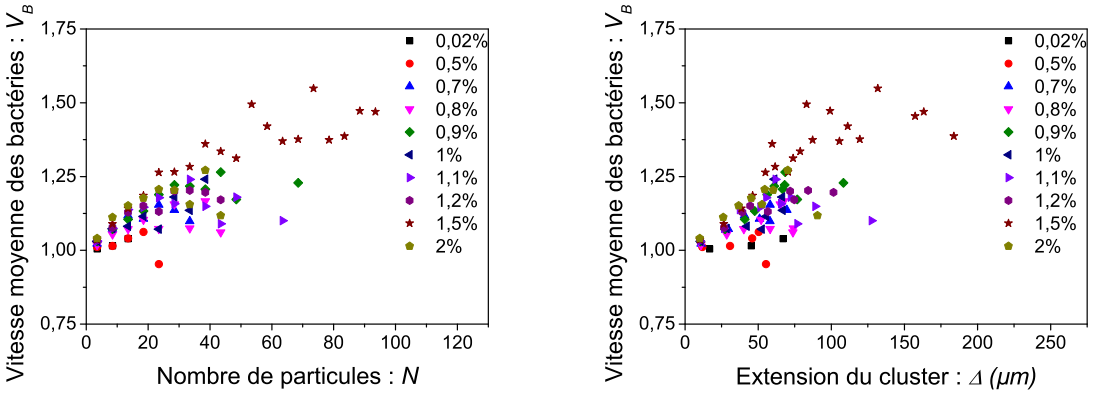


FIGURE 3.21 – Vitesse moyennes des bactéries au sein des clusters en fonction de la taille du cluster les contenant et pour différentes fraction volumiques et dans le cas bactéries. À gauche : variation avec la taille en nombre de particules. À droite : variation en fonction de la taille en unité de longueur.

On voit qu'en effet les bactéries nagent d'autant plus vite que le cluster les comprenant est grand. De plus, cette vitesse semble varier linéairement avec la taille en unité de longueur des clusters. On peut également remarquer que lorsque la fraction volumique augmente, la pente caractérisant cette variation augmente elle aussi. Cet accroissement de la vitesse avec le nombre de particules dans un cluster va dans le même sens que certains résultats numériques de D.Saintillan [26] dans lesquels il expose une augmentation similaire de la vitesse de nage avec la densité.

Les clusters constitués par traitement de données à partir de notre définitions ayant des caractéristiques attendues, ils sont physiquement pertinents. En revanche il n'en demeure pas moins qu'ils ne semblent pas à l'origine des corrélations de vitesses à grande échelles observés dans la première partie de ce chapitre.

3.4 Conclusion

Ce travail expérimental nous a permis de voir que lorsque des E. Coli sont présentes dans un fluide, elles ont tendance à organiser leur nage en un mouvement collectif, et que celui-ci apparait progressivement lorsque la concentration en bactéries augmente du régime dilué eu semi-dilué.

Pour de faibles concentration, un régime semblable à celui-ci de *clusters* décrit dans le cas des particules nématiques avec des bancs de bactéries nageant dans des directions plus ou moins identiques. Cet alignement peut être dû aux interactions hydrodynamiques entre les nageurs, avec une contribution des collisions directes entre eux, qui introduit un ordre dans le système.

Pour des concentrations plus élevées, un régime proche de la bioturbulence semble apparaître comme dans le cas de *Bacillus Subtilis* [22,25,27,58].

De ces observations, les longueurs de corrélation des vitesses ainsi que des orientations ont été calculées. Ils montrent une augmentation quasi-linéaire de la taille des structures avec la concentration de bactéries. Cela va qualitativement dans le même sens que les résultats de D.Saintillan et M.J.Shelley [26] dont les simulations ne prennent en compte que les interactions hydrodynamiques entre les nageurs.

De manière intéressante, on observe une saturation de la longueur de corrélation avec la concentration lorsque les bactéries sont privée d'oxygène. Ces résultats montrent l'existence d'un temps caractéristique limitant l'extension spatiale du mouvement collectif [27]. En pratique, ce temps est très certainement relié au temps de *run* du nageur, ce qui correspond au fait que ce temps diminue avec l'appauvrissement du milieu en oxygène [62], résultat consistent avec ceux de A.Sokolov dans le cas des *Bacillus Subtilis* [27].

L'existence de ce mouvement collectif dans les suspensions de bactéries doit avoir une importance dans les propriétés macroscopiques de ces suspensions et être pris en compte dans les futur modèles pour le cas semi-dilué.

Chapitre 4

Étude numérique de la cinétique de nage dans un écoulement et de la capture par les parois

Dans ce chapitre, nous présentons un travail effectué en collaboration *ECOS-Sud* avec R.Soto de l'Université du Chili, travail qui s'intéresse aux interactions qui peuvent exister entre des nageurs et un écoulement imposé ainsi qu'aux moyens de le caractériser numériquement, tout en cherchant des grandeurs facilement mesurables expérimentalement. En effet, le cisaillement induit un gradient de vitesse qui peut avoir des effets sur les particules en suspension.

Le premier effet est celui de l'entraînement, les particules sont transportées par le fluide et la vitesse de nage s'ajoute vectoriellement à la vitesse du fluide. Le second effet est celui d'une rotation de l'axe principal des particules sous l'action du cisaillement, dont la cinématique peut être représentée par l'équation Jeffery, présentée au début de ce document [55]. En outre, il peut y avoir des effet hydrodynamiques de couplage entre la forme des bactéries, leur flagelles et le cisaillement, en particulier si ces structures présentent une hélicité, la bactérie subit une force dite de *rheotaxie* transverse au cisaillement [57]. À ces effets, on peut ajouter des contributions stochastiques provenant soit du changement de direction provoqué par les bactéries, le *tumbling*, soit des contributions browniennes agissant sur les degrés de liberté de rotation et de translation.

Pour des particules passives transportées dans des conduits cylindriques ou dans des cellules de Hele-Shaw, la combinaison du cisaillement et du mouvement brownien induit une dispersion longitudinale dite de *Taylor-Aris* [63,64]. Cet effet, purement cinétique, est dû au fait que, selon l'endroit où l'on se place, la vitesse du fluide est différente. Une particule subit alors une vitesse d'entraînement différente selon sa position et la diffusion permet à la particule d'explorer diverses lignes de courant. Pour le voir, considérons le cas d'un écoulement de Poiseuille cylindrique.

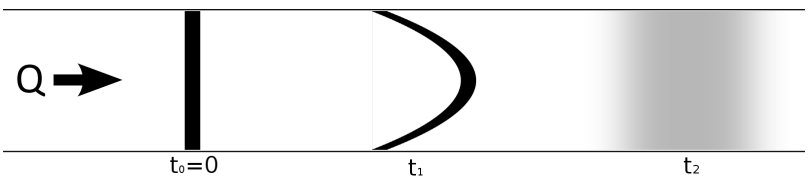


FIGURE 4.1 – Schéma explicatif de la dispersion de Taylor-Aris. L'aspect diffusif caractéristique de cette dispersion apparaît pour des temps long ($t_2 \gg t_1$).

Si on place à un instant $t = 0$ une distribution homogène de particules dans un écoulement de Poiseuille entre les positions z et $z + dz$, en raison de la géométrie de l'écoulement, les particules situées au centre du cylindre sont entraînées plus vite, et donc plus loin, que celles situées en périphérie. Le front des particules est alors déformé par l'écoulement. S'ajoute à cela la diffusion brownienne ayant une composante transverse à l'écoulement. Pour les temps très long devant le temps de diffusion sur la largeur du canal, la distribution des particules se déplace avec la vitesse moyenne de l'écoulement et voit sa largeur grandir en racine carrée du temps comme dans le cas d'une diffusion classique.

Pour des particules browniennes sphériques, Taylor et Aris ont montré que la diffusion longitudinale peut s'écrire comme :

$$D_{\text{eff}} = D_{\text{Brown}} \left(1 + \frac{1}{192} Pe_R^2\right), \tag{4.1}$$

avec D_{Brown} la diffusion transverse de la particule, et $Pe_R = 2R\bar{v}/D_{\text{Brown}}$ le nombre de Péclet basé sur le rayon R du conduit cylindrique et la vitesse moyenne $\bar{v}$ du fluide.

Dans le cas de bactéries actives, la diffusion transverse à considérer n'est plus la simple diffusion Brownienne, voire une diffusion active générée par la dynamique de *run/tumble*, mais vient s'ajouter la contribution cinétique qui prend son origine dans les trajectoires complexes des bactéries se déplaçant dans un gradient de cisaillement (trajectoires de Jeffery « actives »).

4.1 Modèle théorique

Dans le modèle que nous allons décrire ici, le nageur possède une vitesse de nage U_0 et on considère qu'il change de direction selon une loi statistique de Poisson avec un temps typique t_{run}. L'angle de changement de direction est pris aléatoirement selon la distribution proposée par Berg. L'écoulement que nous proposons d'étudier ici est un écoulement de Poiseuille cylindrique.

Le temps caractéristique t_{shear} associé au cisaillement hydrodynamique correspond à l'inverse du gradient de vitesse moyen $\langle\dot{\gamma}\rangle$, ce qui donne :

$$t_{shear} = \frac{R}{V_0}, \tag{4.2}$$

où R est le rayon du cylindre et V_0 la vitesse maximale de l'écoulement.

On peut définir en outre, deux temps caractérisant l'interaction entre le nageur et l'écoulement. Tout d'abord un temps balistique t_{bal} correspondant au temps nécessaire au nageur pour traverser le cylindre en largeur dans son régime balistique. En se plaçant dans l'hypothèse d'une nage isotrope, il s'écrit comme :

$$t_{\text{bal}} = \frac{\sqrt{3}R}{U_0}. \tag{4.3}$$

Finalement un temps de diffusion de Taylor t_{Taylor} correspondant au temps nécessaire à un nageur pour parcourir la largeur du cylindre par diffusion. Il s'écrit :

$$t_{\text{Taylor}} = \frac{R^2}{2D_{\text{Taylor}}}, \tag{4.4}$$

avec D_{Taylor} un coefficient de diffusion transverse que nous allons définir.

Il existe dans le système que nous étudions trois grandes sources de transport diffusif contribuant à l'exploration transverse des lignes de courant. La première est la diffusion Brownienne due aux fluctuations thermiques agissant sur les degrés de liberté en translation.

$$D_{\text{Brown}_\text{t}} = \frac{k_B T}{6\pi\eta_0 r}, \tag{4.5}$$

avec r le rayon du corps de la bactérie assimilée à une sphère ;

ou en rotation :

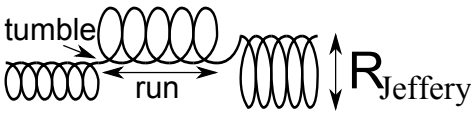
$$D_{\text{Brown}_\text{r}} = \frac{k_B T}{\eta_0 l^3}, \tag{4.6}$$

avec l est la longueur totale de la bactérie assimilée à bâtonnet rigide.

La seconde contribution est celle due au mouvement intrinsèque des nageurs D_{Berg} [9,10] qui effectuent des *run and tumble* dans l'écoulement.

$$D_{\text{Berg}} = \frac{U_0^2 t_{\text{run}}}{3} \tag{4.7}$$

La troisième contribution provient de l'interaction entre l'écoulement et le nageur [55]. Cette contribution cinématique induit lors des *run* des trajectoires particulières appelées orbites de Jeffery qui, en conduit cylindrique, provoque des trajectoires hélicoïdales. Ces trajectoires changent à chaque *tumble*. Comment un mouvement diffusif longitudinal ou transverse peut apparaître suite à ces mouvements est une question a priori difficile. Elle sera traitée en détail par la suite. En revanche, du point de vue dimensionnel, nous proposons une remise à l'échelle du coefficient effectif de diffusion de la manière suivante :



$$\begin{aligned} D_{\text{Jeffery}} &\propto \frac{R_{\text{Jeffery}}^2}{t_{\text{run}}} \\ &\propto \frac{U_0^2 t_{shear}^2}{t_{\text{run}}} \\ &\propto \frac{U_0^2 R^2}{t_{\text{run}} V_0^2}, \end{aligned} \tag{4.8}$$

avec R_{Jeffery} le rayon caractéristique des trajectoires de Jeffery (schéma).

Dans cette étude, nous nous limitons au cas où le mouvement brownien a une influence négligeable sur les contributions hydrodynamiques et sur les changements de direction dus aux *tumbles* ce qui se justifie pour des bactéries de la taille des E.coli.

On peut concevoir que lorsqu'il n'y a pas d'écoulement, la diffusion totale D_{Taylor} ne comprend que la diffusion purement active du nageur et au contraire, pour des vitesses d'écoulement très élevées, le processus de mélange lié au couplage entre la nage et les orbites de Jeffery devient prépondérant et masque entièrement la diffusion active.

Ces deux limites nous amènent à proposer que le coefficient de diffusion total D_{Taylor} puisse prendre une forme selon la relation :

$$\frac{1}{D_{\text{Taylor}}} = \frac{\alpha}{D_{\text{Jeffery}}} + \frac{1}{D_{\text{Berg}}} \tag{4.9}$$
$$D_{\text{Taylor}} = \frac{U_0^2 R^2 t_{\text{run}}}{\alpha V_0^2 t_{\text{run}}^2 + R^2},$$

avec α un coefficient sans dimension qui tient compte du détail des processus de mélange et aussi du coefficient de Bretherton β caractérisant l'élongation des bactéries dans l'équation de Jeffery. En réintroduisant cette diffusivité transverse dans la formule pour le temps caractéristique de diffusion, on trouve un t_{Taylor} comme :

$$t_{\text{Taylor}} = \kappa \frac{\alpha V_0^2 t_{\text{run}}^2 + 3R^2}{2U_0^2 t_{\text{run}}}, \tag{4.10}$$

avec κ un coefficient de proportionnalité adimensionnel.

On s'attend donc à trouver dans nos simulations et éventuellement les expériences, un temps caractéristique t_c de déplacement transverse qui ira comme t_{bal} aux temps courts devant t_{run} et t_{shear}, c'est à dire dans la partie balistique du mouvement, et qui ira comme t_{Taylor} aux temps longs.

$$t_c = t_{\text{bal}} \propto \frac{\sqrt{3}R}{U_0} \qquad t \ll t_{\text{run}} \tag{4.11}$$

$$t_c = t_{\text{Taylor}} = \kappa \frac{\alpha V_0^2 t_{\text{run}}^2 + 3R^2}{2U_0^2 t_{\text{run}}}. \qquad t \gg t_{\text{run}}$$

On s'attend donc à ce que ce temps présente deux comportements, une constante à faible vitesse d'écoulement V_0 et une loi d'échelle en V_0^2 pour des écoulements rapides avec une transition située à une vitesse d'écoulement $V_0 \approx \sqrt{\frac{3R^2}{\alpha t_{\text{run}}^2}}$.

En suivant la même logique, il est possible de définir deux longueurs caractéristiques en considérant la distance moyenne d_c sur laquelle les particules ont voyagé pendant un temps t_c :

$$\begin{aligned} d_c &= \delta < V(r) > t_c \\ &= \delta \frac{V_0}{2} t_c. \end{aligned} \tag{4.12}$$

De la même manière que t_c, d_c prend des formes asymptotiques différentes selon que la mesure est faite aux temps courts ou aux temps long :

$$d_c = \delta \frac{\sqrt{3} V_0 R}{2U_0} \qquad t \ll t_{\text{run}} \tag{4.13}$$

$$d_c = \delta\kappa \frac{V_0 \left(\alpha V_0^2 t_{\text{run}}^2 + 3R^2\right)}{4U_0^2 t_{\text{run}}}. \qquad t \gg t_{\text{run}}$$

4.2 Mise en place de la simulation numérique

4.2.1 Ingrédients du programme

L'objectif de cette simulation est de modéliser un écoulement de suspensions bactériennes en trois dimensions dans un tube capillaire. Cependant, nous nous sommes placés dans la limite extrêmement diluée. En effet, nous ne considérons que les trajectoires d'un nageur solitaire. De plus, nous négligeons le mouvement brownien, ainsi que les interactions avec parois dues aux champs hydrodynamiques créés par le nageurs. Nous nous sommes concentrés sur la cinématique de nage résultant de l'action du cisaillement sur le nageur. Pour ces raisons, nous mettons de côté le champ hydrodynamique créé par le nageur et tout effet de type rhéotactique. Pour évaluer la cinématique du déplacement, nous faisons l'approximation que le nageur se comporte, entre deux *tumbles*, comme un ellipsoïde rigide se mouvant à vitesse de nage constante en module, dans le fluide lui-même soumis à un cisaillement suivant un profil de vitesse de Poiseuille.

Tout d'abord, il nous faut introduire des paramètres adimensionnés. Nous avons choisi de fixer la vitesse des bactéries U_0 et le temps de *run* t_{run}, comme respectivement unités de vitesse et de longueur. En effet, les caractéristiques des bactéries sont plus difficiles à moduler expérimentalement que celles du dispositif microfluidique, elle serviront donc de référence.

Pour intégrer numériquement les équations du mouvement nous avons utilisé une méthode d'Euler, ou intégration explicite. Cette méthode a l'avantage d'être très simple à mettre en place, lorsque sont combinés des suites d'événements déterministes et aléatoires. La stabilité de cette méthode dépend grandement du pas de temps d'intégration. Nous l'avons donc choisi le plus petit possible tout en tenant compte de temps de calculs raisonnables. Le temps choisi est $dt = 0.01 t_{\text{run}}$ ce qui nous permet de bien définir les plages de nage rectiligne.

Concernant les événements aléatoires, c'est à dire les *tumbles* actifs, nous avons choisi d'utiliser une méthode de Monte-Carlo pour choisir les temps de run et l'amplitude de la réorientation. Bien que cette méthode induise une perte en temps de calcul, elle est celle dont le rapport simplicité/efficacité est le plus intéressant.

Le nageur est décrit par plusieurs paramètres et variables. Outre ses vecteurs position $\overrightarrow{r}_0$ et direction $\overrightarrow{n}_0$, il est défini par sa vitesse de nage U_0, son temps moyen de *run* t_{run} ainsi que le coefficient de Bretherton β caractérisant l'élongation de l'ellipsoïde et donné par la formule :

$$\beta = \frac{r^2 - 1}{r^2 + 1}, \tag{4.14}$$

où r est le rapport d'aspect de l'ellipsoïde.

Le temps de *run* est choisi comme une variable aléatoire poissonienne dont l'espérance est égale à t_{run}. La probabilité d'un tel évènement est testée à chaque pas de temps selon la condition classique $X < dt/t_{\text{run}}$, avec X une variable aléatoire uniforme entre 0 et 1. Un *tumble* se produit chaque fois que cette condition est respectée.

Pour définir l'amplitude angulaire du tumble, la réorientation du vecteur directeur est calculée d'après le modèle phénoménologique écrit dans un article de J.Saragosti [15] et basé sur des données de H.C.Berg [8]. Celui-ci décrit la distribution de l'angle entre les directions de nage avant et après le *tumble*. La solution de l'équation de diffusion angulaire présentée dans cet article donne :

$$p(\theta, t) = \sum_{l=0}^{\infty} \frac{2l+1}{2} e^{-D_r l(l+1)t} P_l(\cos\theta) \sin\theta, \tag{4.15}$$

avec P_l le polynôme de Legendre d'ordre l et D_r la diffusion de rotation.

Afin de simplifier le programme, nous approximons cette formule, une fois celle-ci ajustée sur les résultats de H.C.Berg, par une fonction polynomiale, obtenant alors la fonction :

$$p(\theta) \approx -4.03 \times 10^{-9}\theta^4 + 2.44 \times 10^{-6}\theta^3 - 4.80 \times 10^{-4}\theta^2 + 3.10 \times 10^{-2}\theta. \tag{4.16}$$

C'est à partir de celle-ci qu'est effectuée la méthode de Monte-Carlo permettant de déterminer l'angle θ de redirection des nageurs. Le second angle ϕ est quant à lui tiré uniformément entre 0 et 2π.

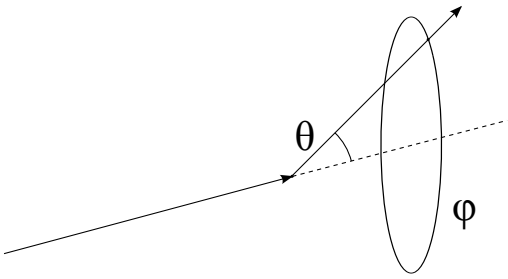


FIGURE 4.2 – Schéma d'un tumble actif.

Il est important de noter que dans la simulation numérique nous supposons par simplification que le changement de direction dû au *tumble* actif est instantané.

Nous avons intégré dans les simulations plusieurs types d'écoulements se couplant à la cinétique de nage afin de lui conférer la plus grande versatilité possible.

Le premier est un écoulement « plat », c'est à dire sans cisaillement, ce qui nous permet de tester le bon fonctionnement du programme.

$$v = V_0 \hat{e}_x, \tag{4.17}$$

avec V_0 la vitesse maximale dans l'écoulement.

Le second est un écoulement de Couette. Son principal intérêt est de reproduire ce qu'il se passe dans un rhéomètre classique lorsque celui-ci est chargé d'une suspension bactérienne.

$$v(z) = \frac{zV_0}{2R} \hat{e}_x. \tag{4.18}$$

Le troisième est un écoulement parabolique sans parois verticales. Il est une limite des écoulements en cellule de type Hele-Shaw et peut servir de base de comparaison avec des expérimentations que nous avons effectuées au laboratoire et dont une partie est présentée plus loin dans ce document.

$$v(z) = 4V_0 \frac{z(z-2R)}{4R^2} \hat{e}_x. \tag{4.19}$$

Le quatrième est un écoulement de Poiseuille dans un capillaire cylindrique. C'est celui que nous avons regardé en priorité car il associe plusieurs qualités qui nous semblent indispensables,

à savoir un écoulement parfaitement défini et circonscrit dans deux directions de l'espace. Il est d'ailleurs prévu dans le futur de faire des expériences sur cette géométrie et de les comparer avec le modèle numérique présenté dans ce chapitre.

$$v(r) = V_0 \left(1 - \frac{r^2}{R^2}\right) \hat{e}_z. \tag{4.20}$$

À l'avenir, il est prévu d'ajouter des écoulements supplémentaires comme par exemple une géométrie rectangulaire plus réaliste qu'un écoulement parabolique simple.

Tous ces écoulements sont définis par deux grandeurs, une vitesse maximale et une taille caractéristique. Une fois intégrés dans l'équation du profil de vitesse, celui-ci est entièrement paramétré. Cette taille caractéristique sert également à définir la position des parois du dispositif simulé.

Connaissant les équations exactes du profil de vitesse, il est donc possible de donner pour chaque position possible dans l'écoulement la vitesse local, et donc celle d'entraînement d'une particule, ainsi que le gradient de vitesse local, et donc la modification du vecteur directeur du nageur grâce aux équations de G.B.Jeffery [55] qui s'écrivent :

$$\partial_t \overrightarrow{n} = (I_3 - \overrightarrow{n}\,\overrightarrow{n})(\beta \overline{\overline{\mathrm{S}}} + \overline{\overline{\mathrm{A}}})\overrightarrow{n}, \tag{4.21}$$

avec $\overline{\overline{\mathrm{S}}}$ le tenseur symétrique du cisaillement, et $\overline{\overline{\mathrm{A}}}$ le tenseur antisymétrique et qui sont définis comme :

$$\overline{\overline{\mathrm{S}}} = \frac{\overline{\overline{\mathrm{G}}} + {}^t\overline{\overline{\mathrm{G}}}}{2}, \quad \text{et} \quad \overline{\overline{\mathrm{A}}} = \frac{\overline{\overline{\mathrm{G}}} - {}^t\overline{\overline{\mathrm{G}}}}{2}, \tag{4.22}$$

où $\overline{\overline{\mathrm{G}}}$ est le tenseur de cisaillement qui s'écrit comme :

$$\overline{\overline{\mathrm{G}}} = \begin{pmatrix} \frac{\partial V_x}{\partial x} & \frac{\partial V_x}{\partial y} & \frac{\partial V_x}{\partial z} \\ \frac{\partial V_y}{\partial x} & \frac{\partial V_y}{\partial y} & \frac{\partial V_y}{\partial z} \\ \frac{\partial V_z}{\partial x} & \frac{\partial V_z}{\partial y} & \frac{\partial V_z}{\partial z} \end{pmatrix}. \tag{4.23}$$

L'étape suivante consiste à modéliser l'interaction entre un nageur et une paroi. Pour cela, deux cas de figures ont été implémentés pour le moment. Le premier est une condition de paroi absorbante. Le nageur entrant en contact avec cette paroi il est alors piégé. Le second consiste en une condition de *réflexion*. Un nageur atteignant la paroi voit son vecteur directeur modifié selon les lois de collision classiques en introduisant un coefficient de restitution ϵ. Il est cependant prévu d'ajouter à terme un module reproduisant cette nage aux parois.

À chaque pas de temps, le nageur est déplacé par la vitesse locale de l'écoulement à laquelle on ajoute vectoriellement sa vitesse de nage. Ensuite, l'orientation de nage est modifiée selon les équations de Jeffery, puis le tumble actif est testé et, le cas échéant, appliqué.

Concrètement, tous les programmes de simulation ont été développés à l'aide du langage *Matlab*.

4.2.2 Trajectoire d'un nageur

Avant de nous intéresser aux résultats statistiques de piégeage aux parois des nageurs dans un écoulement cylindrique, intéressons nous au comportement d'un seul nageurs une fois placé dans un écoulement de Poiseuille. Pour cela, nous avons enregistré la position du nageur à chaque pas de temps de la simulation ainsi que l'orientation de sa nage. Afin de nous placer dans une situation connue, les conditions initiales ainsi que les paramètres de nage ont été pris identiques à ceux utilisés par A.Zöttl et H.Stark dans leur études numériques [65, 66].

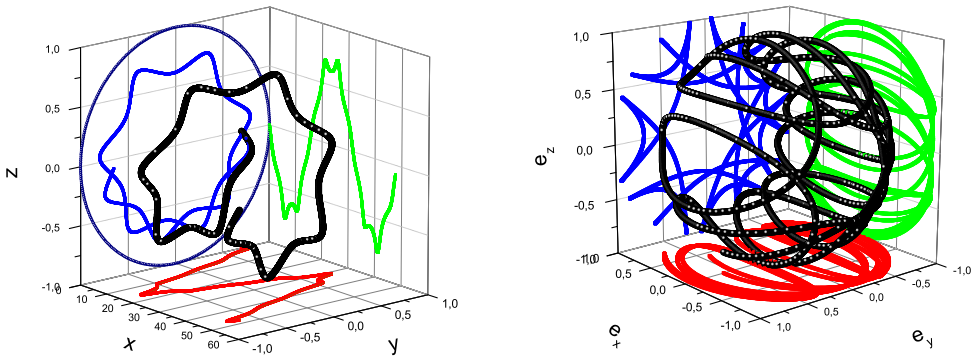


FIGURE 4.3 – À gauche : Trajectoire pour un nageur en suspension avec $\beta = 0.6$, $U_0 = 1$, $V_0/U_0 = 10$, $R = 1$ sans *tumble* actif sur un temps $T = 10R/U_0$. L'écoulement se déroule suivant l'axe x. À droite : vecteur orientation $\overrightarrow{n}$ pour la même simulation.

Ces trajectoires pseudo-périodiques sont purement déterministes. Elles résultent de la combinaison de la nage et de l'effet du cisaillement sur la particule et, en l'absence de bruit extérieur comme le mouvement brownien ou le *tumble* actif, les trajectoires restent parfaitement stables temporellement et il n'y a pas de dispersion hydrodynamique. En revanche, si l'on donne au nageur la possibilité de changer de direction de temps à autre, il change d'orbite de manière aléatoire, ce qui lui permet d'explorer un espace plus grand et in-fine d'évoluer vers un comportement diffusif aux temps longs, dans le repaire de l'écoulement moyen. Voici un exemple de trajectoire que le nageur peut alors suivre à partir des conditions initiales précédentes.

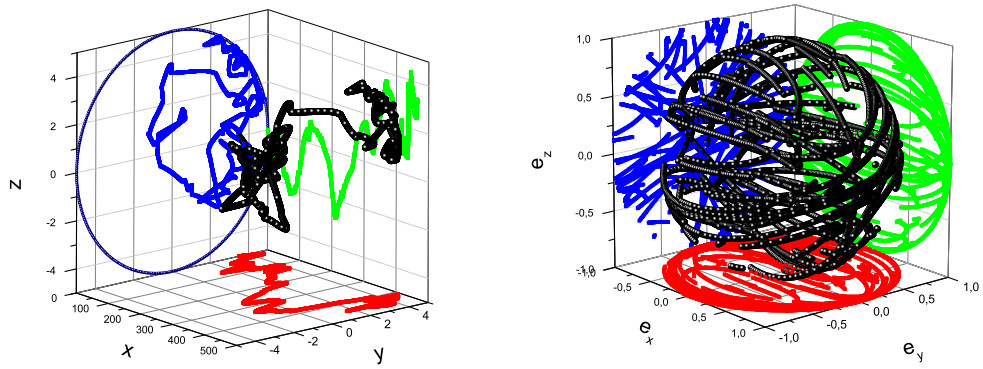


FIGURE 4.4 – À gauche : Trajectoire pour un nageur en suspension avec $\beta = 0.6$, $U_0 = 1$, $V_0/U_0 = 10$, $t_{\text{run}} = 1$, $R = 5U_0t_{\text{run}}$ sans *tumble* actif sur un temps $T = 100t_{\text{run}}$. L'écoulement se déroule suivant l'axe x. À droite : vecteur orientation $\overrightarrow{n}$ pour la même simulation.

Notons que dans ce cas, les interactions avec les parois ont été prises comme des collisions élastiques, le vecteur direction étant simplement inversé par rapport à la surface de contact ($\epsilon = 1$). Il s'agit clairement d'une simplification non réaliste, mais nous avons choisi dans un premier temps de découpler le problème du transport dans le fluide de celui du transport sur les parois. Il est

clairement visible que, dans cette configuration, le nageur visite plus de volume et, surtout, visite des lieux très différents les uns des autres du point de vue du cisaillement. En effectuant une simulation plus longue, il est possible de construire la distribution du vecteur directeur du nageur. Cette distribution est représentée ci-dessous pour des paramètres identiques à ceux utilisés pour la figure précédente en augmentant le temps maximum de simulation à $T = 10000 t_{\text{run}}$.

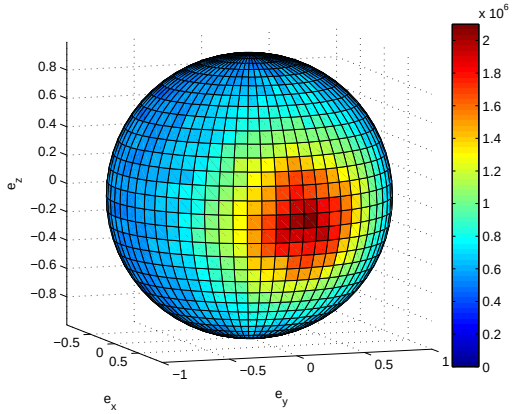


FIGURE 4.5 – Distribution du vecteur directeur d'un nageur soumis à un écoulement cylindrique. Simulation avec les paramètres : $\beta = 0.6$, $U_0 = 1$, $V_0/U_0 = 10$, $R = 5U_0 t_{\text{run}}$ sans *tumble* actif sur un temps $T = 10000R/U_0$. L'écoulement se déroule suivant l'axe x.

Cette représentation semble montrer qu'en moyenne, le nageur simulé a préférentiellement pris une direction parallèle à l'écoulement, et ce essentiellement pour des raisons de symétrie.

Il est en outre possible de regarder la trajectoire que suit un nageur placé dans un écoulement de cisaillement simple, à savoir un écoulement de Couette. Cela a pour principal intérêt que le comportement des nageurs dans ce type d'écoulement a été théorisé et modélisé auparavant [34, 36, 67]. Tous ces modèles prédisent, dans le cas d'un écoulement de Couette, l'existence d'une direction de nage préférentielle dont la composante normale à l'axe de l'écoulement est non-nulle. Notre simulation numérique étant capable d'explorer cette condition d'écoulement, nous avons regardé si nous obtenions ce résultat.

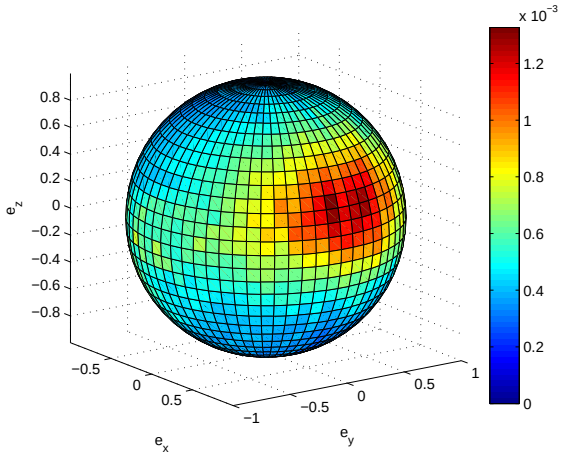


FIGURE 4.6 – Distribution du vecteur directeur d'un nageur soumis à un écoulement de Couette. Simulation avec les paramètres : $\beta = 0.6$, $U_0 = 1$, $V_0/U_0 = 10$, $R = 5U_0 t_{\text{run}}$ sans *tumble* actif sur un temps $T = 10000R/U_0$. L'écoulement se déroule suivant l'axe x.

En effet, pour les conditions choisies, le nageur semble bien privilégier une direction préférentielle de nage à environ de 30° de la direction de l'écoulement, ainsi que dans la direction opposée.

La valeur de cet angle préférentiel est lié à la présence de bruit angulaire, bruit modélisé dans notre cas par le *tumble* actif. Selon les travaux de Jeffery [55], la direction préférentielle d'une particule purement passive en l'absence de diffusion angulaire correspond à la direction de l'écoulement. En effet, cette position est celle où la particule allongée ressent le moins le cisaillement. En revanche, en présence de tumble actif, la particule est replacée selon une direction aléatoire, puis revient se placer le long de l'écoulement. Il en résulte que la distribution des directions de nage se modifie et le maximum de cette distribution témoigne d'une composante normale à l'écoulement non-nulle. Il y a donc compétition entre le cisaillement et le tumble. On peut en déduire que si $\dot{\gamma}t_{\text{run}} \ll 1$, on retrouve une distribution isotrope puisque la direction de nage est dominée par la diffusion induite par le tumble. À l'inverse, si $\dot{\gamma}t_{\text{run}} \gg 1$ direction de la particules est principalement définie par le cisaillement, ce qui implique que la particule est alignée avec l'écoulement et que la distribution est piquée.

Pour le visualiser, nous avons effectué une série de simulations en écoulement de Couette dans le cas d'une fibre non-motile à laquelle nous avons conféré la capacité de changer de direction aléatoirement selon les mêmes lois que les nageurs. Pour cela, nous avons choisi une élongation $\beta = 0.6$. En faisant varier le paramètre $\dot{\gamma}t_{\text{run}}$, nous obtenons la courbe suivante :

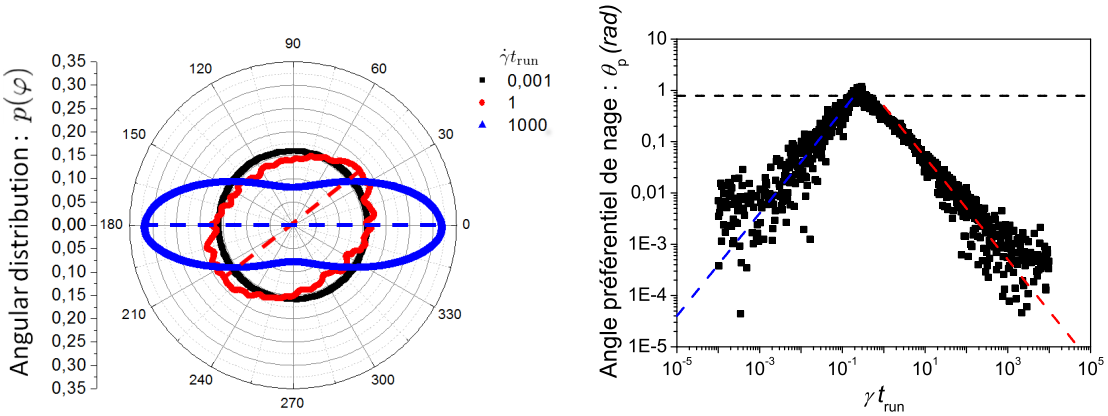


FIGURE 4.7 – Distributions et angle préférentiel d'ellipsoïdes d'élongation $\beta = 0.6$ en fonction du paramètre $\dot{\gamma}t_{\text{run}}$. Pointillés noirs : $\pi/4$. Pointillés bleus et rouges : lois de puissance en $(\dot{\gamma}t_{\text{run}})^{\pm 1}$.

On voit que, statistiquement, l'angle des fibres dans l'écoulement de Couette est nul pour des paramètres $\dot{\gamma}t_{\text{run}}$ très éloignés de 1, et que pour des valeurs proches de 1, cet angle prend des valeurs non nulles, jusqu'à des valeurs de l'ordre de $\pi/4$. De chaque côté de ce maximum, la courbe suit une loi de puissance en $(\dot{\gamma}t_{\text{run}})^{\pm 1}$ selon que l'on s'intéresse à des $\dot{\gamma}t_{\text{run}}$ supérieurs ou inférieurs à 1.

4.3 Capture par les parois

Nous avons choisi de nous intéresser aux distributions de temps et de distances parcourues par un nageur sous écoulement avant d'atteindre la paroi depuis une position initiale dans le cylindre. Ce choix a été fait car il permet de s'affranchir totalement du type de collision avec les parois, la nature des interactions en jeu ne rentrant alors plus en ligne de compte, et que la distance considérée est une grandeur à laquelle il est possible d'accéder facilement lors d'une expérience.

Les simulations ont été effectuées, comme précisé précédemment, dans le cas d'un écoulement cylindrique en nous plaçant dans une symétrie axiale qui nous permet de quadriller les conditions

spatiales initiales très facilement en modifiant la position radiale $r\,(t=0) = [0, R]$. En plus des considérations purement spatiales, la condition initiale dépend également de la direction de nage, et donc de deux angles, $\phi\,(t=0) = [0, 2\pi]$ et $\theta\,(t=0) = [0, \pi]$. On se retrouve donc avec un espace des phases à trois dimensions (r, ϕ, θ). Pour cela, nous avons choisi de le diviser en 1000 états initiaux différents, et plus précisément 10 pour chaque paramètre. Chaque condition initiale a été utilisée pour 100 réalisations afin d'obtenir une statistique suffisante. Suite à chaque simulation, le temps de premier contact à la paroi ainsi que la distance parcourue sont enregistrés. Cela nous permet de calculer les distributions de ces grandeurs en tenant compte de l'intégration cylindrique pour la position et sphérique pour le vecteur directeur en utilisant la formule suivante :

$$p(t) = \frac{\sum_{i=1}^{n(t)} r_i \sin\theta_i}{\sum_{j=1}^{N} r_j \sin\theta_j}, \tag{4.24}$$

avec N le nombre total de simulations effectuées, soit 100000, et $n\,(t)$ le nombre de nageurs ayant touché la paroi à un temps supérieur à t. La distribution $p(t)$ correspond alors à la probabilité d'un nageur d'être encore en suspension après un temps t, dite probabilité de « survie ».

Pour quantifier la distance caractéristique parcourue par les nageurs a partir de l'origine, nous mesurons directement la distribution des positions x de contact avec la parois et en prenons la moyenne. Ces deux probabilités vont nous permettre de comparer le modèle théorique qui est développé plus haut avec ces simulations et ainsi de tester l'approche physique proposée.

Dans un premier temps, intéressons-nous à la probabilité $p(t/t_{\mathrm{run}})$ pour un nageur de ne pas avoir rencontré une paroi, ou probabilité de « survie », après avoir séjourné un temps t/t_{run} dans le capillaire. Utiliser cette probabilité de survie en lieu et place de la probabilité de rencontrer la paroi à un instant t permet de s'affranchir du bruit en l'intégrant sur le temps. Voici un exemple de courbe que l'on obtient pour les paramètres $\beta = 0.33$, $R = 5$, $t_{\mathrm{run}} = 1$, $U_0 = 1$, et $V_0 = 13$:

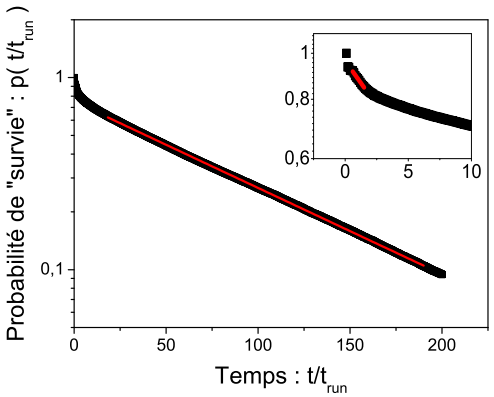


FIGURE 4.8 – Probabilité p(t) pour un nageur d'être en suspension dans le cylindre en fonction du temps T. Simulation pour $\beta = 0.33$, $R = 5$, $t_{\mathrm{run}} = 1$, $U_0 = 1$, et $V_0 = 13$. Insert : grossissement pour les temps courts. Lignes continues : ajustements par des exponentielles.

Il apparaît alors que cette courbe correspond à la combinaison de deux exponentielles décroissantes, une pour les temps courts et une pour les temps longs. En ajustant chaque partie de la courbe par une exponentielle décroissante, il est donc possible d'extraire des temps caractéristiques. Dans le cas de cette courbe, on trouve aux temps courts un temps caractéristique $t_{c,ball}/t_{\mathrm{run}} = 9.84 \pm 1.51$ et aux temps long, $t_{c,diff}/t_{\mathrm{run}} = 97.43 \pm 0.04$.

En faisant varier la vitesse de l'écoulement imposé dans le capillaire, situation la plus simple à reproduire expérimentalement, il nous est possible de tracer la variation de ces deux temps caractéristiques en fonction de cette vitesse d'écoulement V_0U_0.

Celle-ci varie sur près de quatre décades, cette fourchette très large nous permettant de vérifier la présence des deux régimes attendus pour le temps découlant de la diffusion transverse et le caractère constant de celui provenant du régime balistique, situations par les arguments d'échelle présenté plus haut, à savoir, pour le temps diffusif, un régime à faible vitesse, où la diffusion active est la plus importante, et un autre à forte vitesse, où la diffusion résultant des orbites de Jeffery devient prépondérante.

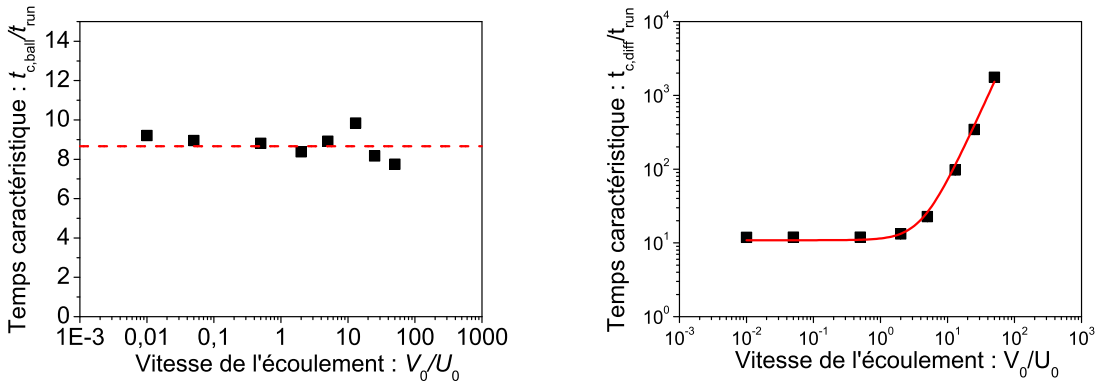


FIGURE 4.9 – Temps caractéristique t_c/t_{run} de contact avec la paroi en fonction de la vitesse de l'écoulement V_0/U_0. À gauche : dans le régime ballistique. La courbe en pointillés représente la valeur attendue par notre analyse dimensionnelle (4.3). À droite : dans le régime diffusif. La courbe continue représente l'ajustement par le modèle suivant la formule (4.25).

Sur la figure de gauche, on remarque que le temps caractéristique pour les temps t/t_{run} petits devant 1 sont constant lorsque la vitesse de l'écoulement varie et que leurs valeurs sont très proche de celle définie plus haut dans notre analyse dimensionnelle du problème pour le temps balistique typique du système. Ce « régime », qui n'en est pas réellement un, est porté par les nageurs les plus proches des parois et qui l'atteignent avant même que l'écoulement ou le tumble actif aient pu provoquer leur changement de direction. Dans une optique expérimentale, ce cas de figure est inaccessible car il suppose de placer les nageurs sur un seul et même plan. Nous nous intéresserons donc plus en détail au régime aux temps longs qui semble être celui du cas diffusif.

Sur la figure de droite, on voit que le rapport $t_{c,diff}/t_{run}$ prend une valeur constante aux faibles vitesses, et varie quadratiquement avec la vitesse pour $V_0/U_0 >> 1$. De plus, sur ce même graphe les résultats sont ajusté selon l'équation :

$$t_c = \kappa \frac{\alpha V_0^2 t_{run}^2 + 3R^2}{2U_0^2 t_{run}}, \tag{4.25}$$

avec $\alpha = 3.27 \pm 0.19$ et $\kappa = 0.32 \pm 0.03$ deux constantes d'ajustement. Les simulations on été faites jusqu'ici pour une valeur fixe de la constante de Bretherton ($\beta = 0.33$) caractérisant l'élongation de l'ellipsoïde.

Maintenant nous étudions l'influence de ce paramètre en le faisant varier entre $\beta = 0$ et $\beta = 1$. Pour cela, la vitesse d'écoulement a été fixée à $V_0/U_0 = 13$, soit dans le régime où le cisaillement devient important. Est tracée sur la figure suivante le coefficient α, seul coefficient portant la variation de t_c avec β. En faisant ces calculs pour plusieurs élongations β différentes, on obtient

la figure suivante :

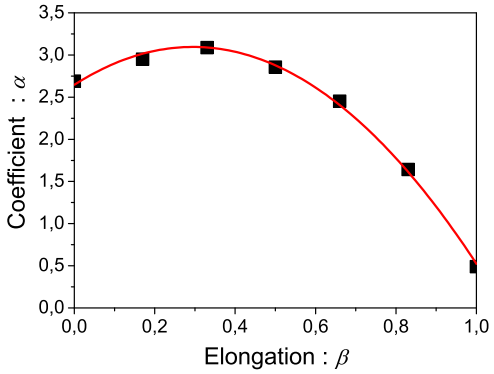


FIGURE 4.10 – Coefficient α en fonction de l'élongation β des nageurs pour $V_0/U_0 = 13$.

Ces résultats décrivent un effet non-monotone de l'élongation sur la diffusion transverse des nageurs. Sur le même graphique est présenté l'ajustement des données par une fonction parabolique selon la formule :

$$\alpha = \alpha_{\max} - l(\beta - \beta_0)^2, \tag{4.26}$$

avec les paramètres $l = 5.17 \pm 0.2$, $\beta_0 = 0.29 \pm 0.01$, et $\alpha_{\max} = 3.1 \pm 0.03$.

Cette forme, bien que son origine ne soit pas entièrement comprise, peut être expliquée en partie. En effet, une élongation β nulle signifie que la particule est parfaitement sphérique. Or, dans ce cas, la rotation de la particule due au cisaillement se déroule à vitesse constante pour une valeur de gradient de vitesse donnée. Dans ce cas, il n'existe pas d'orientation préférentielle dans l'écoulement qui pourrait modifier le temps d'arrivée à la paroi.

À l'inverse, lorsque l'on considère une particule allongée, c'est à dire $\beta = 1$, le nageur s'aligne rapidement le long de l'axe préférentiel dû au cisaillement. Or, celui-ci conserve toujours une composante orthogonale à l'écoulement ce qui dirige préférentiellement les nageurs vers les parois, et donc réduit le temps moyen d'arrivée.

En suivant cette logique jusqu'au bout, la courbe qui nous vient à l'esprit est une fonction qui décroit de manière monotone avec l'élongation β. En effet, au premier abord, il peut sembler évident que l'alignement des nageurs par l'écoulement va faire diminuer le temps d'arrivée aux parois de plus en plus violemment alors que la force à l'origine de cet alignement augmente. Cependant, les résultats numériques présentent un tout autre comportement pour ce temps.

Il semble en effet que, pour de faibles élongations, c'est à dire inférieures à β_0, le temps de *survie* des nageurs augmente pour diminuer une fois cette valeur franchie. Ce comportement contre-intuitif échappe encore à notre compréhension. Cependant, le seul paramètre de variant ici étant l'élongation, cela signifie que ce comportement est lié aux orbites de Jeffery. Cela provient très certainement du fait que la forme des orbites changent radicalement avec le coefficient β.

Une autre grandeur intéressante à étudier est la distance longitudinale parcourue par les nageurs au moment de leur contact avec la paroi. Cette grandeur a le principal intérêt d'être plus facilement mesurable au cours d'une expérience que le temps de collision.

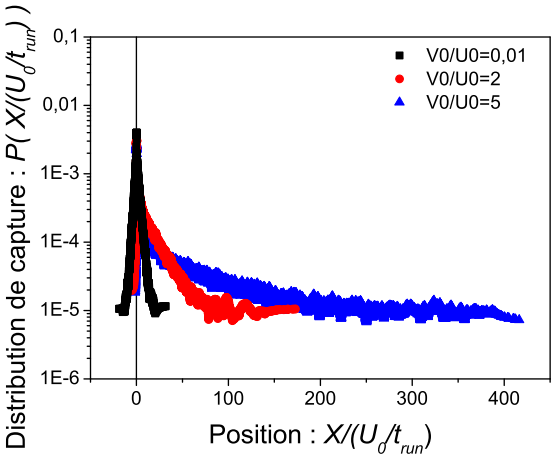


FIGURE 4.11 – Probabilité p(x) pour un nageur d'être entrée en contact avec la paroi à une distance x. Simulations pour $\beta = 0.33$, $R = 5$, $t_{\rm run} = 1$, $U_0 = 1$, et pour $V_0 = 0.01$, 2, et 5.

Sur ce graphique sont tracées les distributions de distances parcourues pour des vitesses d'écoulement caractérisées par le nombre sans dimension V_0/U_0. Pour des vitesses d'écoulement négligeables devant la vitesse de nage des particules, la répartition le long de l'axe de l'écoulement est due en grande partie à la simple diffusion des nageurs. Cela se traduit par une distribution symétrique autour de l'origine. Au contraire, lorsque l'écoulement devient important, la distribution devient très asymétrique.

Il est ensuite possible d'extraire de ces distributions la position moyenne de contact avec la paroi en fonction de la vitesse de l'écoulement, et ce dans les mêmes conditions que pour l'étude du temps de survie caractéristique, et de comparer ces résultats avec les arguments d'échelle qui ont été développé plus haut.

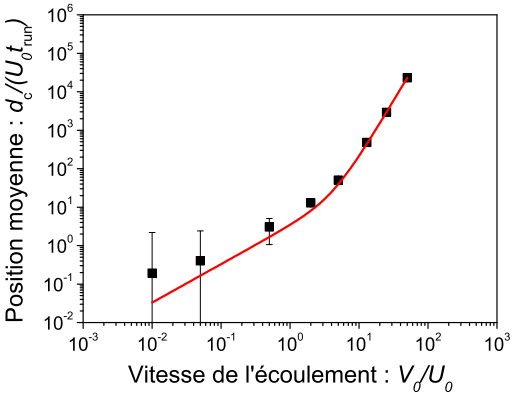


FIGURE 4.12 – Distance moyenne $\langle x \rangle / (U_0 t_{\rm run})$ de contact avec la paroi en fonction de la vitesse de l'écoulement V_0/U_0. Courbe pleine : ajustement des données avec le modèle.

La distance moyenne de nage avant contact avec la paroi montre clairement deux régimes avec la vitesse d'écoulement à l'instar du temps de survie des nageurs. De plus, lorsque l'on ajuste ces données avec notre modèle, et après y avoir introduit les coefficients obtenus avec les résultats du temps t_c, on remarque que la tendance de la courbe est respectée. Cet ajustement est effectué au moyen de la formule suivante :

$$d_c = \delta_1 V_0 t_c \qquad (4.27)$$
$$= \delta_1 \kappa \frac{V_0\left(\alpha V_0^2 t_{\text{run}}^2 + 3R^2\right)}{4U_0^2 t_{\text{run}}},$$

avec les paramètres α et κ fixés aux valeurs obtenus précédemment, l'ajustement se faisant donc uniquement par le paramètre δ_1. On obtient alors une valeur de $\delta_1 = 0.608 \pm 0.001$.

Cette courbe montre que nous capturons l'essentiel des phénomènes en jeu dans ce problème. Un ajustement de la courbe par le modèle décrit précédemment est effectué au moyen d'un paramètre ajustable δ_1. Celui-ci décrit indirectement le comportement des nageurs dans le fluide. Dans le cas où la distribution serait parfaitement uniforme, la vitesse moyenne V_m des bactéries selon la direction de l'écoulement correspond à celle du fluide, qui prend dans le cas d'un écoulement cylindrique la valeur $V_0/2$, cas dans lequel le paramètre d'ajustement vaudrait $\delta_1 = 1$.

En revanche, si cette vitesse moyenne diffère, le paramètre δ_1 prend une valeur différente. Si celle-ci est supérieur à 1, cela signifie que les nageurs sont alignés préférentiellement selon la direction de l'écoulement du fluide ou qu'ils se concentrent dans le centre du canal où la vitesse est plus grande. Si $\delta_1 < 1$, l'ajustement des données indique que le cisaillement a l'effet inverse. Dans notre cas, il semblerait que les nageurs vont, en moyenne, moins vite que la vitesse moyenne. Cela va dans le même sens que les résultats numériques obtenus par B.Ezhilan [68] et R.Rusconi [69] et qui vont dans le sens d'un dépeuplement au centre du canal.

Toutefois, il serait difficile dans le cadre d'une expérience sur ce sujet de récupérer les informations concernant les bactéries ayant atteint la paroi avant l'injection. Il faut donc trouver un autre marqueur de cette distribution. Pour cela, nous proposons d'utiliser le même principe que pour le passage de la probabilité de temps d'arrivée à la paroi à celle du temps de survie. On obtient ainsi une probabilité d'être en suspension après avoir parcouru une distance $x/(U_0 t_{\text{run}})$.

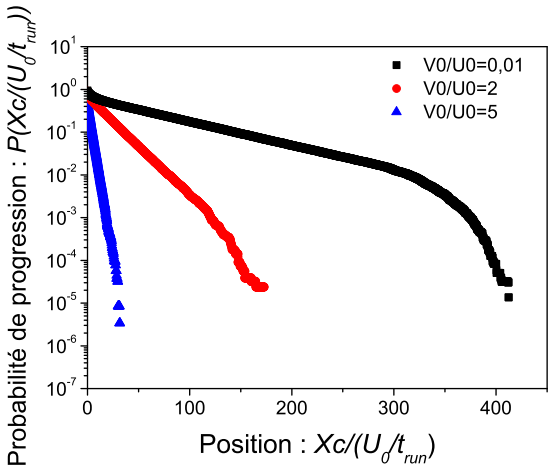


FIGURE 4.13 – Probabilité d'être en suspension après avoir parcouru une distance $x/(U_0 t_{\text{run}})$. Simulations pour $\beta = 0.33$, $R = 5$, $t_{\text{run}} = 1$, $U_0 = 1$, et pour $V_0 = 0.01$, 2, et 5.

On remarque que dans une gamme de distance donnée, cette probabilité prend une allure de type exponentielle, ce qui permet d'en extraire par ajustement une distance caractéristique d_e. La décroissance en fin de courbe est due à la baisse de la statistique. En effet, la simulation s'arrête après un temps $T = 100$ y compris lorsque la trajectoire n'est pas terminée, or le programme

enregistre la dernière position connue de la bactérie. Ainsi, les distance parcourues les plus grandes correspondent aux nageurs n'ayant pas touché une paroi, or la distribution de ces distances est plus proche de la gaussienne que de l'exponentielle, ce qui provoque cette décroissance.

Cette distance reflète à la fois le transport des nageurs par l'écoulement et leur diffusion active, ce qui signifie que même en l'absence d'écoulement comme on le voit sur le graphique, elle n'atteint jamais une valeur nulle. Les effet convectif et diffusif se cumulent, ce qui nous permet d'écrire en ajoutant dans le modèle la diffusion longitudinale à l'écoulement, ce qui donne $d_e = d_c + d_{\text{Berg}}$ avec $d_{\text{Berg}} = \sqrt{2D_{\text{Berg}}t_c}$. Cette distance supplémentaire due à la diffusion active étant un résultat exact, la fonction d'ajustement devient :

$$\begin{aligned} d_e &= d_c + d_{\text{Berg}} \\ &= \delta_2 \kappa V_0 \frac{\alpha V_0^2 t_{\text{run}}^2 + 3R^2}{4U_0^2 t_{\text{run}}} + \sqrt{\kappa \left(\frac{\alpha V_0^2 t_{\text{run}}^2}{3} + 3R^2 \right)} \end{aligned} \tag{4.28}$$

avec les paramètres α et κ fixés aux valeurs obtenus précédemment et δ_2 qui sert à l'ajustement de la courbe.

On obtient alors la figure suivante :

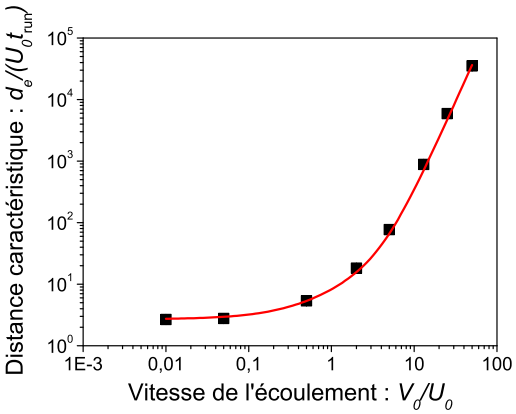


FIGURE 4.14 – Distance caractéristique $X_c/(U_0 t_{\text{run}})$ de contact avec la paroi dans le régime diffusif en fonction de la vitesse de l'écoulement V_0/U_0. Simulations pour $\beta = 0.33$, $R = 5$, $t_{\text{run}} = 1$, $U_0 = 1$. Courbe pleine : ajustement par le modèle modifié.

Cette distance caractéristique d_e deux comportement suivant la vitesse de l'écoulement, celle-ci atteignant une valeur asymptotique à faible écoulement traduisant la diffusion active des nageurs, et une loi d'échelle $d_e \sim V_0^3$ à fort écoulement.

On voit qu'il est alors possible de l'ajuster par le modèle présenté dans l'équation 4.28 au moyen d'un unique paramètre ajustable δ_2 qui prend alors la valeur $\delta_2 = 0.96 \pm 0.03$.

L'étude numérique montre à nouveau que l'argument d'échelle proposé a bien capturé la physique du transport des ces nageurs modèles.

4.4 Conclusion

Dans cette partie, nous avons mis en place une simulation numérique permettant de restituer le comportement d'un nageur isolé modélisé comme un ellipsoïde auto-propulsé. Il nous a permis de retrouver des résultats typiques sur la statistique d'orientation des nageurs en présence de diverse écoulements comme par exemple la direction de nage préférentielle oblique par rapport à la direction longitudinale à l'écoulement dans un cisaillement simple.

De plus, nous avons établi pour un écoulement de Poiseuille cylindrique des arguments d'échelles permettant de décrire la statistique des temps de capture par les parois et des longueurs longitudinales parcourues, mettant en évidence deux régimes pour des vitesses d'écoulement lentes ou rapides devant la vitesse de nage. Les étude numériques ont confirmé ces prédictions..

Ces résultats appellent une étude expérimentale dans des conditions similaires afin de s'assurer que les éléments physiques pertinents ont bien été intégrés dans notre modélisation. Pour cela, de nombreux points pratiques doivent être résolus comme par exemple pouvoir piéger efficacement les bactéries ou être en mesure de les compter quantitativement.

Cependant, dans les régimes semi-dilué à dense, les interactions nageur-nageur deviennent très importantes, or nous ne connaissons pas avec certitude la forme de ces forces qui ne peuvent que modifier en profondeur le comportement des nageurs.

Chapitre 5

Effets du cisaillement sur les mouvements collectifs

Nous avons vu numériquement dans le chapitre précédent que le cisaillement induit par un écoulement dans un canal microfluidique, modifie l'orientation de nage des particules présentes dans le fluide. Nous allons maintenant étudier l'influence de l'écoulement sur l'organisation collective que nous avons identifiée précédemment. En effet ces deux phénomènes semblent introduire une certaine forme d'ordre dans le système toutefois peu de choses sont connues sur leur possibles synergies.

Il n'est cependant pas évident que ces deux sources d'organisation soient compatibles. En effet, le cisaillement tend vers un alignement global dans une direction donnée, tandis que les mouvements collectifs semblent créer un ordre plus local plus isotrope. Il est donc envisageable que ces deux effets puissent interagir de façon destructive. C'est le sens de l'étude de Pahlavan *et al* [70] qui proposent que l'effet du cisaillement serait essentiellement déstabilisant sur les structures collectives.

5.1 Méthodes de mesure

Pour observer l'effet du cisaillement sur le comportement des bactéries dans un écoulement, il nous faut un système permettant d'observer directement les bactéries alors que nous imposons un écoulement à la suspension. Afin de rester dans des configurations similaires à celles utilisées précédemment, nous considérons un canal en PDMS rectangulaire de hauteur $h = 100\,\mu\text{m}$, de largeur $w = 600\,\mu\text{m}$ et de $2\,\text{cm}$ de longueur.

Pour injecter la suspension à débit contrôlé, nous utilisons un pousse-seringue *nemeSYS* de la société *Cetoni* piloté par ordinateur. Couplé avec deux seringues en verre *Hamilton Gastight* de $50\,\mu\text{L}$, une située à l'entrée du canal pour injecter la suspension et l'autre en sortie pour l'aspirer, ce dispositif nous permet d'atteindre de faibles débits Q, d'explorer une large gamme de vitesse, et donc de taux de cisaillement caractéristique $\dot{\gamma}_c$. Nous nous retrouvons alors dans le cadre d'un écoulement rectangulaire, que nous allons, dans un premier temps, simplifier par un écoulement de type Hele-Shaw :

$$Q = \frac{1}{12}\frac{h^3 d}{\eta}\frac{\partial p}{\partial x}, \tag{5.1}$$

avec Q le débit imposé, h la hauteur du canal, w sa largeur, η la viscosité de la suspension et ${}^{\partial p}/_{\partial x}$

le gradient de pression le long du canal.

Dans cette configuration, le taux de cisaillement n'est pas constant spatialement. Cependant, l'écoulement imposé suivant un profil de vitesse de type Poiseuille, il nous est possible de définir un gradient de vitesse typique dans le système. Plusieurs choix étant alors possibles, nous avons choisi de prendre le gradient de vitesse maximum présent aux bords du canal en considérant l'écoulement parabolique correspondant :

$$\dot{\gamma}_c = \frac{6Q}{h^2 w}, \tag{5.2}$$

Grâce à cela, nous pouvons observer l'impact du cisaillement sur le comportement des bactéries. Pour cela, nous nous basons sur les même principes expérimentaux que lors de l'étude de l'influence de la concentration sur les mouvement collectifs. C'est-à-dire que nous prenons des vidéos de la suspension pour différents paramètres, ici ϕ et $\dot{\gamma}_c$. De la même manière, nous utilisons un microscope inversé *Zeiss Observer Z1* équipé d'un objectif 100X à contraste de phase et d'une caméra rapide *Photron SA3*. Les prises de vue sont faites à une fréquence d'acquisition de 125 fps et un temps d'exposition de $^1/_{500}$ s sur 1250 images, soit 10 s. Le débit Q imposé par le pousse seringue varie quant à lui de $0\,\mathrm{nL\,s^{-1}}$ à $20\,\mathrm{nL\,s^{-1}}$, ce qui donne un taux de cisaillement caractéristique $\dot{\gamma}_c$ compris entre $0\,\mathrm{s^{-1}}$ et $20\,\mathrm{s^{-1}}$.

À la différence des expériences présentées dans le chapitre 3, des vidéos sont prises à des hauteurs différentes dans le canal pour tout les débits imposés de façon à obtenir un profil complet du comportement des bactéries dans la direction z, direction selon laquelle varie le gradient de vitesse local $\dot{\gamma}(z)$. Pour s'affranchir des différences d'oxygénation entre les expériences, les suspensions ayant en effet résidé dans les tuyaux avant d'atteindre le canal, l'écoulement est stoppé durant le téléchargement des prises de vue depuis la caméra, soit environ 4 min.

Connaissant le débit imposé par le pousse-seringue, il nous est possible de remonter au profil de vitesse attendu dans le cas d'un écoulement rectangulaire similaire à celui que nous utilisons dans l'hypothèse d'un fluide newtonien. Nous savons que dans un écoulement rectangulaire, il est possible d'approximer le profil de vitesse dans la région centrale du canal telle que l'on se trouve à plus de une fois la hauteur h des parois verticales par un écoulement parabolique dont la vitesse maximale est plus élevée que dans le cas Hele-Shaw. Pour déterminer cette vitesse, nous avons résolu les équations de cet écoulement au moyen de séries de Fourier [54], ce qui nous a donné que la vitesse maximale du profil équivalent est $V_0 \approx 1.67\langle V(z)\rangle \approx 1.67\frac{Q}{hw}$. Une fois injecté dans la formule du profil parabolique, on obtient la formule suivante :

$$V(z) = 4\frac{1.67Q}{hw}\frac{z(z-h)}{h^2}. \tag{5.3}$$

Ainsi, pour s'affranchir de la composante de vitesse due au transport des bactéries par l'écoulement, le dispositif microfluidique est placé sur une platine motorisée *ThorLabs* contrôlée par ordinateur qui permet d'imposer une vitesse définie par l'utilisateur et de la garder constante tout le long d'une prise de vue. Il nous est ainsi possible pour chaque hauteur de suivre l'écoulement rectangulaire donné par la formule (5.3), et ainsi de ne regarder que la part des vitesses des E. Coli due à leur propre activité.

Afin de s'assurer de la forme du profil de vitesse du fluide en présence de bactéries , nous avons mesuré expérimentalement la vitesse de traceurs passifs, des billes de latex de 2 µm vendues par

Beckman-Coulter. Ces particules, contrairement aux bactéries, sont visibles jusqu'à une distance d'environ 23 µm du plan focal, aussi bien au dessus qu'en dessous de celui-ci. Cette particularité est due à la diffusion de la lumière au travers des billes qui agissent alors comme des lentilles, ce qui modifie la trajectoire de la lumière et crée des figures de diffraction dans le plan focal, il n'est donc pas possible de les considérer sur un plan comme pour les bactéries.

Pour résoudre ce problème, un second algorithme a été développé sur *Matlab*. Celui-ci est basé sur le fait que les billes sont parfaitement sphériques et que les figures de diffraction créées sont donc circulaires. Il est donc possible de détecter ces cercles sur une image et de mesurer leurs positions et diamètres. Afin de rendre cette mesure plus précise et plus rapide, les billes sont sélectionnées en amont par l'utilisateur, le programme disposant alors d'une position initiale, il définit un zone de recherche dont la taille est de 88 px, soit environ 14 µm. Il est ainsi possible de suivre une bille tant qu'elle est suffisamment nette pour être détectée par le programme.

La position dans la troisième dimension est déterminée par une comparaison avec un étalonnage effectué auparavant. Pour cela, des billes ont été placées dans un canal microfluidique, puis une bille se trouvant sur une parois a été choisie. En modifiant la position de l'objectif, et au moyen du système interne au microscope donnant cette position, des photos ont été prises pour des distances avec la bille allant de -21 µm à 21 µm avec un pas de 1 µm. Pour s'affranchir de la différence d'indice entre le fluide et l'air, l'étalonnage a été effectué sur une bille fixée sur les parois haute et basse de façon à ce que le plan focal se trouve toujours dans le fluide. En passant ces données dans l'algorithme de traitement, nous avons établi un étalonnage entre la taille des différents cercles détectés, et donc les figures de diffraction, avec la position relative de la bille avec le plan focal.

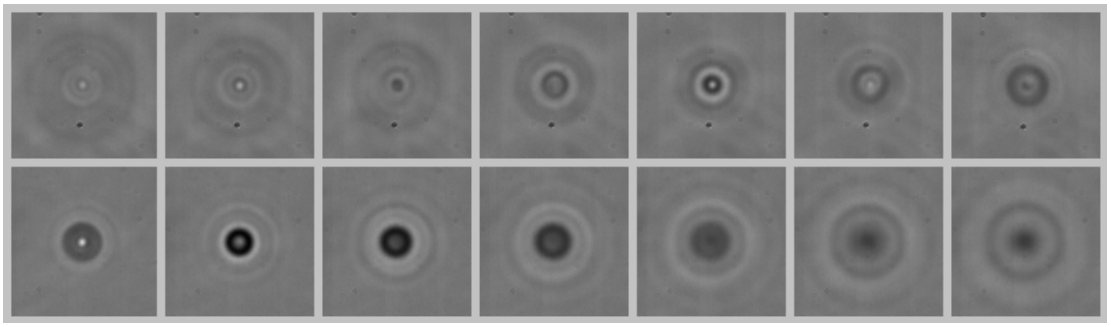


FIGURE 5.1 – Étalonnage des billes au 100X avec contraste de phase Ph1. Dans les sens de lecture, les billes vont de -21 µm à 21 µm par rapport au plan focal par pas de 3 µm.

En mesurant le diamètre des différents cercles clairs et foncés présents autour de la bille, ainsi que les coordonnées sur l'image, il est possible de déterminer la position de la bille dans l'espace. Chaque bille a ainsi été associée à sa position selon l'axe z et à sa vitesse selon les directions x et y. Nous choisissons de ne pas utiliser les données instantanées qui sont extraites par ce programme car la mesure de la position z se fait avec une erreur de l'ordre de 4 µm, ce qui n'est pas négligeable. Pour s'affranchir en partie de cette source d'erreur, les positions et vitesses mesurées sont moyennées sur la trajectoire complète, ce qui introduit des fluctuations dues au déplacement de la bille selon l'axe z.

Une fois ces mesures effectuées pour tout les couples de paramètres débit/concentration, il est possible de récupérer les profils de vitesse mesurés dans le canal. Sont présentés ci-après les résul-

tats obtenus en présence de bactéries à une fraction volumique $\phi = 2\,\%$, chaque point représentant une bille.

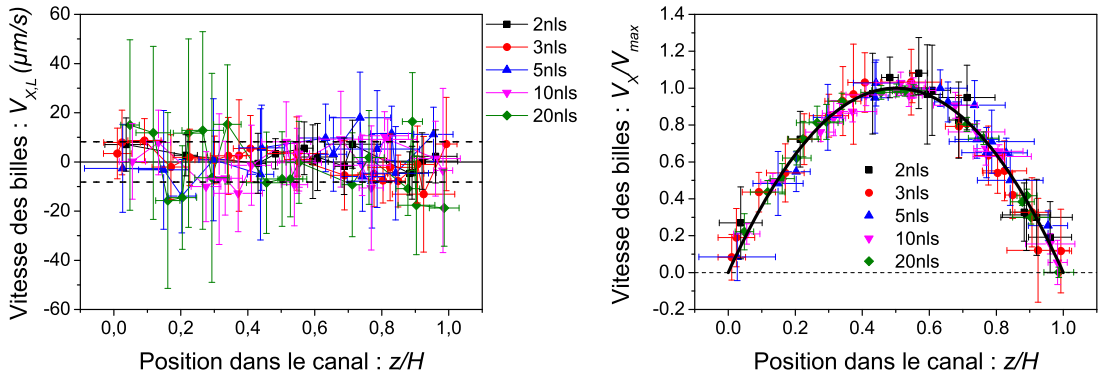


FIGURE 5.2 – Profils de vitesse longitudinale de traceurs passifs dans le cas d'une fraction volumique de E. Coli $\phi = 2\,\%$ et pour plusieurs débits imposés. À gauche : repère lagrangien. À droite : repère eulérien.

Les courbes de gauche sur la figure 5.2 représente la vitesse des billes selon la direction de l'écoulement x dans le référentiel de la platine motorisée. On voit que les vitesses mesurées fluctuent beaucoup autour de 0, la déviation standard étant ici de 8.18 µm/s. Cependant, il ne semble pas exister de variation systématique avec la position dans le canal. De plus, les fluctuations de la vitesse de chaque bille représentées par les barres d'erreur semblent expliquer ces écarts à la vitesse moyenne.

En regardant la vitesse transposée dans le référentiel eulérien et normalisée par la vitesse maximale du profil rectangulaire, on s'aperçoit que les erreurs sur les vitesses de chaque mesure sont très bien corrélées avec celles sur la position z/H, situation que nous avions prévue en moyennant sur les trajectoires. L'écoulement est donc très proche de celui attendu pour cette géométrie, ce qui est cohérent avec l'hypothèse d'un écoulement d'entrainement rectangulaire pour un fluide newtonien .

Il nous est également possible de regarder les vitesses transverses des billes dans l'écoulement

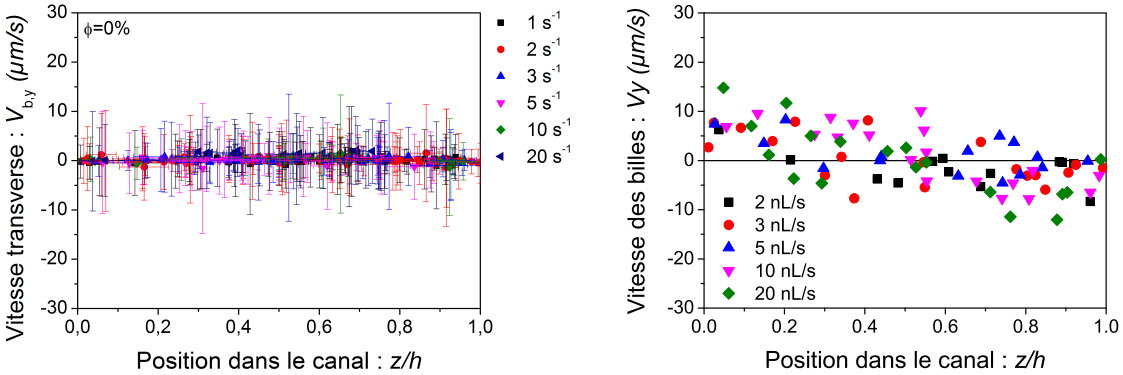


FIGURE 5.3 – Profils de vitesse transversale de traceurs passifs dans le cas d'une fraction volumique de E. Coli $\phi = 0\,\%$ et $\phi = 2\,\%$ et pour plusieurs débits imposés.

On remarque que les vitesses transverses moyennes dans l'écoulement sont non-nulles et qu'il

semble exister une corrélation entre la position dans le canal et V_Y. Bien que ce résultat puisse sembler problématique, il ne peut s'expliquer simplement par un problème d'alignement du système microfluidique ou des écoulements secondaires. Il trouve toutefois une explication dans le phénomène de rhéotaxie qui est présenté plus loin dans ce chapitre.

Lors des expériences présentées ici, la concentration en bactéries varie entre 5.10^{11} bact/L et 8.10^{12} bact/L, soit une fraction volumique entre 0.5 % et 8 %. Le débit varie quand à lui entre 0 et 20 nL/s, soit un taux de cisaillement caractéristique entre 0 et $20\,s^{-1}$.

Afin d'éviter au maximum l'impact de l'histoire sur les résultats issus de ces expériences, nous ajoutons dans le milieu de la *L-Sérine* à hauteur de 250 mM. Comme nous l'avons vu dans le chapitre 2, cet acide aminé a la faculté de remplacer l'oxygène dans les mécanismes cellulaires de E. Coli ce qui est intéressant ici car la suspension est injectée lors de l'expérience, et donc les bactéries nouvellement arrivées dans le champ du microscope ont résidé depuis le début de l'expérience dans des tuyaux et seringues, et donc sans arrivée d'oxygène.

Les images ainsi obtenues ont des caractéristiques similaires à celles produites lors des expériences présentées précédemment. Cependant, l'écoulement étant de type Poiseuille, les différentes couches de fluide n'avancent pas à la même vitesse. Malgré la profondeur de champ relativement faible, 3.5 µm, les couches en dehors de celle-ci apparaissent comme un fond diffus qui avance à une vitesse différente de la partie focalisée. Il y a donc une texture parasite qui entrave la mesure de déplacement au moyen de méthodes basées sur la corrélation d'images telles que la *PIV*. Nous sommes donc contraint d'utiliser exclusivement la technique basée sur le *tracking* des bactéries.

Toutefois, dans le but d'obtenir une cartographie complète de déplacement dans l'espace il est possible d'utiliser les résultats extraits du *tracking* et d'effectuer une interpolation spatiale intelligente, ou *coarse-graining*. Pour cela, nous utilisons une méthode développée par Goldenberg et Goldhirsch [71, 72]. Elle consiste à utiliser un fonction de lissage définie comme :

$$\Phi(r) = \frac{1}{\pi W^2} exp\left(-\frac{r^2}{W^2}\right), \tag{5.4}$$

avec W la largeur caractéristique de lissage.

À partir de cette formule, il est possible de calculer en tout point de l'espace la vitesse en fonction de celle mesurée pour les particules détectées. Il est également possible d'attribuer à chaque particule i située en $\overrightarrow{r_i}$ un poids statistique m_i qui pondère sa vitesse $\overrightarrow{V}_i$. La vitesse ainsi calculée s'exprime donc en tout point de l'espace comme :

$$\overrightarrow{U}(r,t) = \frac{\sum_{i=1}^{N} m_i \overrightarrow{V}_i \Phi(r - r_i)}{\sum_{i=1}^{N} m_i \Phi(r - r_i)}. \tag{5.5}$$

Dans notre cas, n'ayant pas de critère objectif évident pour discriminer les bactéries entre-elles, et donc pour leur attribuer un poids statistique différent, sont prenons $m_i = 1$ pour toutes les particules détectées.

Cette méthode produit alors une interpolation des vitesses là où aucune donnée n'a été extraite expérimentalement ce qui lui donne réel intérêt pour les corrélations temporelles en ce qu'elle permet d'avoir en tout point de l'espace une mesure de vitesse pour chaque pas de temps, ce que ne permet pas la technique de *tracking* seule.

Pour déterminer ces temps de corrélation, nous utilisons la fonction de corrélation temporelle classique, à savoir :

$$C_{t,ij}(\tau) = \left\langle \frac{\langle V_i(\overrightarrow{r},t)\cdot V_j(\overrightarrow{r},t+\tau)\rangle_t - \langle V_i(\overrightarrow{r},t)\rangle_t \langle V_j(\overrightarrow{r},t)\rangle_t}{\langle V_j(\overrightarrow{r},t)V_j(\overrightarrow{r},t)\rangle_t} \right\rangle_{\overrightarrow{r}}, \tag{5.6}$$

où i et j sont les composantes de la vitesse prises en compte dans le calcul de la corrélation.

Tous ces outils, ainsi que ceux plus classiques de l'étude statistique, vont nous permettre d'appréhender les phénomènes qui se déroulent au sein d'une suspension bactérienne sous cisaillement.

5.2 Statistique des vitesses et trajectoires

Dans un premier temps, nous proposons d'étudier la statistique globale de nage des bactéries afin de déceler l'organisation des nageurs dans les écoulements imposés. Nous allons pour cela nous intéresser à trois grandeurs liées entre elles, la projection U_{2D} de la vitesse de nage U_0 dans le plan de visualisation, la projection 2D de la distance séparant les points d'entrée et de sortie de la bactérie dans le champ d'observation L et le temps de résidence dans ce même champ t_{res}.

À partir de ces trois grandeurs, il est possible de construire un nombre sans dimension qui caractérise la nage des bactéries $N_{bal} = \frac{L}{U_{2D}t_{res}}$. Lorsque la nage s'effectue de façon balistique, c'est à dire lorsque le temps de *run* t_{run} est grand devant le temps nécessaire à un nageur pour traverser le champ d'observation verticalement $t_0 = e/U_0$, c'est à dire que la nage est principalement balistique, il ressort que N_{bal} tend vers 1. Au contraire, si t_{run} est petit devant t_0, la dynamique est de type diffusive et ce même nombre N_{bal} tend vers 0. Pour aller plus loin, dans le cas diffusif, la longueur L respecte une loi de type diffusif, ce qui dans le cas des E. Coli donne l'équation $L \propto \sqrt{U_{2D}^2 t_{run}}\sqrt{t_{res}}$, ce qui nous donne $N_{bal} \propto t_{run}$. Ce nombre sans dimension montre donc un changement de comportement entre une droite et une constante pour un temps de *run* $t_{run} = t_0$.

Nous proposons de commencer par regarder la distribution des temps de résidence des nageurs dans le champ focal en fonction du taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c$ et de la fraction volumique ϕ en bactéries. Celui-ci correspond au temps nécessaire à la bactérie pour traverser le champs de vision de part en part et diffère donc selon l'angle que son axe de déplacement forme avec le plan d'observation. Il est ainsi un indicateur de la statistique de l'orientation des nageurs dans le système.

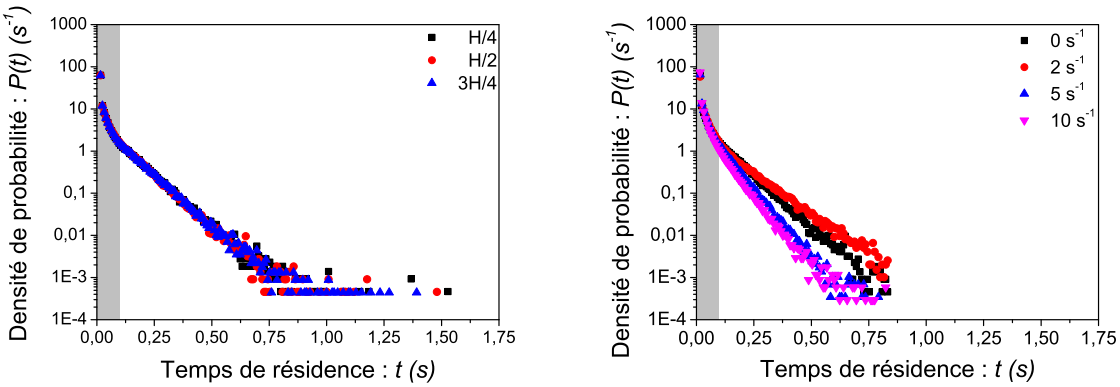


FIGURE 5.4 – Densités de probabilité du temps de résidence des bactéries. À gauche : Cas d'une suspension à une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ sans écoulement imposé et pour 3 hauteurs dans le canal. À droite : Même suspension à mi-hauteur pour 4 taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c$.

Sur la courbe de gauche, on voit que la densité de probabilité du temps de résidence, suit deux comportement différents. Il semble en effet y avoir un changement de comportement à un temps d'environ 0.1 s avec de part et d'autre de celui-ci des courbes d'allure exponentielle dont les

temps caractéristiques diffèrent. Nous avons déjà vu ce point dans le chapitre sur les mouvement collectifs en l'absence d'écoulement et avons attribué les données des zones grisées à des erreurs de traitement, erreurs allant des fausses détections aux bactéries nageant en limite de champ de vision et produisant de courtes trajectoires. À l'inverse la seconde partie de la courbe contient la physique de la nage des bactéries.

Sur la courbe de droite sont tracées les densités de probabilité pour la même suspension mais à différents débits Q et donc taux de cisaillement caractéristiques $\dot{\gamma}_c$. On remarque que les portions de courbes situées à des temps inférieurs à 0.1 s sont très similaires quelque soit le débit considéré. Cependant, la seconde portion des courbes est dépendante du gradient de vitesse imposé au fluide. Cette variation de la pente est le signe d'une modification du comportement globale des nageurs. Ainsi, lorsque le taux de cisaillement caractéristique de l'écoulement vaut $\dot{\gamma}_c = 2\,\mathrm{s}^{-1}$, les nageurs semblent rester plus longtemps dans le plan focal, ce qui peut signifier que l'orientation de nage est contrainte le long du plan focale et donc que la nage devient anisotrope. Lorsque le débit, et donc le gradient de vitesse, augmente encore, la pente de l'exponentielle diminue, ce qui peut signifier une perte de l'impact du cisaillement ou une orientation de moins en moins alignée avec le plan d'observation.

Cette variation exponentielle du temps de résidence n'est pas évidente à première vue. Pour comprendre cet état de fait, nous construisons une simulation numérique simple qui reproduit l'expérience, dans le cas dilué et sans écoulement, à partir des données obtenues dans les chapitres précédents. Ainsi, en posant la vitesse de nage $U_0 = 1$ ainsi que la profondeur de champ $e = 1$, il nous est possible d'adimensionner le problème, ce qui en respectant les mesures précédentes, nous donne $t_{\mathrm{run}} = 6\,t_0 = 6\,e/U_0$. Pour cela, des nageurs sont créés aléatoirement sur un plan carré de côté $L = 40\,e$ avec un vecteur direction tiré aléatoirement selon une distribution isotrope dans l'espace. Nous avons lancé ces simulations dans deux cas, le premier pour des nageurs balistiques, c'est à dire avec un temps de *tumble* infini, et le second avec celui décrit précédemment. Ce *tumble* actif est pris dans sa définition la plus simple, à savoir un changement isotrope de direction dont la probabilité d'apparition est poissonienne, il est ainsi possible de définir le laps de temps avant qu'il ne se produise et donc de déterminer si le nageur sort de la boite auparavant. Suivant si on le fait intervenir ou non, on obtient, pour une statistique de 1000000 de nageurs, les courbes suivantes :

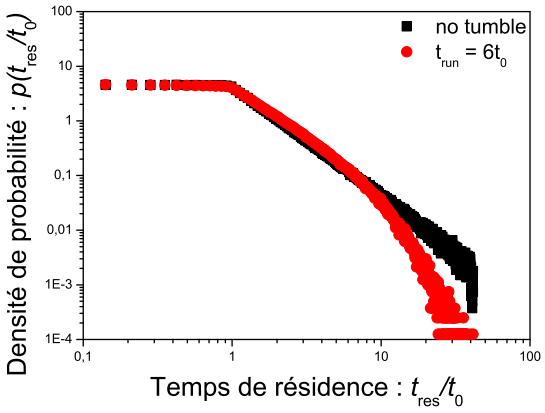


FIGURE 5.5 – Temps de résidence pour des nageurs simulés numériquement sans écoulement et dans le cas dilué. À gauche : Nageurs balistiques. À droite : Nageurs de type *run-and-tumble*.

On s'aperçoit que la présence du *tumble* actif influe grandement sur cette quantité en faisant

apparaitre une queue exponentielle dans la distribution. Ce résultat est cohérent avec les mesures présentées dans la figure 5.4 effectuées avec les E. Coli. Il est intéressant pour la suite de constater que le temps de résidence caractéristique obtenu numériquement dans le cas des nageurs similaires aux E. Coli est $t_{\mathrm{r,sim}} = 2\,t_0$ soit l'équivalent de 0.23 s.

Nous traçons donc ici les temps caractéristiques de la seconde portion des distributions, pentes obtenues par ajustement des données expérimentales par une exponentielle décroissante.

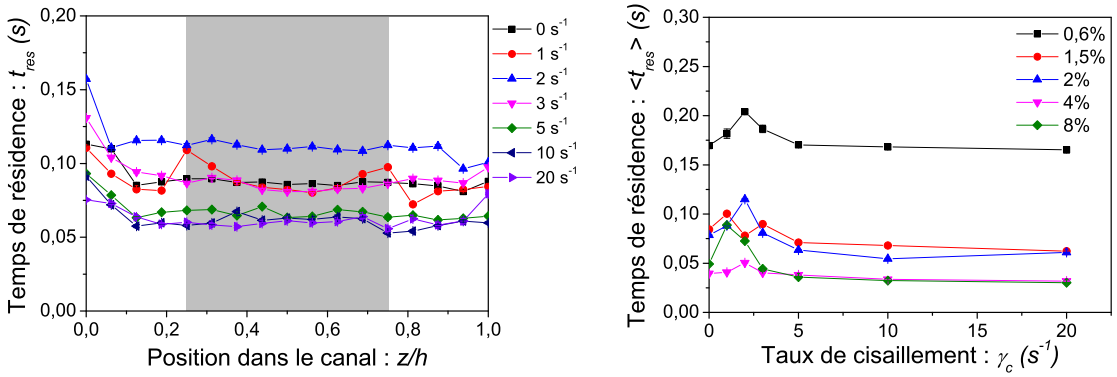


FIGURE 5.6 – Temps caractéristique t_{res} de détection des bactéries sous écoulement. À gauche : En fonction de la hauteur dans le canal pour une fraction volumique de $\phi = 2\,\%$ et pour plusieurs taux de cisaillement caractéristiques $\dot{\gamma}_c$. À droite : Moyenne au centre du canal (partie grisée) en fonction du taux de cisaillement caractéristique du système $\dot{\gamma}_c$ et pour plusieurs fractions volumiques ϕ.

Sur la courbe de gauche, on voit que le temps de résidence dans le champ focal semble ne dépendre de la position dans le canal que lorsque l'on s'approche des parois haute et basse du canal, et ce même dans le cas sans écoulement. Il semble donc exister un effet de bord du même type que celui rencontré dans le chapitre 3. On voit également que la variation de ce temps avec le débit suit qualitativement celle aperçue dans le figure précédente, à savoir l'existence d'un maximum en fonction du gradient de vitesse. Pour mieux voir ce lien entre temps de résidence et débit, nous en calculons la moyenne entre les hauteurs H/4 et 3H/4 (partie grisée), ce qui donne la figure de droite lorsque le même processus est utilisé pour les différentes fractions volumiques.

On remarque alors que, quelque soit la fraction volumique, les courbes ont globalement la même forme. Le temps caractéristique de détection t_{res} montre un maximum pour un taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c \approx 2\,\mathrm{s}^{-1}$. De plus, à fort gradient de vitesse t_{res} atteint des valeurs similaires à celles obtenues dans le cas sans écoulement. Il existe donc un changement de comportement des bactéries suivant l'amplitude du gradient de vitesse, mais son interprétation reste complexe.

Une seconde chose visible sur cette figure est la variation globale de t_{res} avec la concentration. Il semble en effet que plus la suspension de bactérie est dense, plus t_{res} diminue. On remarque alors que la valeur de t_{res} obtenue numériquement, donc pour une concentration quasi-nulle, est d'environ 0.23 s, une valeur du même ordre que dans le cas $\phi = 0.6\,\%$. Cette diminution peut s'expliquer par une augmentation de la vitesse avec la concentration comme cela a été vu expérimentalement dans le cas des clusters plus haut dans ce document et numériquement par D.Saintillan [26], en effet, si les bactéries nagent plus rapidement, elles passent moins de temps dans le plan focal. Toutefois, mesurer la vitesse dans la direction perpendiculaire au plan focal, permettant un test direct de cette hypothèse, est impossible avec ce dispositif.

Cependant, une augmentation de la vitesse de nage des bactéries se répercute obligatoirement sur sa projection sur le plan focal. Il nous est donc possible de valider qualitativement cette hypothèse à partir de la statistique des vitesses de nage des E. Coli en suspension. Nous pouvons également étudier l'impact du gradient de vitesse dans le même temps.

Nous proposons donc de continuer cette étude statistique en regardant la relation qui peut exister entre la position dans le canal, et donc, indirectement, le taux de cisaillement local, et la vitesse de nage mesurée.

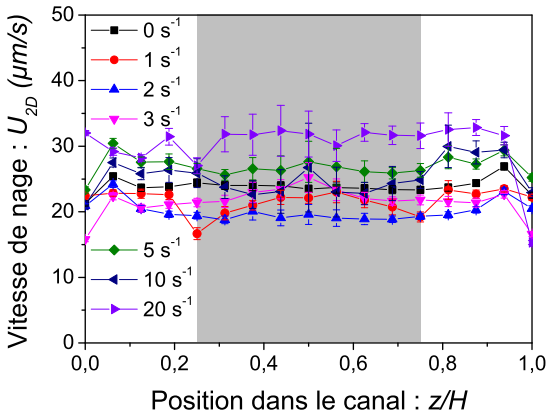


FIGURE 5.7 – Projection U_{2D} de la vitesse de nage en fonction de la position selon l'axe z considérée pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et différents gradiets de vitesse $\dot{\gamma}_c$ imposés.

On remarque que la vitesse varie assez peu avec la position z/H et ce malgré la modification du gradient de vitesse. Cependant, on voit également que les courbes pour les différents débits ne se superposent pas pour autant, la vitesse de nage dépend donc du cisaillement provoqué par l'écoulement. On peut en déduire que les bactéries, de par leur nage, visitent suffisamment de couches l'écoulement pour que notre mesure traduise un effet global. Il nous est donc possible de moyenner la vitesse de nage selon la hauteur, et ce dans la même gamme que précédemment, à savoir entre $H/4$ et $3H/4$ (partie grisée). On obtient alors les courbes suivantes.

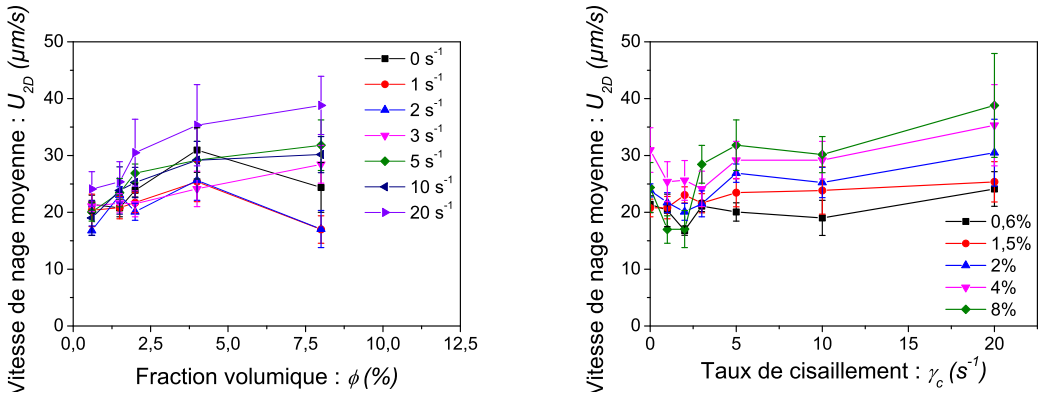


FIGURE 5.8 – Vitesse de nage projetée U_{2D} des bactéries. À gauche : variation avec la concentration ϕ en E. Coli. À droite : variation avec le taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c$.

Sur la figure de gauche est tracée la vitesse de nage en fonction de la concentration en E. Coli ϕ, et ce pour plusieurs taux de cisaillement $\dot{\gamma}$. On y voit qu'il existe une tendance commune à toutes les courbes qui consiste en une augmentation de la vitesse avec la fraction volumique, augmentation

qui semble atteindre une asymptote pour des ϕ élevés. Ce résultat entre en accord les travaux numériques de D.Saintillan sur les mouvements collectifs évoqués dans un chapitre précédent [26].

Sur le graphique de droite, on remarque que la vitesse U_{2D} a globalement tendance à croitre avec le taux de cisaillement bien qu'une gamme de $\dot{\gamma}_c$ semble se démarquer du reste. En effet, il semble que pour des gradients de vitesse situés entre 1 et $2\,s^{-1}$ la projection de la vitesse diminue légèrement, et ce quelque soit la fraction volumique considérée. Cela semble aller à l'inverse des résultats obtenus par la mesure du temps de résidence t_{res} car si seule l'orientation entre en jeu, un temps de résidence qui augmente signifie une direction de nage plus alignée avec le plan focal et donc une vitesse projetée U_{2D} plus élevée.

Pour éclaircir cette situation, il nous est possible de regarder un troisième indicateur de l'orientation qui est la distance L entre les points d'entrée et de sortie des bactéries alors qu'elles sont dans le plan. En effet, on a vu grâce à la simulation numérique présentée un peu plus haut que les bactéries effectuent plusieurs *run* durant leur résidence dans le champ de vision, cependant cette distance dépend en partie de l'orientation préférentielle de nage. Ces distances sont calculées en ne considérant que les bactéries ayant été détectées plus de 0.1 s. On obtient alors des distributions telles que celles présentées en figure 5.9.

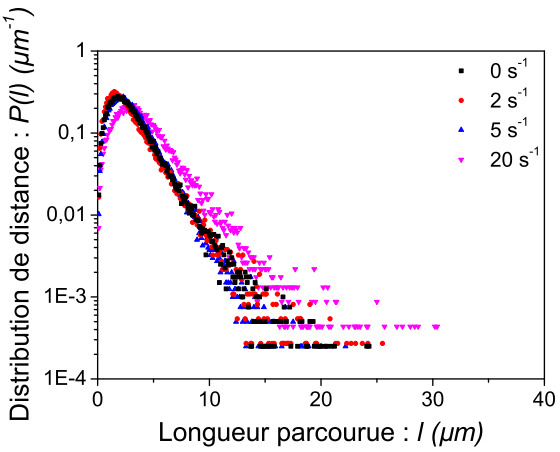


FIGURE 5.9 – Distribution de la distance parcourue par les E. Coli dans le champ de vision du microscope pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et différent taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c$.

On remarque que la longueur caractéristique des courbes est de plus en plus grande lorsque le débit imposé augmente, tandis que la courbe obtenue par simulations numériques se rapproche de la courbe sans écoulement, ce qui va dans le bons sens, la simulation étant effectuées dans le cas statique. On voit également que ces distributions comportent une partie exponentielle.

À partir de de ces distributions, il nous est donc possible d'extraire la distance caractéristique L_c parcourue par les bactéries alors qu'elles se trouvent dans le champ de vision du microscope au travers de la pente de la partie exponentielle de la distribution, longueur que nous traçons ci-dessous en fonction de la fraction volumique ϕ et du taux de cisaillement caractéristique imposé $\dot{\gamma}_c$. On voit sur les courbes de gauche de la figure 5.10 que la distance parcourue par les bactéries décroit alors que la fraction volumique augmente puis atteint une valeur plancher. Cela montre que la concentration en bactéries - et donc les mouvements collectifs- modifie la distribution des orientations de nage selon l'axe z. En effet, si cette distribution d'angles change, la profondeur de champ demeurant constante, la distribution de la distance L_c dans le champ focal est également

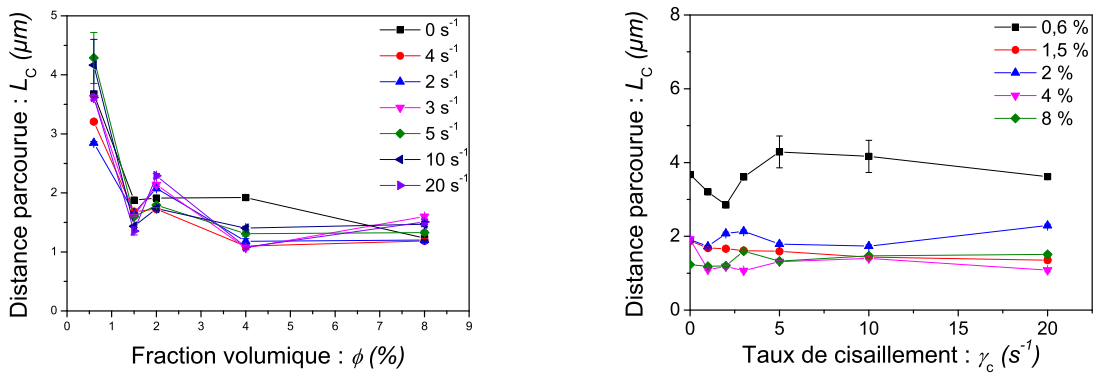


FIGURE 5.10 – Évolution de la distance parcourue par les bactéries projetée dans le plan focal L. À gauche : variation avec la concentration ϕ en E. Coli. À droite : variation avec le taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c$.

modifiée. Cela met en évidence un impact des mouvements collectifs sur cette distance L_c.

On remarque très clairement sur les courbes de droite une variation de cette même distance L_c avec le taux de cisaillement caractéristique $\dot{\gamma}_c$ imposé au fluide. On remarque que pour $\phi = 0.6\,\%$ et des taux de cisaillement compris entre $\dot{\gamma}_c = 1\,\mathrm{s}^{-1}$ et $3\,\mathrm{s}^{-1}$, la distance L_c diminue pour atteindre un minimum en $\dot{\gamma}_c = 2\,\mathrm{s}^{-1}$, ce qui va dans le sens d'une orientation préférentielle purement géométrique telle que nous l'avons présentée dans le premier chapitre et que les modèles et théories avancent comme principe initial dans le cas de particules actives cisaillées [34,36,55]. Cependant, pour les autres concentration considérées, ce maximum semble se résorber, et la distance L_c cette distance a ensuite tendance à demeurer constante.

À partir de ces données expérimentales, nous pouvons tracer le nombre sans dimension $N_{\mathrm{bal}} = L_c/(U_{2\mathrm{D}} t_{\mathrm{res}})$ qui caractérise le caractère balistique de la nage des E. Coli que nous avons introduit plus haut. On obtient alors la figure 5.11.

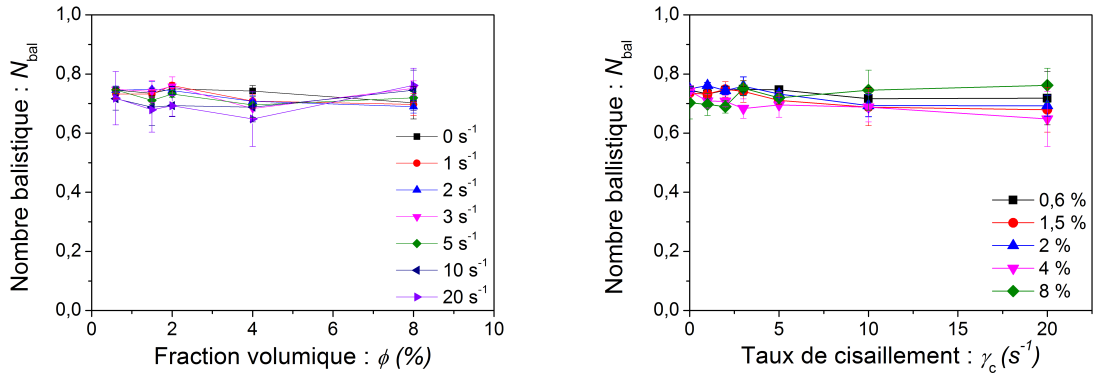


FIGURE 5.11 – N_{bal} en fonction du taux de cisaillement caractéristique $\dot{\gamma}_c$ imposé et de la fraction volumique ϕ en E. Coli.

On voit sur celle-ci que toutes les courbes se regroupent autour d'une courbe maitresse proche de 0.8, ce qui indique une nouvelle fois que notre protocole de suivi est robuste et que l'augmentation de la concentration ne provoque pas de perte significative de précision. On remarque également que ce nombre est constant quelque soit le gradient de vitesse caractéristique ou la fraction volu-

mique, ce qui semble indiquer que le mécanisme du *run* et *tumble* de E. Coliest peu affecté par ces paramètres dans notre gamme de mesure.

Il est également possible d'étudier différentes données statistiques sur les vitesses des bactéries selon l'axe longitudinal à l'écoulement x et l'axe orthogonal à celui-ci y selon lesquels les variations de vitesse et de taux de cisaillement sont négligeables. En effet, le champ de vision étant large de 135 µm et le canal en lui même de 600 µm, nos mesures sont effectuées dans une partie de l'écoulement où les paramètres physiques ne varies que selon l'axe z.

Ayant placé des traceurs dans l'écoulement et vu les résultats précédemment, il nous est possible de comparer les vitesses du fluides et des bactéries en regardant la variation de la vitesse selon l'axe x. Pour cela, nous regardons la distribution des vitesses dans le repère lagrangien, ainsi que la vitesse longitudinale des bactéries dans le repère eulérien afin de voir l'écart avec la courbe théoriquement attendue dans cette géométrie.

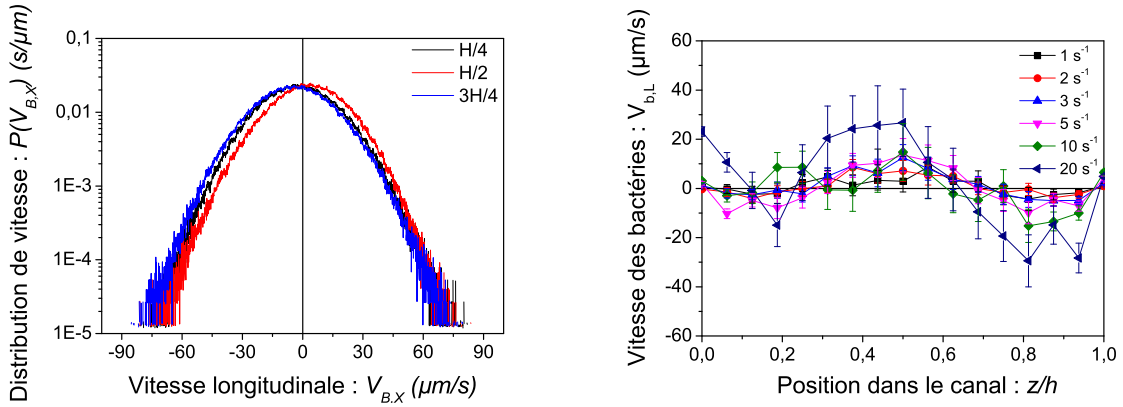


FIGURE 5.12 – À gauche : distributions de vitesse des bactéries dans le repère lagrangien pour d'une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et pour un taux de cisaillement imposé $\dot{\gamma}_c = 20\,\mathrm{s}^{-1}$ à différentes hauteur. À droite : profils de vitesse longitudinale des bactéries dans le repère lagrangien pour une fraction volumique de E. Coli $\phi = 2\,\%$ et plusieurs taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c$.

Les distributions présentées dans la partie gauche de la figure 5.12 montrent que le comportement des bactéries dans la direction longitudinale à l'écoulement est symétrique par rapport au plan situé à mi-hauteur du canal. Cela montre qu'il existe un effet du cisaillement sur la nage des bactéries. On peut également remarquer que bien que les distributions soient translatées par rapport à une vitesse moyenne $V_{B,X}$ =0 µm/s à laquelle on se serait attendue pour un système isotrope, les queues de distributions semblent se regrouper les unes sur les autres. Cela signifie que, le décalage des distributions n'étant pas total, une modification du comportement des bactéries est l'origine de ces décalages. En effet, si ces décalages provenaient d'un artefact de suivi de l'écoulement, les courbes seraient toutes strictement identiques hormis une translation parfaite de celles-ci.

Afin d'étudier de façon plus exhaustive le comportement bactérien, nous proposons de regarder les profils des moyennes des vitesses longitudinales en fonction du débit imposé Q dans le repère lagrangien, c'est à dire les vitesses par rapport à l'écoulement local.

On voit sur le panel de droite de cette même figure que tous les profils de vitesses ont le même comportement général, et plus précisément une allure déformée par rapport à une simple translation par l'écoulement. On remarque que cette déformation systématique consiste en un

déplacement moyen des bactéries inversé par rapport à l'écoulement dans les zones situées à $H/4$ et $3H/4$. Ce sont des zones où le cisaillement est relativement important tout en étant suffisamment éloignées des parois. On remarque aussi un déplacement accentué dans le sens de l'écoulement au centre du canal, soit pour $H/3 \leq z/H \leq H/3$. On a vu précédemment que la vitesse de nage d'un E. Coli ne varie quasiment pas lorsqu'elle traverse les différentes couches de l'écoulement, il est possible d'interpréter ce résultat comme une variation de l'orientation moyenne des bactéries dans l'écoulement. Ainsi, la ligne noire représentant la vitesse du fluide, et donc une nage isotrope, on peut en déduire que dans les zones cisaillées les bactéries nagent préférentiellement à contre-courant, tandis qu'au centre du canal les bactéries nagent plutôt selon la direction de l'écoulement.

De la même façon, il est possible d'étudier la vitesse de déplacement dans la direction orthogonale à l'écoulement, c'est-a-dire selon l'axe y. Celle-ci correspond à la direction du déplacement dit *rhéotactique* évoqué en début de document et étudié par Marcos [57]. Pour cela, nous regardons à la fois les résultats pour les bactéries et pour les billes. Nous proposons de regarder tout d'abord quelques distributions de vitesses transverses.

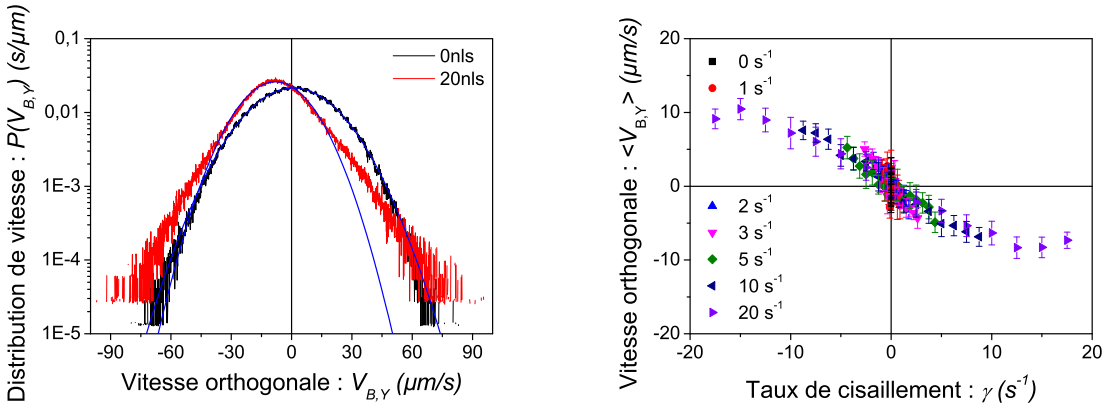


FIGURE 5.13 – À gauche : Distributions des vitesses transverses des bactéries pour $\phi = 2\,\%$ à $H/4$ et à deux débits différents. À droite : vitesse transverse moyenne des bactéries en fonction du gradient de vitesse local $\dot{\gamma}$ dans l'écoulement de Poiseuille et pour plusieurs taux de cisaillement caractéristiques imposés $\dot{\gamma}_c$.

Les courbes de distribution montrent très clairement qu'en présence d'un écoulement cisaillant, la répartition des vitesses transverses à l'écoulement est translatée et déformée par rapport à la gaussienne du cas sans écoulement. En effet, on voit que les queues de distribution s'écartent de la courbe gaussienne, l'écart le plus important se trouvant à l'opposé du sens de translation. De plus, on remarque que la distribution est plus piquée, ce qui signifie que les bactéries se voient contraintes à adopter une certaine direction de nage en raison du cisaillement, ce qui constitue un effet rhéotactique.

Si l'on regarde la vitesse transverse moyenne des bactéries, on voit que celle-ci semble varier linéairement avec le taux de cisaillement local $\dot{\gamma}$. Afin de visualiser cet effet pour différentes conditions, nous choisissons d'ajuster la vitesse transverse par la fonction polynomiale d'ordre 3 $V_{\mathrm{B,Y}}(z) = -A\dot{\gamma}(z) + B\dot{\gamma}(z)^2 + C\dot{\gamma}(z)^3$. On obtient ainsi la pente à l'origine A avec le gradient de vitesse caractéristique imposé $\dot{\gamma}_c$ et pour plusieurs fractions volumiques.

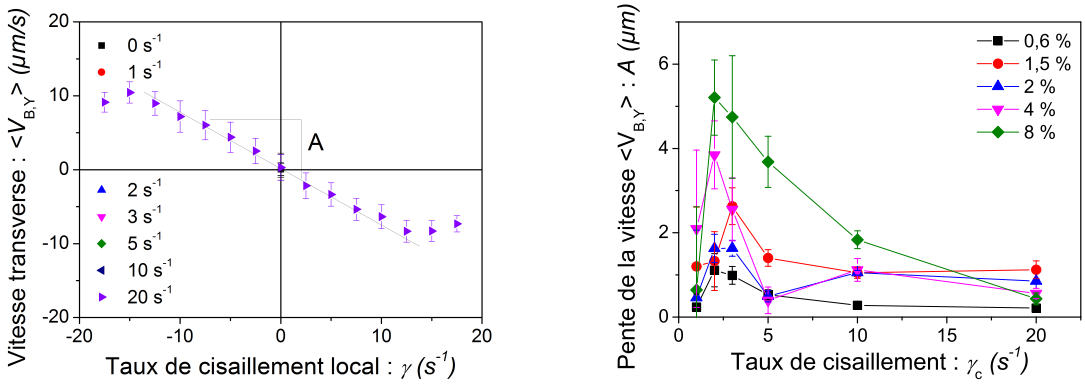


FIGURE 5.14 – Mesure de la pente A de la vitesse transverse et courbe en fonction du taux de cisaillement caractéristique imposé $\dot{\gamma}_c$.

On voit que la forme de la courbe est similaire quelque soir la fraction volumique considérée, et montre un maximum pour des taux de cisaillement caractéristiques de l'ordre de $2\,\mathrm{s}^{-1}$. On remarque également que l'effet s'accentue grandement avec la concentration en bactéries.

Lorsque l'on met cet effet en parallèle avec la vitesse transverse observée pour les billes (cf : fig 5.3), on remarque qu'il existe une forte corrélation entre ces résultats. Une explication à cela est que la rhéotaxie entraînant une direction de nage privilégiée dans l'écoulement, les bactéries finissent par emporter avec elles les traceurs.

Il est important de remarquer que l'effet rhéotactique observé dans nos expériences est différent de celui observé par Marcos [57]. En effet, non seulement l'effet est inversé, mais les pentes A que nous trouvons lors de nos mesures pour des fraction volumiques élevées, jusqu'à $5\,\mu\mathrm{m}$, sont bien supérieures à celles qu'il a obtenu, soit environ $0.2\,\mu\mathrm{m}$. En revanche, si l'on regarde les valeurs pour la fraction volumique la plus faible et en dehors du pic situé à $\dot{\gamma}_c = 2\,\mathrm{s}^{-1}$, les ordres de grandeurs redeviennent similaires.

Tout ceci reste donc obscur à nos yeux et nous ne sommes pas capable pour le moment d'expliquer ces résultats. En revanche, nous pouvons affirmer qu'ils sont robustes et reproductibles pour différentes la fractions volumiques et cellules microfluidiques.

Une autre manière de voir ce même concept d'orientation sous cisaillement est de regarder la distribution de l'angle du déplacement par rapport à la direction longitudinale à l'écoulement. Cette vision à le principal intérêt de s'affranchir de l'amplitude de la vitesse pour se concentrer sur l'orientation.

Sont présentées sur la figure 5.15 les distribution d'orientation pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et pour des débits $Q = 0\,\mathrm{nL\,s}^{-1}$, à gauche, et $3\,\mathrm{nL\,s}^{-1}$, à droite. On voit que dans le cas sans écoulement, les distributions pour toutes les positions possibles selon l'axe z, les distributions sont parfaitement isotropes. En revanche, dès lors que l'on impose un débit, ici $3\,\mathrm{nL\,s}^{-1}$, les distributions se décalent et changent de formes. Ainsi, les distributions situées au centre du canal ont tendance à s'avancer et à s'allonger vers l'avant, tandis que pour des hauteurs situées autour de $H/4$ et $3H/4$, les distributions tendent plutôt à se diriger vers l'arrière est sur les côtés.

On retrouve donc le comportement présenté précédemment avec les vitesses selon les deux axes du plan d'observation. Celui-ci ne provient donc pas d'une modification de la vitesse de nage selon l'orientation de celle-ci mais bien d'une distribution d'orientation non-isotrope.

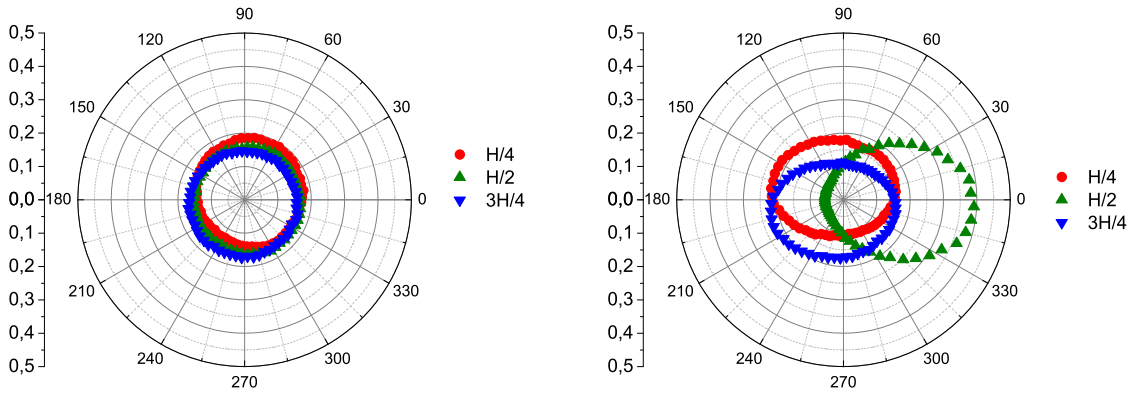


FIGURE 5.15 – Distributions de l'orientation du déplacement des bactéries par rapport à l'axe de l'écoulement pour $\phi = 2\,\%$. À gauche : débit $Q = 0\,\mathrm{nL\,s^{-1}}$. À droite : $Q = 3\,\mathrm{nL\,s^{-1}}$.

Le fait de cisailler une suspension bactérienne semble donc bien avoir un impact sur le comportement de celles-ci. On a vu que l'orientation de la nage pouvait être influencée ce en créant une cohérence globale que ce soit dans le plan de visualisation ou le plan orthogonal à celui-ci. Il est donc légitime de se poser la question de la répartition des nageurs dans l'espace, une nage cohérente à grande échelle pouvant induire de zones préférentielles pour les bactéries, et ce principalement selon la direction du gradient de vitesse soit l'axe z.

Pour le vérifier nous mesurons la concentration en E. Coli en comptant les bactéries présentes sur les images et en rapportant ce nombre au volume du champ de vision, soit environ $V_{field} = 6.2 \times 10^4\,\mu\mathrm{m}^3$ pour le cas présent.

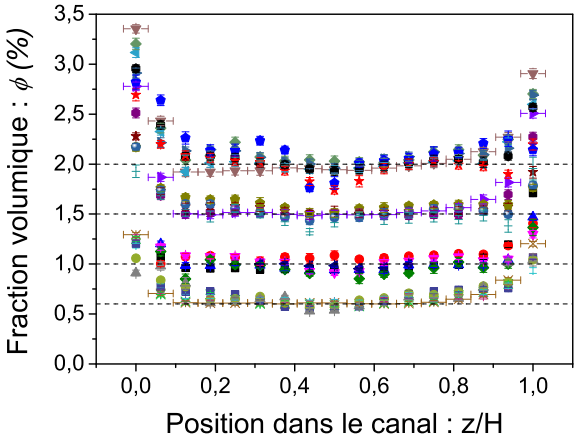


FIGURE 5.16 – Profils de densité pour plusieurs fractions volumiques et plusieurs débits imposés.

On voit alors deux choses importantes : il existe un effet d'accumulation aux parois et la forme des courbes pour des positions comprises entre 20 % et 80 % de la hauteur du canal est globalement plate.

L'effet que l'on voit aux parois est identique à celui qui est attendu, qui a été discuté en début de ce document. Cela confirme qu'il existe un effet de couche limite dont la portée semble, dans le cas de E. Coli, être de l'ordre de 20 µm.

Le second point, qui revient a une absence d'effet visible du cisaillement sur la répartition

verticale des nageurs, nous permet de considérer comme valide les mesures moyennées avec la fraction volumique.

Il est toutefois possible de voir une légère diminution de la concentration au centre de l'écoulement de Poiseuille. Ce comportement correspond à celui prédit par des simulations numériques développées par B.Ezhilan [68] qui prévoient une diminution de la concentration au centre d'un écoulement de poiseuille de l'ordre de 10 % pour des écoulement rapides et une augmentation de celle-ci aux parois, soit un comportement très similaire à celui que nous avons mesuré expérimentalement, ainsi qu'aux résultats présentés par R.Rusconi [69] qui montrent une diminution du même ordre, et plus élevée dans certaines gammes de vitesses d'écoulement.

5.3 Corrélations de vitesse et mouvements collectifs

Maintenant ces aspects globaux de l'impact du gradient de vitesse sur le comportement étudiés, nous nous intéressons à la formation possible de structures à une échelle intermédiaire avec l'échelle bactérienne au moyen de mesure des corrélations de vitesse tel que cela a été fait dans le cas sans écoulement.

Pour commencer, nous proposons de regarder les corrélations spatiales des vitesses calculées au moyen du suivi de particules.

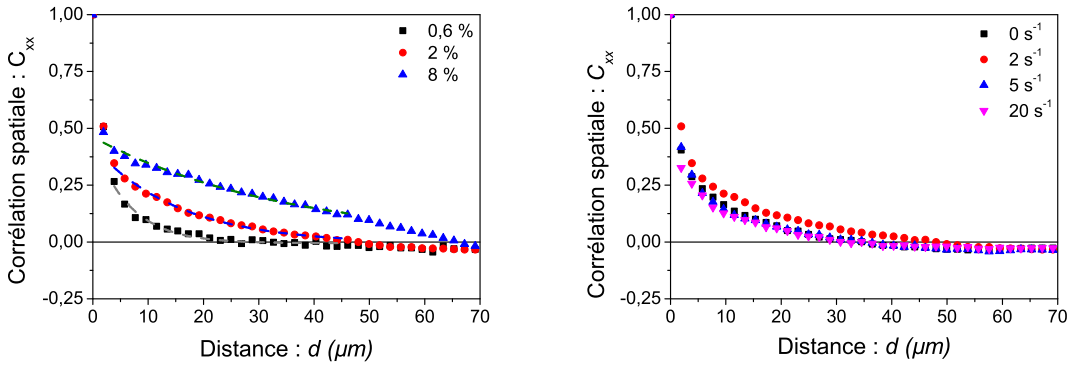


FIGURE 5.17 – Fonctions de corrélation spatiale. À gauche : cas pour un gradient de vitesse $\dot{\gamma}_c = 2\,\mathrm{s}^{-1}$ et pour différentes fractions volumiques $\phi = 2\,\%$ au centre du canal. Pointillés : ajustement par une exponentielle décroissante. À droite : cas pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et pour différents gradients de vitesse $\dot{\gamma}_c$ au centre du canal.

On voit que, de la même façon que dans le cas sans écoulement, la décroissance des fonctions de corrélation spatiale des vitesses de bactéries se fait globalement de manière exponentielle.

Sur la figure de gauche, on remarque que lorsque la concentration en bactéries augmente dans le système, la décroissance de la fonction de corrélation devient de plus en plus lente. Comme nous l'avons vu dans le cas sans écoulement, cela montre que les mouvements collectifs ont des tailles caractéristiques plus importante à mesure que la concentration grandit.

Sur la figure de droite, on voit que la variation de la pente avec la modification du gradient de vitesse n'est pas monotone. En effet, on peut remarquer que celle-ci semble atteindre un maximum pour un taux de cisaillement caractéristique $\dot{\gamma} = 2\,\mathrm{s}^{-1}$, soit dans la même gamme que les extremums que nous avons pus observer sur les statistiques étudiées en début de ce chapitre.

Afin d'avoir une meilleurs vision de ce phénomène, nous regardons les longueurs caractéris-

tiques extraites par ajustement de ces fonctions de corrélation par des exponentielles en se limitant à des distances d inférieures à 50 µm car le champ mesure 135.2 µm de côté.

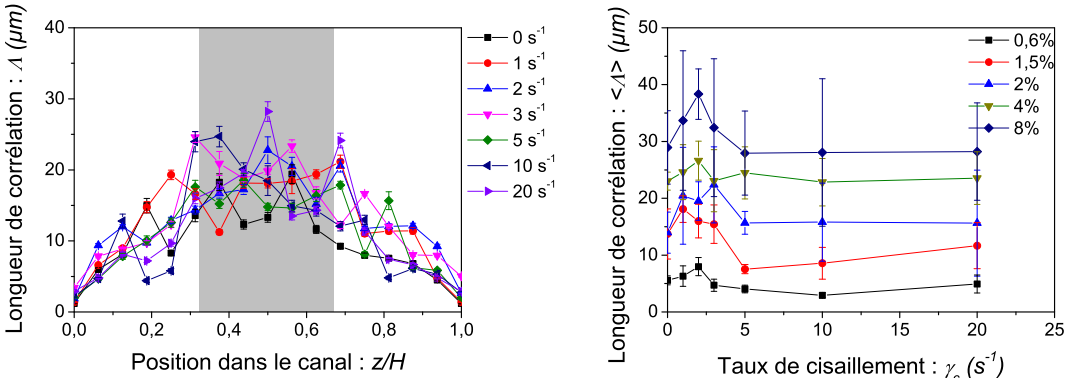


FIGURE 5.18 – Longueurs de corrélation spatiale des vitesses Λ. À gauche : variation avec la position dans le canal z/H pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et pour différents gradients de vitesses $\dot{\gamma}_c$. À droite : moyenne des longueurs de corrélation au centre du canal (partie grisée) $\langle\Lambda\rangle$ avec le gradient de vitesse $\dot{\gamma}_c$ pour différentes fractions volumiques ϕ.

Sur la figure de gauche sont tracés des profils de longueur de corrélation en fonction de la position dans le canal du plan focal. On remarque que la forme générale de ces profils est identique pour les différents taux de cisaillement caractéristiques imposé à la suspension. Dans le volume, c'est à dire pour une position z/H comprise entre 0.33 et 0.66 (partie grisée), la longueur de corrélation est quasi constante malgré quelques valeurs éloignées de la courbe principale. Au delà de cette zone, la longueur de corrélation décroit et tend à atteindre une valeur très faible, jusqu'à une taille de l'ordre de 2 µm, soit une taille de bactérie. Cette décroissance proche des parois rend compte du même phénomène que celui vu précédemment pour la vitesse de nage ou la concentration en bactéries. L'augmentation de la concentration ne peut être à l'origine de la diminution de la longueur de corrélation car, comme on l'a vu dans un chapitre précédent, elle est censée l'augmenter. De même, une augmentation de la projection de la vitesse de nage ne joue pas en théorie sur la longueur caractéristique des corrélations. Cet effet est donc causé directement par la présence des parois car les courbes se regroupent dans cette zone quelque soit le taux de cisaillement imposé. Les parois semblent perturber les interactions nageur-nageur en limitant leur portée. Au delà de ces effets de bords, il semble que les effets du cisaillement se diffusent dans l'espace et provoque un comportement global à partir de contraintes locales. Il est donc possible de regarder la valeur moyenne des longueurs de corrélations dans la partie quasi constante, et de les étudier en variant la densité en E. Coli ϕ et le gradient de vitesse $\dot{\gamma}_c$.

On y voit que les longueurs de corrélations, comme nous l'avons remarqué sur les fonctions corrélations, présentent un maximum pour un taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c = 2\,\mathrm{s}^{-1}$, puis diminuent pour atteindre des valeurs proches de celles obtenues en l'absence d'écoulement. Un effet similaire a été observé sur les vitesses de nage ainsi que sur la distance parcourue par les bactéries, ce qui semble apporter une explication à ce comportement. En effet, il parait logique de s'attendre à ce que si des bactéries nagent sur des distances plus longues dans le champ focal, les bactéries ayant été interagit avec elles soient plus nombreuses, ce qui se traduit par une augmentation de la longueur caractéristique pour laquelle leurs nages sont cohérentes. L'accroissement de la longueur de corrélation dans le plan d'observation, et donc de l'extension spatiale des mouvements collectifs est donc lié à une orientation préférentielle des bactéries, ainsi qu'à la valeur de cet angle.

En passant les données issues du suivi de particules par un algorithme de *coarse-graining* tel que présenté en début de chapitre, il est possible de sous-échantilloner les champs de vitesse. Pour cela, nous prenons une taille de *coarse-graining* $W = 5.76\,\mu\text{m}$, soit 36 pixels.

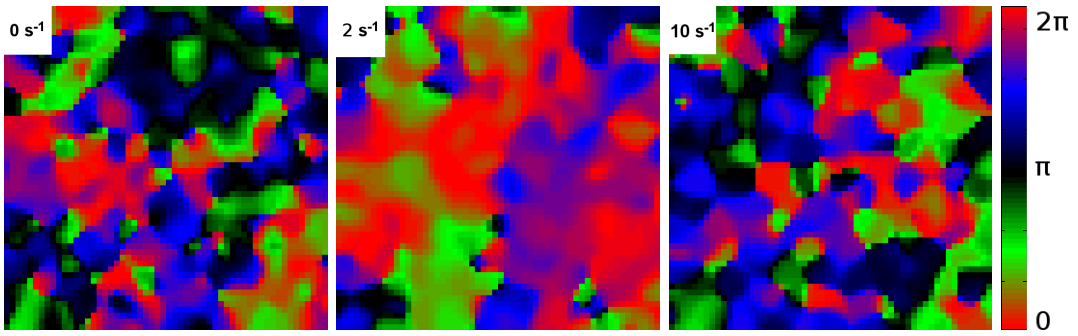


FIGURE 5.19 – Cartographies des orientations extraites du champ de vitesse *coarse-grainé* ($W = 5.76\,\mu\text{m}$) pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$. Les champs de visions font $135.2\,\mu\text{m}$ de côté. À gauche : cas sans écoulement. Au centre : cas pour $\dot{\gamma}_c = 2\,\text{s}^{-1}$. À droite : cas pour $\dot{\gamma}_c = 10\,\text{s}^{-1}$.

Ces cartographies montrent bien qu'il existe un changement d'organisation qui se produit lorsque que la suspension est soumise à cisaillement extérieur. Mesurer des corrélations spatiales à partir de ces champs interpolés risquerait de fausser les résultats. Cependant, ils sont intéressant car ils permettent de de rendre compte visuellement qu'en effet la taille caractéristique des structures internes à l'écoulement subit une variation non monotone avec le taux de cisaillement.

Ayant désormais une valeur de vitesse pour chaque point de l'espace, il est possible de calculer aisément les corrélations temporelles de ces vitesses selon l'équation (5.6).

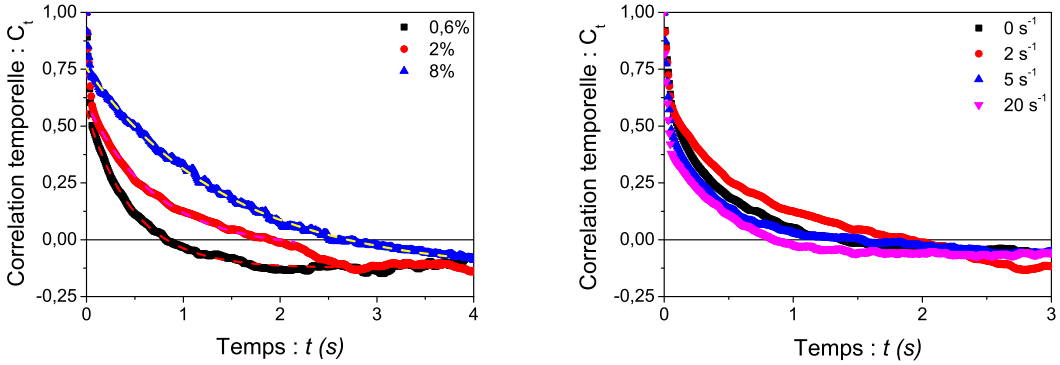


FIGURE 5.20 – Fonctions de corrélation temporelle. À gauche : cas pour un gradient de vitesse $\dot{\gamma}_c = 2\,\text{s}^{-1}$ et pour différentes fractions volumiques ϕ au centre du canal. Pointillés : ajustement par une exponentielle décroissante. À droite : cas pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et pour différents gradients de vitesse $\dot{\gamma}_c$ au centre du canal.

On retrouve pour ces corrélations temporelles une forme de type exponentielle décroissante quelque soit le gradient de vitesse ou la fraction volumique considéré.

Sur la figure de gauche, on voit que la décroissance des corrélations temporelles est de plus en plus lente à mesure que la fraction volumique augmente. Cela va dans le même sens que le résultat précédent en laissant entrevoir que les mouvements collectifs s'accentuent avec la densité.

Les courbes de droites nous apprennent que les fonctions de corrélation temporelle laissent également apparaître un effet du gradient de vitesse principalement localisé aux alentours d'un taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c = 2\,\text{s}^{-1}$ comme précédemment.

Cette convergence apparente des résultats demande à ce que nous étudions plus en détail les variations avec le gradient de vitesse de la même manière que pour les corrélations spatiales en extrayant le temps caractéristique de corrélation.

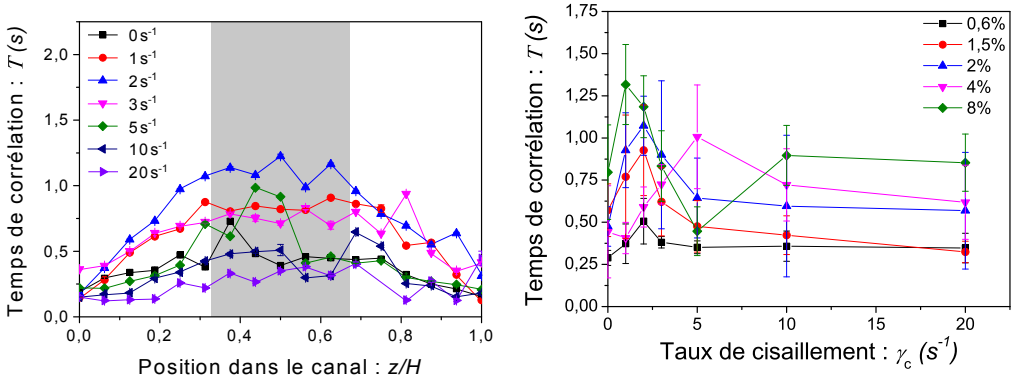


FIGURE 5.21 – Temps de corrélation spatiale des vitesses T. À gauche : variation avec la position dans le canal z/H pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et pour différents gradients de vitesses $\dot{\gamma}_c$. À droite : moyenne des temps de corrélation $\langle T \rangle$ moyenné au centre du canal (partie grisée) avec le gradient de vitesse $\dot{\gamma}_c$ pour différentes fractions volumiques ϕ.

Sur la courbe de gauche est représentée le temps caractéristique de corrélation des vitesse T pour une fraction volumique $\phi = 2\,\%$ et pour différents taux de cisaillement caractéristiques $\dot{\gamma}_c$ en fonction de la position z/H dans le canal. On voit que, de la même façon que précédemment, les parois jouent un rôle important sur une zone allant jusqu'à un tiers de la hauteur, tandis qu'un régime constant apparait dans le volume. Au delà de ce constat, on remarque que les temps considérés ici sont compris entre $T = 0.5\,\mathrm{s}$ et $T = 1\,\mathrm{s}$, soit des temps entre 2 et 4 fois plus élevés que les temps moyens de résidence dans le champ d'observation t_{res}. Il existe donc bien une persistance de la cohérence de nage alors que les nageurs se sont succèdés dans la zone de mesure. Cela va dans le sens d'une structuration de la nage bactérienne qui persiste dans l'écoulement.

Si l'on trace le temps caractéristique moyenné sur la gamme de z/H pour laquelle il est constant, on observe qu'il a le même comportement avec le taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c$ que la longueur de corrélation, à savoir un maximum pour un gradient de vitesse $\dot{\gamma}_c = 2\,\mathrm{s}^{-1}$ puis une décroissance telle que T atteigne, pour des débits élevés, une valeur proche de celle obtenue sans cisaillement. Il existe donc une réelle convergence des résultats, ce qui conforte l'idée que le cisaillement ressenti par les nageurs a un effet de structuration du mouvement bactérien qui semble atteindre un pic pour $\dot{\gamma}_c = 2\,\mathrm{s}^{-1}$.

Une façon d'expliquer la diminution de la longueur Λ pour les grands taux de cisaillement pourrait être que les structures se forme dans la troisième direction de l'espace, axe qui nous est inaccessible. Cependant, le temps de corrélation diminuant également à grand gradient de vitesse, cela nous informe que les structures présentes dans le champ d'observation durent moins longtemps, ce qui est contradictoire avec l'idée d'un structure de taille équivalente à celles présentes pour $\dot{\gamma}_c = 2\,\mathrm{s}^{-1}$ qui nagerait selon l'axe z car cela produirait une augmentation du temps de corrélation T. Il s'agit donc bien d'une diminution de la taille caractéristique des mouvements collectifs dans les trois dimensions de l'espace.

5.4 Conclusion

Comme nous le pensions, nous avons vu qu'une suspensions bactérienne soumise à un cisaillement a un comportement particulier lié aux mouvements collectifs, à l'instar du comportement sans écoulement, mais auquel se mêle des effets dus aux cisaillements.

Ainsi, certains paramètres globaux caractérisant la nage des E. Coli ont montré une sensibilité aux cisaillements locaux et globaux dans le fluide, tels que la vitesse de nage dans le plan. L'étude des orientations de nages dans ces mêmes conditions nous a montré que les nageurs voient leurs directions de déplacement modifiées suivant le cisaillement ressenti, ce qui semble aller qualitativement dans le sens de plusieurs travaux antérieurs concernant la nage à contre-écoulement ainsi que la rhéotaxie.

De même, nous avons vu que les nageurs s'organisent différemment selon le taux de cisaillement global dans le système. La variation des temps et longueurs de corrélation avec ce paramètre semble indiquer qu'il existe une interaction entre les champs hydrodynamiques créés par les bactéries et l'écoulement lui-même. Ainsi, à faible gradient de vitesse les deux effets semblent se combiner pour augmenter la nage collective, tandis qu'à fort gradient de vitesse, ils s'annulent en partie pour retrouver un comportement semblable à celui sans écoulement.

Cette organisation de la nage à grande échelle nous amène à penser que ces effets mésoscopiques du cisaillement sur les suspensions bactérienne peuvent avoir un impact à l'échelle macroscopique, et plus précisément sur certaines propriétés constitutives de cette suspension, tel que la viscosité ou la dispersion hydrodynamique.

Chapitre 6

Rhéologie de suspensions de E. Coli

Dans les chapitres précédents, nous avons vu que les nageurs placés en suspension dans un fluide peuvent s'organiser suite aux cisaillements et aux interactions entre les nageurs. Dans ces situations, les transferts de quantité de mouvement microscopiques provoqués par les nageurs peuvent se cumuler de manière constructive et avoir potentiellement un impact macroscopique notamment sur la viscosité de la suspension.

Ces considérations ont fait l'objet de plusieurs modèles et simulation numériques [34,35,73]. Tout ces travaux vont dans le même sens, à savoir une diminution de la viscosité dans une suspension de *pushers* lorsque celle-ci est cisaillée à des gradients de vitesse très faibles. Le modèle de D.Saintillan [36] sur lequel nous nous sommes appuyé durant cette étude est explicité dans le chapitre 1.

Bien que le sujet ait fait l'objet de ces travaux théoriques, peu de mesures de la rhéologie de suspensions bactériennes ont été effectuées.

Cela provient principalement du fait que l'objet de cette étude est de comparer des viscosité qui, selon les travaux théoriques et numériques précédents [34,73], sont faibles, de l'ordre de celle de l'eau, avec une différence faible également, de l'ordre du dixième de mPa s. De plus, la gamme de gradient de vitesse pertinente est faible, de l'ordre du Hertz, voire en dessous. Les mesures se trouvent donc potentiellement dans la limite de résolution des appareils classiques.

Toutefois, l'équipe de I.Aranson a choisi, dans leur étude sur le sujet, d'utiliser un dispositif expérimental contournant ce problème [39] et pour ce faire a regardé le temps de décroissance d'un vortex induit dans un film de suspension de *Bacillus Subtilis*. Cette mesure a corroboré les modèles écrits auparavant, mais en revanche a le défaut de ne pas avoir un contrôle temporel du taux de cisaillement (cf : chapitre 1), ce qui peut poser des questions sur l'influence de l'histoire du processus.

Nous avons donc décidé de mener notre propre étude [74] avec pour objectif de contrôler le mieux possible le taux de cisaillement. Une autre contrainte que nous nous sommes imposée a été d'avoir la possibilité d'avoir accès à la fois à la mesure de la viscosité, mais également aux grandeurs microscopiques du système et ce à chaque instant. Étant donné le savoir-faire du laboratoire dans le domaine de la microfluidique, c'est tout naturellement vers cette solution de ce type que nous nous sommes tournés.

6.1 Méthode

Un dispositif de ce type ayant été développé et étudié auparavant [75–77], nous l'avons adapté pour les expériences présentées ici. Le principe de ce système est de comparer directement la viscosité de deux fluides miscibles. Il s'agit d'un canal en forme de "Y" possédant deux entrées et une sortie. Les deux échantillons, à savoir le fluide 0 de viscosité eta_0 et le fluide 1 de viscosité η_1, sont chacun injectés dans une branche différente du dispositif. Bien que peu adapté à une mesure de viscosité absolue par son principe de fonctionnement, il a un grand intérêt lorsqu'il s'agit de faire des mesures comparatives car celles-ci ne nécessitent qu'une seule expérience, ce qui réduit les possibilité d'accumulation d'erreurs.

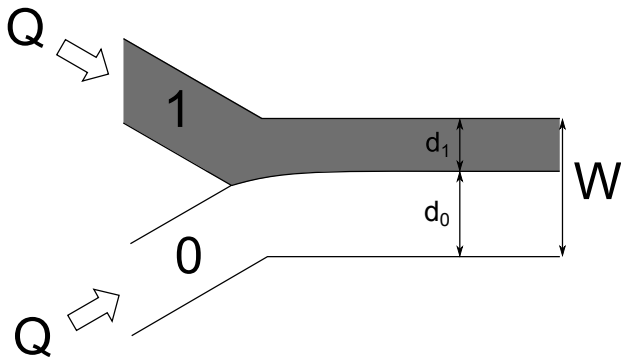


FIGURE 6.1 – Principe de fonctionnement du rhéomètre microfuidique. Ici la largeur du fluide 1 est inférieur à celle du fluide 0, il a donc une viscosité plus faible.

Les deux fluides sont injectés à un débit identique Q dans le dispositif microfluidique. Dans le canal principal, c'est à dire après la jonction des branches dans lesquelles sont injectés les fluides, les écoulements sont parallèles tant que ceux-ci restent à bas nombre de Reynolds. Si l'on se place dans l'approximation de Hele-Shaw, le cisaillement dominant se produit alors selon la hauteur du canal, dans la direction z. C'est celui-ci qui sera pris en compte pour dans les mesures rhéologiques décrites dans ce chapitre.

Lorsque l'on se place dans la situation où les viscosité sont relativement proches, l'équation de l'écoulement d'un fluide en cellule de Hele-Shaw s'écrit

$$Q = \frac{1}{12}\frac{h^3 d}{\eta}\frac{\partial p}{\partial x}, \tag{6.1}$$

où h est la hauteur de canal microfluidique, ${}^{\partial p}/_{\partial x}$ le gradient de pression dans le fluide selon l'axe de l'écoulement, d la largeur de l'écoulement selon l'axe y, et η la viscosité du fluide.

En prenant en compte le fait que l'interface est libre, et donc que la pression s'équilibre entre les deux fluides, que la hauteur du canal est fixe en tout point, et que les débits d'injections sont identiques pour les deux échantillons, il est possible d'écrire :

$$Q = \frac{1}{12}\frac{h^3 d_0}{\eta_0}\frac{\partial p}{\partial x} = \frac{1}{12}\frac{h^3 d_1}{\eta_1}\frac{\partial p}{\partial x}, \tag{6.2}$$

où d_i est la largeur de l'écoulement de l'échantillon i, et η_i la viscosité de cet échantillon.

On peut alors en déduire que :

$$\frac{d_0}{\eta_0} = \frac{d_1}{\eta_1} \tag{6.3}$$

$$\frac{\eta_1}{\eta_0} = \frac{d_1}{d_0}.$$

Le rapport des viscosité η_1/η_0 peut donc être lu directement depuis le rapport des largeurs des écoulements d_1/d_0 [76] dans le canal principal.

De la même manière que dans le chapitre précédent, l'écoulement imposé suit un profil de vitesse de type Poiseuille. Nous pouvons donc définir un taux de cisaillement typique suivant le même principe, ce qui donne ici :

$$\dot{\gamma}_c = \frac{6Q}{h^2 d_1}, \tag{6.4}$$

où d_1 est la largeur d'écoulement de la suspension bactérienne. On peut alors écrire une viscosité relative de la suspension bactérienne comme :

$$\eta_r = \frac{\eta_1}{\eta_0} = \frac{d_1}{d_0}. \tag{6.5}$$

Ce résultat permet une mesure simple et directe de la viscosité relative entre deux fluides, ce qui correspond très exactement à ce que nous cherchons à obtenir. En effet, notre but est de mesurer la part de la viscosité due à la présence des E. Coli dans la suspension. Pour cela, il nous suffit de placer d'un côté la suspension bactérienne et de l'autre le fluide suspenseur seul.

Cependant, cette approximation n'est valable que pour des viscosités proches l'une de l'autre. Lorsque l'on s'éloigne de cette condition, la relation entre le rapport des viscosités et celui des largeurs d'écoulement des deux fluides devient beaucoup moins évidente.

Dans un article publié par P.Galambos [75], une étude approfondie de ce système de mesure a été effectuée. Pour cela, ils ont résolu analytiquement les équations de Navier-Stokes dans cette configuration et à faible nombre de Reynolds en imposant certaines conditions, dont une partie n'est pas valide dans nos expériences.

En effet, dans leur modèles, les fluides sont vus comme incompressibles, non-miscibles et newtoniens, et l'interface qui les sépare est supposée parfaitement plane. Ces conditions ont pour but de simplifier les calculs et de permettre une résolution analytique. En effet, cela permet de supprimer du problème les forces tangentielles ainsi que la pression de Laplace et de ne considérer que les forces normales et les conditions de continuité à l'interface. En résolvant l'écoulement de fluides s'écoulant de manière parallèle dans un canal, ils ont été capables de retrouver la position de l'interface en fonction du rapport des débits et des viscosités.

Afin de vérifier leur modèle, ils ont également effectué des mesures expérimentales. Pour cela, ils ont utilisé de l'eau ainsi qu'un solution de dextran (FITC dextran, MW70000) à une concentration de $4\,\mathrm{kg\,m^{-3}}$, ce qui lui confère une viscosité 2.42 fois plus grande que l'eau. Ils ont ainsi pu mesurer la position de l'interface en fonction du rapport des débits pour des rapports de viscosité de $^{\eta_1}/_{\eta_0} = 1$ et de $^{\eta_1}/_{\eta_0} = 2.42$

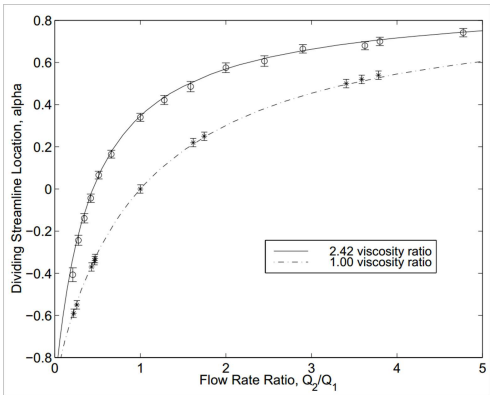


FIGURE 6.2 – Position de l'interface en fonction du rapport de débit dans les canaux pour deux rapport de viscosité différents et dans un canal de rapport d'aspect 6.5. Lignes : modèle théorique. Symboles : résultats expérimentaux (Galambos et al. [75]).

Cette représentation montre que la relation entre le rapport de viscosité et le rapport des largeurs est univoque et dépend du rapport entre les débits imposés à chaque échantillon. On voit qu'il existe alors deux façon simples de mesurer le rapport des viscosités.

La première consiste à chercher à garder l'interface au centre du canal en modifiant le rapport des débits par rétroaction. Cette méthode a l'avantage de conserver une géométrie constante quelque soit le débit, et donc le gradient de vitesse typique, imposé dans le cas d'un fluide non-newtonien. En revanche, elle utilise une boucle de rétroaction ce qui induira une double erreur car la mesure finale dépendra à la fois de la précision de la détection de l'interface, de celle du dispositif d'injection, ainsi que de la robustesse de la boucle en elle même.

Le seconde consiste à fixer le rapport des débits et à mesurer la position de l'interface. Celle-ci a l'avantage de ne pas dépendre d'une boucle de rétroaction, mais pose un problème dans le cas de fluides dont les viscosités sont très différentes. En effet, lorsque l'on regarde la relation entre la position de l'interface et le rapport des viscosités dans le cas de la simulation de P.Galambos, on voit que celle-ci n'est pas strictement linéaire.

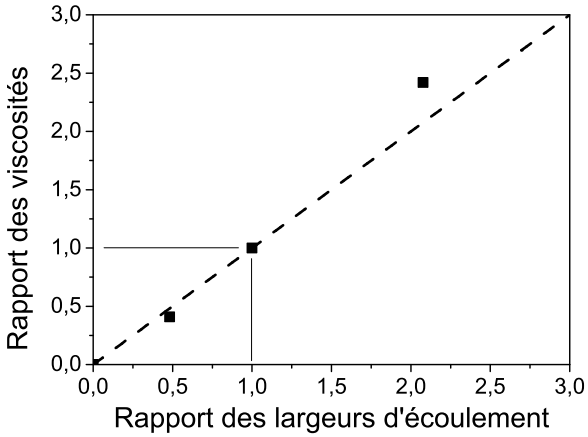


FIGURE 6.3 – Rapport de viscosité entre les deux fluides η_1/η_0 en fonction du rapport des largeurs d'écoulements observées d_1/d_0 dans le cas de débits identiques et pour un canal de rapport d'aspect 6.5. Pointillé : droite $\eta_1/\eta_0 = d_1/d_0$. Les valeurs des points sont tirées de l'article de P.Galambos [75].

En effet, lorsque le débit imposé est identique pour les deux écoulements mais que les viscosités diffèrent, les largeurs d'écoulements ne sont plus identiques. Cela signifie que, la section de chaque écoulement étant différente de l'autre, la vitesse moyenne est également différente, et le profil de vitesse dans le canal n'est plus aussi simple que dans le cas où l'interface se trouve au centre. En effet, le fluide le plus visqueux ayant une largeur supérieure à celle du second fluide, il s'écoule plus lentement, et inversement pour l'autre échantillon injecté dans le système.

Plus le rapport entre les viscosité est grand, plus les écoulements seront différents de part et d'autre. Cela se traduit par une déviation de la courbe $^{\eta_1}/_{\eta_0}$ $\left(^{d_1}/_{d_0}\right)$ par rapport à la droite de pente 1 qui donnerait une égalité parfaite entre le rapport des largeurs et celui des viscosités.

Ainsi, lorsque l'on mesure ce que nous avons appelé la viscosité relative $\eta_r = {}^{d_1}/_{d_0}$, la valeur obtenue est de plus en plus éloignée du véritable rapport des viscosité lorsque celui-ci s'écarte de la valeur $^{\eta_1}/_{\eta_0} = 1$. Il est également intéressant de constater que, quelques soit la situation, cette viscosité relative est toujours plus proche de 1 que la valeur du rapport des viscosités. Ainsi, dans le cas de notre mesure, c'est à dire de la comparaison de la suspension bactérienne avec le fluide suspenseur, l'impact de la présence des E. Coli sur la viscosité est toujours amenuisé par ce dispositif.

Il est théoriquement possible de redresser les mesures optiques afin de retrouver les valeurs réelles du rapport des viscosités. Il suffirait d'appliquer une correction basée sur les travaux qui ont été présentés ici. Cependant, cette opération se baserait sur des hypothèse fausses dans notre cas. En effet, l'interface entre les deux fluides est purement diffusive puisqu'ils ont presque identiques. De plus, la suspension bactérienne est attendue comme non-newtonienne. Afin de ne pas ajouter des hypothèses supplémentaires, et les rapports de viscosités restant relativement faibles dans les cas les plus intéressants, nous avons choisi de rester dans l'hypothèse d'une relation directe entre le rapport de viscosités et le rapport des largeurs d'écoulement décrite dans l'équation (6.5).

Au delà de ces considérations, ce système a de nombreux avantages, notamment celui d'être parfaitement perméable aux gaz, contrairement à des dispositifs plus classiques qui réduisent très fortement l'alimentation en oxygène par leur seule géométrie. De plus la précision de la mesure étant purement optique, elle ne dépend que de la résolution de la caméra utilisée ainsi que du grossissement de l'objectif placé sur le microscope. Le fait d'être capable de regarder directement l'état des E. Coli lors de l'expérience est également un avantage déterminant car l'activité des bactéries est le moteur principal de l'effet que nous recherchons.

6.2 Protocole expérimental

Cette méthode de mesure demande de contrôler parfaitement l'apport en fluide pour les deux échantillons. Pour garantir ce contrôle, nous utilisons un pousse-seringue *nemeSYS* de la marque *Cetoni*, ainsi que des seringues de verre *Hamiltion Gastight 1805RN* de 50 µL de volume. Cela nous permet d'imposer des débits très faibles, jusqu'à $Q = 0.5\,\mathrm{nL\,s^{-1}}$ pour chaque entrée tout en conservant une injection constante et sans oscillation. Enfin, dans le but de s'assurer des écoulements parfaitement symétriques et éviter des oscillations parasites de l'interface, les deux seringues sont placées sur le même chariot du pousse-seringue.

Le canal microfluiqiue en Y est fabriqué en PDMS par le biais d'un moule conçu par une lithographie dite *douce* à base de résine photo-réticulée. Le canal final fait 100 µm de hauteur sur toute se longueur. En revanche, le canal principal a une largeur de 600 µm alors que les canaux

d'injections ne font que 300 µm afin de garantir une vitesse moyenne constante le long du canal. La longueur du canal principal est de 40 mm, et celle des canaux secondaire est de 15 mm. Les quatres parois internes sont en PDMS, la parois du bas consistant en une lamelle de verre couverte d'une couche de PDMS de 28.5 µm. Les entrées du dispositif sont connectés aux seringues via des tuyaux semi-souples *Tygon Microbore tubing* de 500 µm de diamètre et de longueurs identiques ainsi par des tubes en inox de 15 mm et de 23 G. La sortie de la puce microfluidique est relié par le même système dont l'extrémité est immergée dans réservoir.

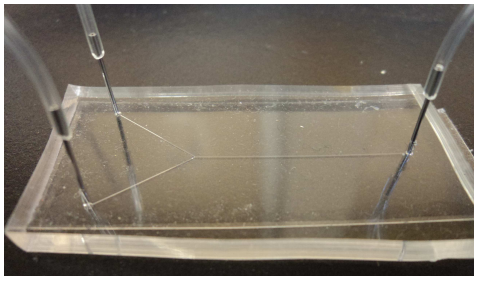


FIGURE 6.4 – Puce microfluidique utilisée pour nos expériences.

L'observation se fait à l'aide d'un microscope inversé *Zeiss Observer Z1* équipé d'une caméra *PixeLink PL-A741-E* réglée sur 22 fps. Un objectif permettant un grossissement de 2.5 X en contraste de phase est utilisé pour les mesures de viscosité. En effet, il permet de faire des images suffisamment larges et fines pour pouvoir observer l'évolution de la position de l'interface avec une précision suffisante, soit environ 200 px dans la largeur du canal.

L'interface atteint dans ce dispositif sa position d'équilibre à environ 600 µm de la jonction des canaux d'injection, soit une largeur de canal, et reste stable sur toute la longueur du canal. Cependant, un élargissement de cette interface est observé le long de celle-ci. Ceci est dû au fait que les fluides sont miscibles et les bactéries étant capables de nager, cet effet est beaucoup plus présent que dans le cas de billes de même taille.

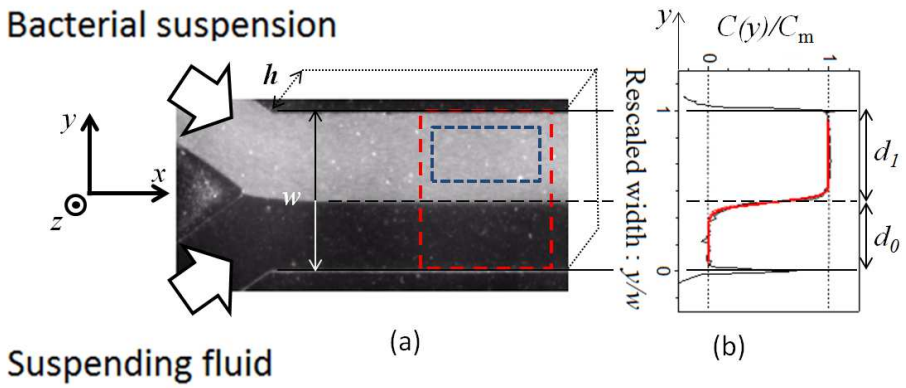


FIGURE 6.5 – Dispositif expérimental. (a) Image du microcanal moyennée sur le temps ($W = 600\,\mu m$) pour $Q = 10\,nL\,s^{-1}$ pour chaque échantillon une fraction volumique en bactérie $\phi = 0.35\%$. Le système est éclairé en lumière blanche. Les cadres rouge et bleu désignent les zones de mesure respectivement pour la viscosité et les mesures à l'échelle microscopique. (b) Profil de concentration en bactéries $C(y)$ normalisé par la concentration maximum C_c le *fit* par une fonction erreur utilisé pour repérer la position de l'interface.

Dans nos expériences, la forme de l'interface est obtenue en moyennant temporellement sur

121 images, soit 5.5 s, et spatialement sur 600 µm dans la direction de l'écoulement(voir figure 6.5). On peut alors tracer le profil de l'intensité lumineuse normalisée dans le sens orthogonal à l'écoulement :

$$C(y) = \ln\left(\frac{\langle I\rangle(y)}{\langle I\rangle_0}\right), \tag{6.6}$$

avec $\langle I\rangle_0$ l'intensité moyenne en absence de bactérie. Ayant affaire à une interface entre deux fluides miscibles, le plus simple pour mesurer sa position y_I est de procéder à un *fit* par une fonction erreur $\mathrm{erf}(y)$. Une fois cette position connue, ainsi que celle des bords, on peut retrouver la viscosité à partir de l'équation donnée plus haut (6.5) et l'associer au taux de cisaillement caractéristique de l'écoulement $\dot{\gamma}_c$ (6.4).

Avant tout chose, dans le but de vérifier la fiabilité du dispositif, nous avons effectué des mesures sur des fluides dont les caractéristiques sont connus et pour lesquels la diffusion à l'interface est minime, à savoir des suspensions de billes de polystyrène *micromod* de 2 µm, pour des fractions volumiques allant de $\phi = 0.0197$ à $\phi = 9.7\%$. De la même manière que pour les bactéries, la densité entre les billes et le milieu environnant est égalisée par l'ajout de *Percoll* dans la solution. Les proportions sont différentes, les billes étant légèrement plus légères, et atteignent un rapport de 7 volumes de *MMA* pour 5 volumes de *Percoll*.

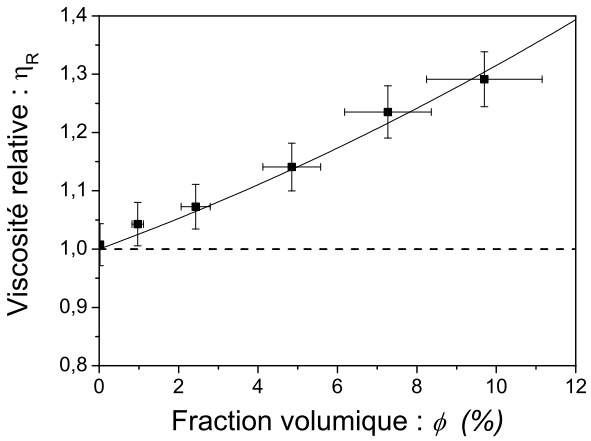


FIGURE 6.6 – Mesure de viscosité relative dans le cas de billes de 2 µm de diamètre à un taux de cisaillement caractéristique $\dot{\gamma} = 5$ Hz. La courbe pleine correspond à une loi de Batchelor (6.7).

Cette figure montre que, dans le cas de sphères dures, la mesure de la position de l'interface rend bien compte de l'augmentation de la viscosité avec la concentration en particules. De plus, il est possible de superposer sur ces points une loi de Batchelor [78] définie comme :

$$\eta_r = 1 + 2.5\frac{\phi}{100} + 6.5\left(\frac{\phi}{100}\right)^2. \tag{6.7}$$

Les points expérimentaux semblent suivre parfaitement la variation attendues dans le cas des sphères dures, ce qui atteste de la viabilité de notre système de mesure dans une gamme de rapport de viscosités relativement large pour le cas qui nous intéresse. Nous pouvons donc aborder sereinement les mesures de viscosité pour les suspensions de Escherichia Coli.

Pour vérifier que notre prise de vue ne s'effectue pas dans le régime transitoire, nous avons mesuré le rapport des largeurs d'écoulement sur une grande distance, résultats montrés ici dans le cas d'une suspension de E. Coli à une fraction volumique de $\phi = 2.3\,\%$:

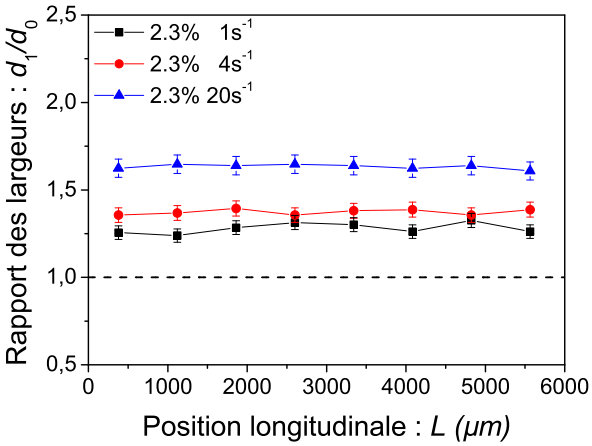


FIGURE 6.7 – Variation de la position de l'interface avec la distance à la jonction du Y.

On voit qu'il n'y a pas de variations majeures du rapport des largeurs avec la position longitudinale où la mesure est effectuée, et ce quelque soit le débit considéré. Cela confirme la robustesse de ce viscosimètre microfluidique.

Une autre grandeur qu'il est possible d'observer est la largeur de l'interface en fonction de position longitudinale. Cette grandeur a un sens physique bien plus avancé car elle traduit la diffusion des bactéries dans le sens transverse à l'écoulement et au gradient de vitesse. Pour effectuer cette mesure, nous considérons la largeur de la fonction erreur utilisée pour le fit de l'intensité, ce qui donne les résultats suivants :

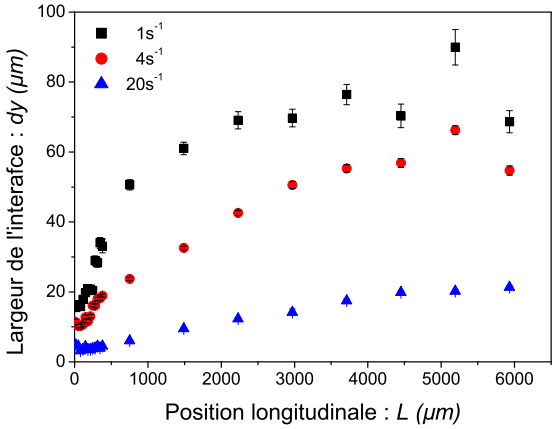


FIGURE 6.8 – Largeur de l'interface en fonction de la distance à la jonction du Y.

Comme cela est attendu, et a été observé qualitativement, la largeur de l'interface séparant les deux échantillons considérés s'élargit avec la position longitudinale dans le canal. Cette diffusion prend pour les faibles gradients de vitesse, et donc les faibles débits, des valeurs très grandes, de l'ordre de la hauteur du canal. Il semble également que la courbe tende à saturer aux alentours de 80 µm.

Cependant, cette largeur étant due à un phénomène de diffusion, une représentation en fonction du temps écoulé depuis la mise en contact des deux fluides dans le canal principal du dispositif est plus parlante. Pour cela, nous définissons ce temps comme le rapport entre la distance x où la mesure a été effectuée et la vitesse moyenne de l'écoulement V_c.

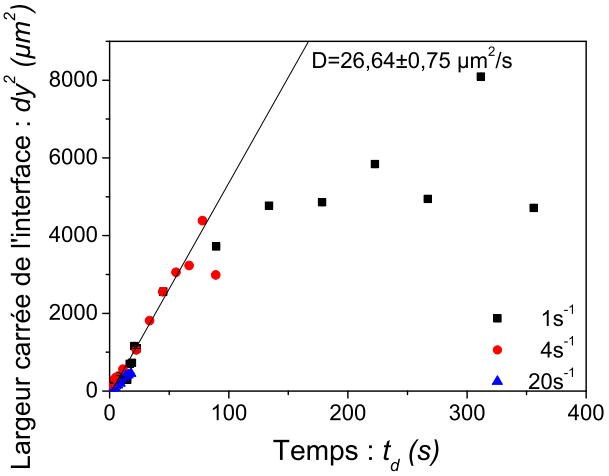


FIGURE 6.9 – Largeur carrée de l'interface en fonction du temps écoulé depuis l'arrivée des fluides dans le canal principal.

On voit sur ce graphique que les courbes pour les trois débits étudiés se recoupent très correctement. La largeur de l'interface semble donc être directement reliée au temps de mise en contact des fluides, ce qui confirme l'hypothèse selon laquelle celle-ci est due à la diffusion des E. Coli.

De plus, pour des temps inférieurs à 100 s, l'ajustement de la courbe par une droite permet de mesurer le coefficient de diffusion des bactéries à l'interface. On obtient alors une valeur pour ce coefficient de $(2.664 \pm 0.075) 10^{-11}\,\mathrm{m^2\,s^{-1}}$. Cette valeur est très différente de celle obtenue dans le cadre de la caractérisation de l'activité de E. Coli, son origine exacte reste donc obscure.

La présence d'une saturation de la largeur de l'interface est également confirmée. En effet, le changement de comportement qui se produit aux environs de $t_d = 50\,s$ se retrouve sur les données prises pour $\dot{\gamma} = 1$ et 4 Hz. La raison de cette saturation n'est pas tout à fait claire à nos yeux. L'explication la plus probable est que la largeur de l'interface devient de l'ordre des tailles caractéristiques du microcanal ce qui peut écranter la diffusion ou bien la mesure en elle-même.

Pour ces raisons, nous avons choisi la zone encadrée en rouge sur la figure 6.5, c'est à dire peu après la stabilisation de l'interface et avant un élargissement trop grand pour pouvoir effectuer une mesure correcte. De plus, un délai correspondant au temps nécessaire au le fluide pour traverser le champ de vision est pris entre l'imposition du débit et la prise de vue afin d'être sûr que l'écoulement est stabilisé dans le temps.

Au cours d'une expérience, c'est à dire pour chaque fraction volumique considérée, nous imposons des débits croissants par palier de $Q = 0.5\,\mathrm{nL\,s^{-1}}$ à $Q = 100\,\mathrm{nL\,s^{-1}}$, puis nous diminuons à nouveau le débit pour repasser par les mêmes points et vérifier l'absence d'influence de l'histoire.

Les suspensions de bactéries sont préparées à des concentrations allant de $n = 1.9\ 10^{12} L^{-1}$ à $n = 25.6\ 10^{12} L^{-1}$, soit une gamme de fraction volumique de $0.19 < \phi < 2.56\%$.

Pour s'assurer de l'importance de l'activité sur la viscosité, nous avons également fait une expérience avec des bactéries non-nageuses en modifiant le moins possible la morphologie de celles-ci.

Pour cela, de l'azoture de sodium a été ajouté à la suspension puis le tout a été placé à $T = 4°C$ pour une nuit. L'observation au microscope a confirmé que les bactéries présentes en suspension avaient cessé toute activité visible. Il faut cependant remarquer que l'arrêt de la rotation des flagelles modifie également la géométrie du faisceau de flagelles. En effet, ceux-ci se regroupent de manière cohérente lors de la nage. Celle-ci stoppée les flagelles se séparent et ce qui change la géométrie du nageur.

6.3 Résultats

6.3.1 Rhéométrie microfluidique

Dans un premier temps, intéressons nous aux données brutes issues des captures vidéos. Les images obtenues lors des prises de vues effectuées pendant les expériences, une fois moyennées temporellement pour affiner la mesure, donnent ceci dans le cas d'une fraction volumique $\phi = 0.35\,\%$ et des débits d'injection de $Q = 0.5\,\mathrm{nL\,s^{-1}}$, $Q = 2\,\mathrm{nL\,s^{-1}}$ et $Q = 10\,\mathrm{nL\,s^{-1}}$ imposé aux deux échantillons. Elles correspondent exactement à la zone choisie pour la mesure de la viscosité relative, le cadre rouge, et la ligne bleue représente une viscosité relative de 1, soit des viscosité identiques dans les deux fluides utilisés.

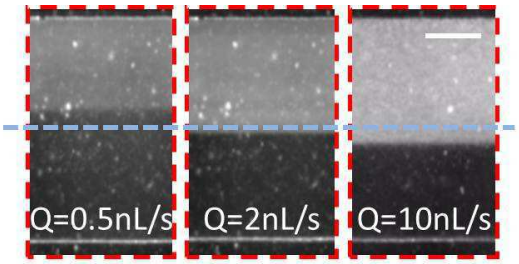


FIGURE 6.10 – Images moyennes pour une fraction volumique $\phi = 0.35\,\%$.

Ces images montrent qu'il y a bien un effet du taux de cisaillement sur le rapport des largeurs d'écoulement, et donc de la viscosité relative. Cela prouve qualitativement que la rhéologie de la suspension de bactéries est foncièrement non-newtonienne. De plus, pour $Q = 0.5\,\mathrm{nL\,s^{-1}}$ l'écoulement de suspension bactérienne est plus étroit que celui du fluide suspenseur. Dans cette gamme de paramètre, la présence des bactéries fait donc descendre la viscosité de la suspension en dessous de celle du fluide pur.

En faisant des expériences pour plusieurs débits Q et fractions volumiques ϕ et en quantifiant les observations, on obtient des résultats montrant la viscosité relative η_r en fonction du gradient de vitesse caractéristique de l'écoulement $\dot{\gamma}_c$, résultats qui constituent l'équivalent d'un rhéogramme.

La première chose qui nous intéresse est de comparer ce qu'il se passe pour une suspension active et une suspension dont les bactéries ne sont plus motiles, celles-ci ayant été *désactivées* suivant le protocole décrit plus haut dans ce chapitre. Ces mesures ont été effectuées pour une concentration $\phi = 0.8\,\%$ pour les deux suspensions. On obtient alors les courbes de la figure 6.11.

La viscosité relative de la suspension bactérienne montre un comportement fortement non-monotone qui semble aller dans le sens d'un rhéoépaississement à faible gradient de vitesse, et d'une rhéofluidification à fort gradient de vitesse. La courbe montre donc un maximum en viscosité pour un taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c \approx 20\,\mathrm{s^{-1}}$. Ce comportement particulier semble être en accord qualitatif avec les résultats de D.Saintillan [36] et explicité plus haut dans ce document 1.2.4.

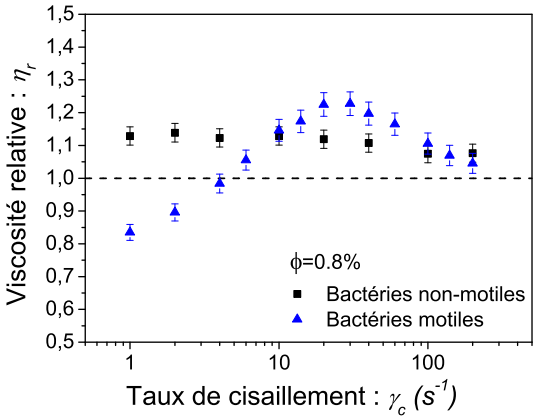


FIGURE 6.11 – Courbes de viscosité relatives dans le cas d'une suspension de bactéries actives et d'une suspension de bactéries désactivées pour une concentration identique $\phi = 0.8\,\%$.

Pour rappel, il peut être expliqué par le fait que la nage des bactéries à l'origine de ce caractère non-monotone de la viscosité admet un temps caractéristique comme étant le temps nécessaire à un nageur pour parcourir sa propre taille $t_c = U_0/l$. Pour un taux de cisaillement inférieur à l'inverse de ce temps, l'activité domine le problème. Dans le cas contraire, la caractère passif de la suspension de bâtonnets prend le pas sur l'activité des bactéries. Dans notre cas, $t_c \approx 0.1\,\mathrm{s}$, ce qui est du même ordre que le maximum de la viscosité.

Dans le cas des bactéries désactivées, le comportement rhéologique semble se rapprocher de la rhéofluidification attendue pour des suspensions passives de fibres. Cela confirme que la rhéologie particulière que nous avons mesuré dans le cas des bactéries actives est bien due à cette activité. De plus, on peut remarquer que pour les grands gradients de vitesse, les courbes de viscosité pour les deux suspensions se rejoignent, ce qui va dans le sens d'une activité qui devient négligeable dans cette gamme de taux de cisaillement.

En considérant plusieurs fractions volumiques en bactéries, il est possible de mesurer l'impact de celle-ci sur la viscosité relative de la suspension. Sur la figure suivante sont tracées les courbes de viscosité pour les fractions volumiques $\phi = 0.2$, 0.8, 2.3 et $2.5\,\%$.

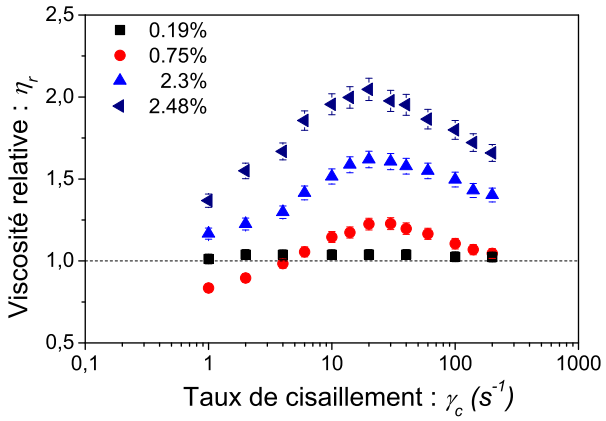


FIGURE 6.12 – Viscosité relative η_r de suspensions bactériennes en fonction du taux de cisaillements $\dot{\gamma}_c$ et pour plusieurs fraction volumique ϕ.

On remarque tout d'abord que la courbe de rhéologie pour la concentration la plus basse, $\phi = 0.19\,\%$, correspond à une viscosité de la suspension égale à celle du fluide suspenseur. Cela confirme à nouveau la qualité de la mesure faite à l'aide de ce dispositif expérimental. Toutes les autres concentrations montrent le même comportement non-monotone que celle présente sur la figure 6.11, et le maximum de la courbe se trouve toujours à un gradient de vitesse de l'ordre de $20\,\mathrm{s}^{-1}$. Celui-ci n'est donc pas dû à la concentration mais à l'activité en elle-même. En revanche, une accentuation de cet effet est visible, en plus d'un glissement de la courbe vers des viscosités plus élevées avec la concentration.

Pour étudier ceci plus précisément, on peut tracer cette même viscosité relative en fonction de la fraction volumique en bactérie et pour plusieurs gradients de vitesses différents. Afin de voir très exactement ce qu'il se passe, ces gradients de vitesses sont choisis de façon à visualiser le plateau à faible taux de cisaillement, $\dot{\gamma}_c = 1\,\mathrm{s}^{-1}$, celui au maximum de viscosité, $\dot{\gamma}_c = 2\,\mathrm{s}^{-1}$, ainsi que deux autres entre ces deux valeurs choisis de façon à avoir à la fois des points intéressants (transition) et une figure lisible, $\dot{\gamma}_c = 2\,\mathrm{s}^{-1}$ et $\dot{\gamma}_c = 4\,\mathrm{s}^{-1}$.

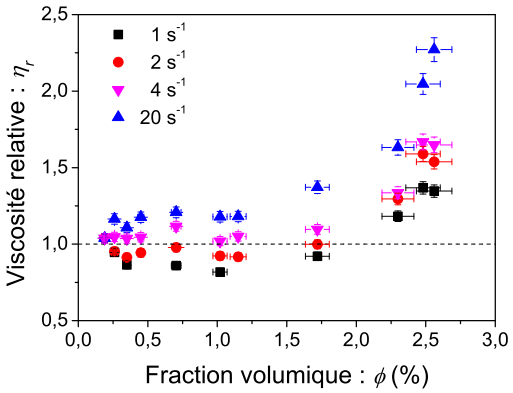


FIGURE 6.13 – Viscosité relative η_r de suspensions bactériennes en fonction de la fraction volumique ϕ et pour plusieurs taux de cisaillements $\dot{\gamma}_c$.

Pour des taux de cisaillements faibles, ici $\dot{\gamma}_c = 1$ et $2\,\mathrm{s}^{-1}$, la viscosité relative de la suspension bactérienne diminue pour des concentrations en deçà de $\phi = 1\,\%$, jusqu'à une valeur $\eta_r(1\,\%) \approx 0.8$, pour ensuite ré-augmenter pour des concentrations plus élevées. Ces résultats sont en accord avec plusieurs prédictions théoriques et numériques [35–37] ainsi qu'avec des mesures expérimentales [39] utilisant le temps de décroissance de vortex induits dans des suspensions de *Bacillus Subtilis*.

Au delà de ces mesures macroscopiques, l'un des principaux avantages de notre dispositif microfluidique est que l'on peut regarder ce qu'il se passe dans le système pendant l'écoulement. Le profil de vitesse selon la hauteur ainsi que celui de la concentration sont ainsi accessibles directement. Pour cela, un grossissement de $40X$ en contraste de phase a été utilisé, ce qui a permis, comme dans nos autres expériences, le suivi des bactéries sous écoulement cisaillant.

Pour ces mesures, la caméra rapide *Photron* a été utilisée et réglée sur des fréquences d'acquisition allant de 50 fps pour une débit $Q = 0.5$ et $1\,\mathrm{nL\,s}^{-1}$ à 500 fps pour $Q = 10\,\mathrm{nL\,s}^{-1}$. Le temps d'acquisition a lui été réglé sur $1/500\,\mathrm{s}$ quelque soit le débit. Pour visualiser l'écoulement, des billes de latex de $2\,\mu\mathrm{m}$ ont été ajoutées à la suspension.

Nous présentons ici les résultats de ces mesures dans le cas d'une suspension bactérienne de fraction volumique $\phi = 0.75\,\%$ pour laquelle la diminution de viscosité est la plus forte. Nous considérons les débits $Q = 0.5$, 1 et $10\,\mathrm{nL\,s}^{-1}$ correspondant respectivement à des gradients de

vitesse caractéristiques $\dot{\gamma}_c = 1$, 2 et $20\,\mathrm{s}^{-1}$. Les vidéos ont été prises dans une région centrée entre l'interface et le mur latéral (cadre bleu sur la figure 6.5) de manière à s'affranchir des conditions aux limites. Afin de réduire le bruit de mesure, une bactérie n'est considérée comme présente que si elle est détectée sur au moins deux images consécutives, et sa vitesse mesurée dans le plan horizontal. Il s'agit donc d'une projection de sa nage à trois dimensions.

La première mesure qu'il est donc possible de faire est celle de la concentration locale en bactéries en fonction de la hauteur dans le canal. Cette mesure est importante car notre mesure se base sur le fait que la concentration est constante partout dans l'écoulement, le cas contraire rendant nos mesures caduques. Les mesures présentées plus haut dans ce document semble aller dans le sens de notre hypothèse de travail, cependant la géométrie du dispositif est différente car l'une des "parois" de l'écoulement de la suspension bactérienne est une interface miscible et mobile. Il faut donc le vérifier dans le cas de ce système microfluidique.

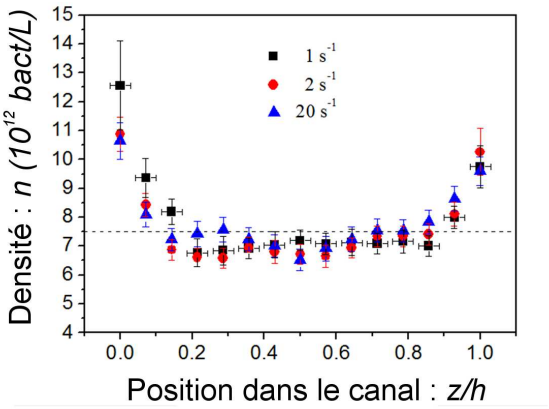


FIGURE 6.14 – Densité en bactéries dans le cas d'une fraction volumique attendue de 0.75 % selon la hauteur dans le canal z et pour différents taux de cisaillement $\dot{\gamma}_c$

On voit que nos profils de concentration sont donc bien similaires à ceux que nous avons obtenus plus haut dans ce document. Notre hypothèse de départ est donc bien validée. Pour les mêmes raisons que pour la concentration, il nous faut confirmer que le profil de vitesse reste de type parabolique malgré la présence de deux écoulements parallèle.

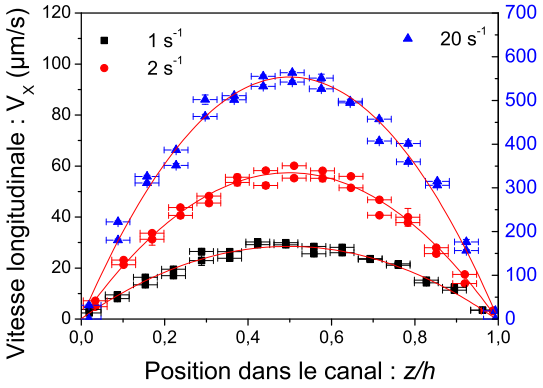


FIGURE 6.15 – Profils de vitesse de traceurs passifs dans l'écoulement pour une concentration de $\phi = 0.75\,\%$ et des taux de cisaillement de $\dot{\gamma}_c = 1$, 2, et 20 Hz.

De la même manière, on voit que même dans le cas des extrema de la viscosité, à savoir $\dot{\gamma}_c = 1$ et $20\,\mathrm{s}^{-1}$, le profil reste très proche du profil de vitesse attendu dans le cas d'un écoulement rec-

tangulaire pour un canal du rapport d'aspect correspondant à l'écoulement bactérien dans lequel il est mesuré.

Pour s'en convaincre, il est possible de regarder théoriquement la forme de l'écoulement attendu dans le cas d'un fluide dont la rhéologie correspond à celle des suspensions de bactéries mesurée précédemment. Il est possible d'extraire des courbes rhéologiques les coefficients caractéristique de rheoépaississement pour des gradients de vitesse $\dot{\gamma}_c$ compris entre 2 et $10\,\mathrm{s}^{-1}$ et de rheofluidification pour des $\dot{\gamma}_c$ compris entre 20 et $100\,\mathrm{s}^{-1}$ en ajustant ces partie de la courbe par la loi de Ostwald-de Waele [79] qui dans notre cas peut s'écrire $\eta_r \propto \dot{\gamma}_c^{n-1}$ où n est le coefficient rhéologique recherché.

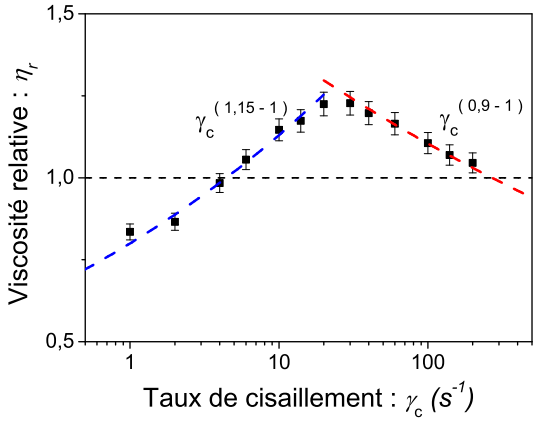


FIGURE 6.16 – Viscosité relative η_r de suspensions bactériennes en fonction du taux de cisaillements $\dot{\gamma}_c$ et pour une fraction volumique $\phi = 0.8\,\%$ ainsi que les ajustements à faibles et fort cisaillement selon la loi de Ostwald-de Waele.

Par cet ajustement, on obtient des coefficients n valant 1.15 pour les faibles $\dot{\gamma}_c$ et 0.9 pour les forts $\dot{\gamma}_c$. Il est alors possible d'introduire ces paramètres rhéologiques dans les équations d'un écoulement de Poiseuille, ce qui nous permet de comparer les écoulements correspondant avec le cas newtonien, et ainsi vérifier notre hypothèse de départ.

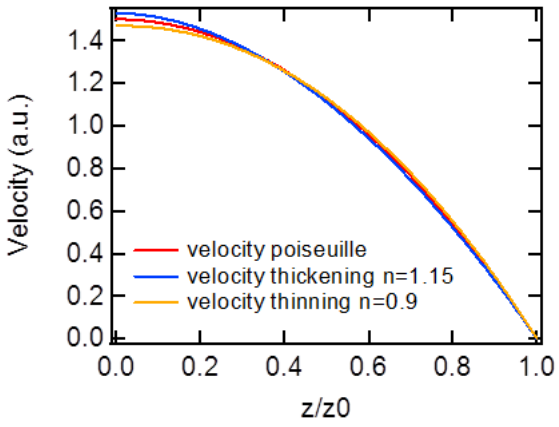


FIGURE 6.17 – Profils de vitesse de l'écoulement calculer pour le cas newtonien (rouge), le cas rhéo-épaississant, c'est à dire dans le cas des suspensions bactériennes pour de faibles gradients de vitesse (bleu), et le cas rhéo-fluidifiant, donc pour de forts gradients de vitesse (vert).

Sur cette représentation, il est visible que lorsque l'on compare le profil parabolique et ce-

lui mesuré pour $n = 1.15$ comme dans le cas d'une suspension bactérienne soumise à un taux de cisaillement faible, tout comme avec celui mesuré pour une viscosité variant en $n = 0.9$, soit l'équivalant d'une suspension soumise à un taux de cisaillement élevé, la différence entre ces profils est faible, de l'ordre de 5 %, ce qui est similaire à l'erreur sur la viscosité relative et sur les vitesses que nous avons mesurées.

Les hypothèses que nous avons faites lors de la conception de l'expérience sont donc valides, ce qui solidifie les résultats que nous avons obtenus pour la viscosité des suspensions de E. Coli, et en particulier leur rhéologie non-newtonienne.

6.3.2 Rhéométrie *Low Shear*

En parallèle des expériences dans des canaux microfluidiques, nous avons aidé à démarrer une étude plus classique de la rhéologie des suspension de E. Coli au sein du laboratoire FAST situé à l'Université Paris-Sud. Cette collaboration avec H.Auradou ainsi que le doctorant qu'il encadre, M.Lopez, a permis d'effectuer des mesures au moyen d'un rhéomètre ultra-sensible, un *Low Shear* conçu par *Contraves* utilisant un géométrie de Couette. Il nous a permis de descendre à des taux de cisaillement extrêmement bas, $\dot{\gamma} = 0.012\,\mathrm{Hz}$. Souffrant du même défaut que ses équivalents classiques, ce rhéomètre empêche grandement l'apport d'oxygène dans le milieu. Pour palier à ce problèmes, de la L-Sérine est ajoutée à hauteur de $250mM$ dans la solution minimale.

Des expériences ont ainsi été effectuées à différentes températures et à différentes concentrations, ce qui a permis d'explorer plus en profondeur la rhéologie de cette suspension active.

Ces résultats confirment ceux obtenus dans le cadre des expériences microfluidiques précédentes. De plus, les effets de diminution de la viscosité semblent beaucoup plus impressionnants dans cette géométrie de Couette que ceux observés dans le cas d'un écoulement de Poiseuille. Cela peut provenir du fait que le taux de cisaillement est constant dans ce système, contrairement à ce que l'on obtient dans un microcanal. De plus, il semble que dans certaines conditions d'oxygénation, la viscosité puisse atteindre des valeurs nulles, ce qui signifie que les bactéries fournissent suffisamment d'énergie pour équilibrer la contrainte imposée par le rhéomètre [80].

6.4 Conclusion

En utilisant un système microfludique, nous avons mesuré expérimentalement, et pour la première fois, la viscosité relative de suspensions actives de Escherichia Coli en fonction du gradient de vitesse imposé sur une gamme très large ($1 - 200\,\mathrm{Hz}$) dans les régimes dilués et semi-dilués. Par ce biais, nous avons confirmé une importante prédiction pour la rhéologie de micro-organismes de type *pushers*, à savoir qu'à faible taux de cisaillement la viscosité de la suspension active peut descendre au-dessous de la viscosité du fluide seul [34–36].

Dans ces deux régimes de concentrations, nous avons observé un double comportement rhéologique. À faible gradient de vitesse, la suspension est rhéo-épaississante tandis que pour des valeurs plus grandes, elle devient rhéo-fluidifiante. Cela induit la présence d'un maximum en viscosité qui se place à un gradient de vitesse de l'ordre de l'inverse du temps nécessaire à une bactérie pour se déplacer sur sa propre longueur et ce quelque soit la concentration considérée. Toutes ces observations sont en accord avec les travaux théoriques menés par D.Saintillan [36] dans le cas d'un cisaillement simple d'une suspension d'ellipsoïdes élancés et en régime dilué.

Dans le régime semi-dilué, qui semble dans notre cas commencer aux alentours de $\phi = 1\,\%$), nous observons une très forte augmentation de la viscosité cohérente avec les travaux numériques de Ryan *et al.* [37].

Ces résultats représentent la première preuve expérimentale de la rhéologie non-Newtonienne d'une suspension de *pushers* dans des condition de gradient de vitesse contrôlé et ont été étayés par des expériences menées conjointement avec un autre laboratoire dans des conditions de rhéométrie plus classiques.

Conclusion

Dans ce document, et plus largement lors de mon doctorat, notre but était de comprendre le comportement des suspensions de particules actives lorsque celles-ci sont soumises à un cisaillement imposé de l'extérieur. Pour cela, nous avons étudié un fluide bactérien modèle composé de bactéries *Escherichia Coli*.

Ces nageurs autonomes étant de nature biologique, il nous a fallu caractériser les paramètres principaux de leur nage individuelle dans les conditions de nos expériences. Grâce à cela, nous avons pu voir que l'environnement chimique, et plus précisément la présence d'oxygène et de L-Serine, a un impact très fort sur le comportement de E. Coli dans le temps. Nous avons ainsi confirmé que les résultats de C.Douarche [12] sont valables pour la souche que nous utilisons. Entre autre, nous savons désormais que cette souche peut rester active dans un milieu non-oxygéné à la condition de le saturer en L-Serine, ce qui nous a servi dans le cadre des expériences conjointes que nous avons effectué avec l'équipe de H.Auradou.

Une fois leur comportement individuel compris, nous avons étudié la dynamique collective de ces suspensions suivant la fraction volumique en bactéries au moyen des corrélations de vitesse et d'orientation, ainsi que de l'observation de la formation de clusters de nageurs. Cela nous a permis de voir que le caractère collectif de la nage augmente avec la concentration, comme cela a été prédit par plusieurs équipes [26, 29]. Cependant, nous avons observé une variation quasi-linéaire sans valeur critique visible tel que ces études numériques l'avaient prévu, ainsi qu'une forte dépendance selon la présence d'oxygène. De plus, nous avons pu voir que la taille des clusters semble suivre une loi de probabilité exponentielle qui semble montrer l'existence d'une taille maximale quelque soit la concentration, ce qui pourrait être lié à la portée des interactions nageur-nageur.

Après avoir caractérisé les comportements individuels et collectifs pour notre souche de bactéries, nous nous sommes intéressés à l'impact d'un cisaillement sur le déplacement d'un nageur. Devant les difficultés d'une observation expérimentale, nous avons choisi de faire cette étude numériquement, et nous nous sommes concentrés sur l'aspect cinématique du problème. En collaboration avec R.Soto de l'université du Chili, nous avons mesuré le temps caractéristique durant lequel un nageur demeure dans un écoulement cylindrique en fonction du cisaillement imposé, ainsi que la distance qu'il a parcouru. Par ce biais, nous avons vu que l'écoulement, et le cisaillement lié à celui-ci, jouent un rôle dans la diffusion transverse des nageurs à partir d'une valeur seuil de la vitesse de l'écoulement $V_{0,c} = {}^{R}/_{t_{\text{run}}}$. En dessous de ce seuil, le temps de *survie* dans l'écoulement est gouverné par la seule activité du nageur. Nous avons également pu lier ce changement de comportement à deux valeurs mesurables expérimentalement, une distance longitudinale caractéristique de déplacement avant le contact avec la paroi, ainsi que la dispersion de Taylor dans laquelle intervient la diffusion transverse des nageurs.

Nous avons également effectué une série d'expériences afin d'observer les changements que

produit le cisaillement sur les comportements collectifs des suspensions de E. Coli par rapport au cas sans écoulement. Nous avons ainsi remarqué que ce cisaillement provoquait à la fois un effet global que nous avons mesuré sur les paramètres généraux de la nage, à savoir les vitesses projetées dans le plan et sur les deux axes accessibles expérimentalement ainsi que sur les temps de résidence et les distances 2D parcourues durant leur présence. Cela nous a montré qu'il existait un effet de type rhéotactique local, c'est à dire un mouvement orthogonal à l'écoulement ainsi qu'à la direction du gradient de vitesse, quelque soit le débit considéré. Ce résultat est partiellement en contradiction avec les travaux de l'équipe de R.Stocker [57] car il va en sens opposé à celui qu'ils ont prédit. De plus, nos résultats montrent une dépendance avec la concentration en bactéries que leur modèle dilué n'a pas pu capturer. Nous avons également mis au jour des effets de persistance dans le plan dus à une modification de l'orientation et de la vitesse de nage qui semblent s'étendre à tout l'écoulement, y compris les parties où le taux de cisaillement est nul. De la même manière, nous avons montré que les corrélations de vitesse, et donc les mouvements collectifs dans l'écoulement, dépendent grandement du gradient de vitesse caractéristique imposé y compris là où il est très faible. Cela montre qu'il existe une transmission de l'information du cisaillement par les nageurs à travers les mouvements collectifs, phénomène qui provoque un effet global de l'écoulement sur la suspension. De plus, toutes les grandeurs observées présentent un extrémum pour un taux de cisaillement caractéristique $\dot{\gamma}_c \approx 2\,\mathrm{s}^{-1}$, ce qui montre la robustesse de l'ensemble des mesures effectuées. L'origine de ces effets, qui ressemblent à un phénomène de type résonnant, n'est pas encore complètement compris dans le sens où nous ne sommes pas en mesure de déterminer s'il est du aux effets de Jeffery, aux interactions hydrodynamiques, ou encore à une combinaison non triviale des deux.

Au delà de ces effets mésoscopiques, nous nous sommes intéressés aux conséquences qu'ils pourraient avoir à un niveau macroscopique. Pour cela, nous avons mesuré la viscosité de ces suspensions de E. Coli au moyen d'un dispositif microfluidique [75–77]. Cela nous a permis de voir que leur rhéologie est purement non-newtonienne et montre une valeur critique en gradient de vitesse. En effet, la viscosité de ces suspensions atteignent à très faible gradient de vitesse une valeur plateau. Or il ressort de nos expériences que la viscosité devient dépendante du taux de cisaillement à partir du moment où le gradient de vitesse imposé $\dot{\gamma}_c$ dépasse une valeur d'environ $2\,\mathrm{s}^{-1}$, valeur indépendante de la fraction volumique ϕ, suite à quoi elle rejoint la courbe de viscosité attendue pour des particules passives, ce en quoi ces résultats rejoignent d'autres études numériques ainsi que des expériences utilisant des bactéries différentes [25,36].

Chacun de ces résultats montre que le cisaillement implique dans les suspensions de bactéries des comportements tels qu'une modification des mouvements collectifs et de la dynamique de nage des bactéries, ainsi que de la rhéologie des suspensions. Mais en plus de cela, lorsque l'on met ces résultats en parallèles les uns avec les autres, il semble se dégager une certaine corrélation de plusieurs des effets observés.

Tout d'abord, les modèles antérieurs concernant la rhéologie des suspensions actives correspondent qualitativement à nos résultats et prennent tous en compte l'apparition d'un ordre global dû au cisaillement, ordre que nous avons observé numériquement dans nos travaux. Ce lien ayant été mis en évidence par des modèles et numériquement, cela nous ouvre la porte pour faire nous même ce lien à partir de nos résultats expérimentaux. Ainsi, lorsque l'on regarde le comportement microscopique des bactéries sous cisaillement et les résultats obtenus lors de notre étude de la viscosité des suspensions de E. Coli, on remarque que le taux de cisaillement caractéristique pour

lequel apparait le maximum des corrélations spatiales et temporelles et celui pour lequel η_r semble quitter le plateau de basse viscosité sont très similaire.

De même, lors de notre étude numérique, nous avons observé que le temps caractéristique de *survie* d'un nageur dans un écoulement cylindrique présente un changement de comportement pour une valeur précise de la vitesse d'écoulement. Si on dimensionne les résultats pour correspondre à une situation expérimentale équivalente à celles de nos expériences, on remarque que le taux de cisaillement caractéristique qui décrit ce changement de comportement est $\dot{\gamma}_c \approx 3\,\mathrm{s}^{-1}$. Cette valeur du même ordre que celles obtenues pour la rhéologie et les comportements collectifs sous écoulement, bien que la situation considérée soit différente.

Tout ces éléments étant cohérents entre-eux et se consolidant les uns les autres, ils nous amènent à considérer le fait qu'il existe un lien de cause à effet entre l'organisation des nageurs aux échelles microscopiques sous cisaillement et la rhéologie des suspensions qu'ils composent.

Cependant, l'ordre microscopique global créé par le cisaillement n'a été observé expérimentalement que de façon très indirecte. Il serait donc intéressant, afin d'étayer de façon encore plus solide ce lien entre évènements micro et macroscopiques, de faire une mesure qui confirmerait définitivement la présence d'une direction privilégiée. Pour cela, une méthode serait de se baser sur les résultats théoriques et numériques présentés dans le chapitre 4 et de faire des expériences afin de confirmer les prédictions de notre modèle sur la distance parcourue par les nageurs avant leur premier contact avec la paroi, et le cas échéant d'en définir les facteurs numériques dans le cas de la souche que nous utilisons.

Au sein de notre équipe a également été conçu un système couplant un microscope, une caméra à haute sensibilité, ainsi qu'une platine motorisée. Tout ces éléments sont reliés entre-eux au moyen d'un programme informatique développé par T.Darnige. Ce dispositif permet de suivre dans les trois dimensions de l'espace et en direct un objet sélectionné par l'utilisateur. Couplé à l'utilisation de E. Coli fluorescentes, cela ouvre un nouveau champ d'investigation afin de comprendre le comportement individuel des nageurs près des parois, ou sous écoulement. Ce système remplace donc la statistique sur de nombreux individus par une statistique temporelle sur quelques individus.

De même, afin de mieux comprendre les résultats obtenus pour le comportement collectifs de E. Coli sous cisaillement, il pourrait être intéressant d'étudier ce problème de manière numérique en se basant par exemple sur les travaux de D.Saintillan [26], travaux qui s'approchent beaucoup de nos résultats, en imposant un champ de vitesse extérieur au système et ainsi observer l'influence de celui-ci selon que l'on considère les aspects cinétiques ou hydrodynamiques du problème.

Annexes

Protocoles biologiques

Culture bactérienne

La souche de Escherichia Coli que nous utilisons au laboratoire, libellée *ATCC9637*, a été achetée auprès de la société *XXXX* puis séparée dans plusieurs tubes selon un processus nommé aliquotage. Pour cela, une culture a été lancée en ajoutant 10 µL à un volume de 15 mL de *LB*, ou Luria Broth, un milieu riche en nutriments qui permet aux bactéries de se diviser sans contraintes environnementales lorsqu'elles sont placées à une température de 25°C et placés sur un agitateur qui garantit l'homogénéité de la concentration en oxygène de la solution. Le *LB* est acheté préparé à la société *Sigma-Aldrich* en bouteilles de 500 mL et divisés en aliquots de 15 mL et placés dans des tubes à fond conique stériles. Après une nuit complète, du glycérol est ajouté à la suspension à hauteur de 30 %. Le volume est alors divisé en tubes de 1.5 mL qui sont placés dans un congélateur à −80°C situé dans le laboratoire XXXX de l'ESPCI qui a accepté de loger nos souches. Dans ces conditions, la multiplication des E. Coli est enrayée et leur patrimoine génétique est ainsi préservé. Cela nous assure la capacité de revenir à tout moment à la souche initiale. Le glycérol ajouté en solution diminue le risque d'éclatement des bactéries dû à la formation de glace à ces températures.

À partir de ce stock sont prélevés régulièrement, tout les trois mois environ, des échantillons mis ensuite en culture suivant le même protocole. Le lendemain, du glycérol est ajouté à hauteur de 20 % à la suspension qui est divisée en tubes de 1.5 mL qui sont ensuite amenés dans notre laboratoire est placés dans dans un congélateur à −20°C. Cette température est suffisante pour ralentir considérablement la division cellulaire mais les échantillons placés ici doivent être renouvelés régulièrement pour garantir la constance des E. Coli. Le caractère reproductible des expériences effectuées à partir de ces souches dépend entièrement de la rigueur apporté à ces protocoles.

Lors de toutes ces opérations, la stérilité est garantie en se plaçant sous une hotte à flux laminaire verticale qui filtre l'air entrant et expulse l'air situé dans la zone de travail. Elle protège donc les échantillons présents dans cette zone de la poussière et autres éléments étrangers.

Lorsqu'une expérience est prévue pour le lendemain, une culture est mise en route environ 21 h avant l'heure à laquelle celle-ci doit débuter. Pour cela, 10 µL de suspension conservée à −20°C sont prélevés de façon à éviter une décongélation/recongélation de l'échantillon et ajoutés à un volume de 15 mL de *LB* préparés à l'avance et placés sur un agitateur orbital dans une armoire thermostatique réglée à 25°C. Le bouchon est laissé entrouvert afin que l'oxygène puisse entrer dans le tube. Dans cette situation, la culture bactérienne est prête à être utilisée environ 20 h après la mise en culture. Lors de cette étape et des suivantes, la stérilité est assurée par l'utilisation d'un bec Bunsen. En effet, lorsqu'il est allumé, la flamme produite crée une zone stérile autour d'elle par un simple effet thermique. L'ouverture de tout les flacons utilisés doivent donc se trouver très

près de cette flamme, quelques centimètres, et être *passées à la flamme* avant d'être refermés, c'est à dire placés au cœur de celle-ci quelques secondes pour que les éléments étrangers pouvant s'être posés dessus soit brulés sans que le plastique ne fonde. Il en est de même pour les bouchons.

À la fin du temps de culture, un petit volume de suspension est prélevé du tube et observé au microscope afin de déterminé l'état des bactéries. La culture est considérée comme viable pour l'expérience lorsqu'elle remplit plusieurs critère qualitatifs. Ainsi, il faut que la concentration en bactéries soit suffisante, que celles-ci nagent rapidement et aient tendance à aller en ligne droite pendant des temps de l'ordre de la seconde, et qu'elles aient terminé leur cycle de division, c'est à dire que les cellules soient uniques. Le but est qu'une majorité écrasante des bactéries respectent ces conditions. Cet état que nous recherchons chez les E. Coli a pris, dans notre laboratoire, le nom de *baby runner*.

Préparation de la suspension finale

Dans nos expériences, nous souhaitons contrôler de manière efficace la concentration en bactérie car il s'agit de l'un de nos paramètres de contrôle, si ce n'est le plus important. Pour cela, le LB est un mauvais milieu car il autorise les E. Colià se multiplier. Pour avoir éviter ça et conserver un même nombre de bactérie dans le temps, il faut retirer de la solution qui les porte les nutriment nécessaires à la division cellulaire. Pour cela, nous utilisons le Minimal Media A, ou MMA, qui ne se compose que du minimum pour permettre la nage des bactérie. On y trouve :

- de l'eau bi-distillée stérile,
- 20 mM de hydrogénophosphate de potassium (K2HPO4) et de dihydrogénophosphate de sodium (NaH2PO4) qui constituent la solution tampon à pH 7,
- 0.25 mM d'EDTA, acide éthylène diamine tetra-acétique, qui agit sur le calcium, ce qui empêche la pousse de poils sur la bactérie et donc diminue son adhésivité,
- 0.48 % de lactate de sodium est la nourriture des bactéries, le fait qu'il soit difficile à assimiler ralenti la multiplication des E.Coli,
- et 68 mM de K-acétate, Acétate de potassium, qui permet de faciliter la nage des bactéries.

Dans cette solution, et si elle est alimentée en oxygène, les bactéries restent vivantes et actives pendant plusieurs heures. Cependant, leur processus de division est suffisamment ralenti pour que la concentration en E. Coli puisse être considérée comme constante sur une journée.

Grâce à ce milieu, la concentration est bien contrôlée temporellement. Cependant, les bactéries sont légèrement plus denses que le milieu, ce qui crée un gradient spatial en E. Colidans la suspension. Afin de l'éviter, nous modifions le milieu de manière à atteindre une densité très proche à celle des bactéries. Pour cela, nous utilisons du *Percoll* qui a l'avantage non-négligeable de ne pas pouvoir être consommé par les bactéries. En effet, une première idée a été d'utiliser de glycérol, cependant, les E. Coli étant capables de l'assimiler, la densité n'aurait pas été constante et les bactéries auraient pu se diviser.

Une simple expérience de sédimentation effectuée sur une nuit complète a montrée que les proportions idéales sont 1 volume de MMA pour 1 volume de Percoll.

Un autre problème qui peut subvenir à hautes fractions volumiques en bactéries est la formation de *cluster* statiques, c'est-à-dire de groupes de bactéries collées les unes aux autres. Pour éviter cela, du PVP, ou *poly-vinyl-pyrolidone*, de 40000 Dalton, c'est-à-dire d'une longueur de 40000

carbones, est ajouté à la solution à hauteur de 0.005 %. Il permet de réduire les interactions de contact entre les nageurs et avec les parois en recouvrant partiellement leurs surfaces. Ce dernier ingrédient doit être introduit au dernier moment car il a la fâcheuse tendance à se coller à toutes parois, y compris celles du récipient où il se trouve, surtout si il s'agit de plastique.

Pour faciliter son utilisation, ce produit est dilué à une concentration 1000 fois supérieure à celle requise dans de l'éthanol pur et placé dans un flacon en verre lui-même mis dans un congélateur à -20°C.

Une fois le milieu final prêt, il faut faire passer les bactéries depuis le *LB* au *MMA-Percoll* en respectant la fraction volumique finale souhaitée, le but étant de laver les bactéries, c'est-à-dire retirer toute trace de nutriment de leur environnement. Pour cela, nous procédons par étapes.

La première consiste à diluer 5 mL de suspension en *LB* dans 30 mL de *PBS*. Il s'agit d'une solution tamponnée à pH7 contenant des sels pour éviter les chocs osmotiques. Cela permet de diminuer grandement la quantité des composés chimiques que nous souhaitons retirer.

Dans cette situation, nous mesurons la concentration en bactéries présentent en suspension. Pour cela, nous utilisons un spectro-photomètre réglé sur une longueur d'onde de 595 nm. Cet appareil mesure l'absorption de la lumière par la suspension en comparant l'intensité en sortie à de l'eau dé-ionisée. Cette mesure donne la densité optique, ou *OD*, de la suspension. Cela correspond à la formule $OD = \frac{I_0 - I}{I_0}$ avec I l'intensité mesurée pour l'échantillon et I_0 celle mesurée pour l'eau. Une courbe d'étalonnage permet de faire le lien entre la densité optique et la fraction volumique en bactéries de la suspension mesurée.

Une fois la concentration initiale en bactéries, celle voulue ainsi que le volume final, une simple règle de trois permet de connaitre le volume de suspension initiale nécessaire. La méthode la plus sûre est alors de concentrer la suspension. Pour cela, nous utilisons une centrifugeuse.

Le principe est de placer la suspension initiale avec le volume déterminé précédemment dans l'appareil réglé de façon à faire subir à l'échantillon 5 min de centrifugation à 5000 tours par minutes, soit 2370 g environ. À la fin de cette étape, la suspension est séparée en deux pseudo-phases, un culot de bactérie au fond et du liquide surnageant au dessus. Le but est alors de retirer tout le fluide sans briser le culot, c'est-à-dire sans perdre de bactéries. Pour cela, le plus efficace est d'utiliser plusieurs pipettes et micro-pipettes dont les volumes décroissent au fur et à mesure que le fluide est retiré. Une fois cette étape terminée, il suffit d'ajouter au culot le volume final voulu de *MMA-Percoll*, volume auquel aura été retiré la contribution des bactéries.

Afin de resuspendre les bactéries, il est possible de remuer le tube sans l'agiter. En effet, tout au long la préparation, il faut prendre garde à ne pas agir violemment avec la suspension au risque de briser les flagelles des bactéries, et donc de réduire drastiquement leur activité.

La suspension est alors prête à être utilisée.

Le crime parfait : Méthode pour tuer des E-Coli

Tuer des bactéries n'est pas très compliqué. Le moyen le plus connu et utilisé en France est l'eau de Javel. Elle reste la plus efficace, cependant, cette technique, ainsi que de nombreuses autres, consiste à fragiliser l'enveloppe des bactéries jusqu'à la briser. Hors, ce que nous souhaitons c'est empêcher de manière sûre et définitive les E. Coli de se mouvoir, tout en conservant leurs propriétés géométriques.

Une autre méthode, principalement utilisée en micro-biologie, consiste à faire en sorte de tuer et figer les bactéries en même temps. Pour cela, on utilise un autre antiseptique très connu : l'éthanol. Cette technique a l'avantage de conserver la structure des bactéries, cependant, elle a tendance à les rendre extrêmement collantes, ce qui provoque la formation de blocs compacts et définitif de bactéries et à coller les flagelles le long des corps. Cette méthode n'est donc pas suffisamment bonne pour nos mesures.

Le produit que nous utilisons pour rendre les bactéries inactives est l'azoture de sodium (NaN3). Il s'agit d'une molécule qui a la propriété de bloquer l'assimilation de l'oxygène par les êtres vivants. Si les bactéries sont empêchées de se dupliquer, cela arrête leur mécanisme interne et les rends inactive, leurs moteurs nécessitant de l'oxygène, ou un substitut. Un point très important à prendre en compte est que la toxicité de cette substance est la même pour l'être humain. Ainsi, toute cellule en contact avec ce produit sera dans l'incapacité d'assimiler l'oxygène et mourra. En cas d'inhalation, cela peut entrainer des détresses respiratoires, voire le décès dans les cas les plus graves, la DL_{50} étant de 20 mg par kg pour le lapin. Il doit donc être manipulé avec précaution sous une sorbonne, l'expérimentateur portant blouse, gants et masque.

Cette méthode a l'intérêt d'agir à l'intérieur de la bactérie, et donc de ne pas modifier directement la géométrie de celle-ci. Cependant, ayant arrêté les moteur, les flagelles ne sont plus en faisceau, celui-ci étant « éclaté ». Cependant elle reste, à notre connaissance, celle qui modifie le moins cette géométrie.

Le protocole que nous utilisons consiste préparer une suspension de E. Coli classique à la seule différence que la solution de *MMA-Percoll* se voit suppléée avec 2 mM d'azoture de sodium, soit 130 mg/L. La suspension est alors laissée au réfrigérateur (1°C) pour une nuit afin de saturer les bactéries en azoture.

Le lendemain, il suffit de vérifier que les bactéries restent immobiles, dans leur grande majorité tout au moins, après avoir passé 1 heure à température ambiante. Elles sont alors prêtes à être utilisée.

Doper des Escherichia Coli

À l'inverse, nous pouvons avoir besoin de garder des bactéries actives dans des conditions qui, habituellement, entrainent un arrêt de leur système moteur, et plus exactement en l'absence d'oxygène.

En effet, il est parfois impossible de garantir un apport constant de la suspension en oxygène. Il est alors nécessaire de fournir aux bactéries une substance qui remplacera la molécule d'oxygène dans les réactions chimiques de la bactérie.

Nous nous sommes tournés vers la L-Sérine (C3H7NO3), un acide aminé produit industriellement par fermentation. Il a la particularité de pouvoir remplacer l'oxygène à l'intérieur de E. Coli, mais également de tromper les capteurs externes et ainsi faire croire à la bactérie que l'environnement est largement pourvu en oxygène.

Afin de simuler un milieu bien alimenté en oxygène, nous utilisons ce produit en très grande quantité dans le milieu minimal modifié, typiquement 250 mM. Ainsi la consommation des bactéries est suffisamment faible, pour des fractions volumiques raisonnables tout du moins, pour que la L-Sérine reste en solution pendant un certains temps. Une étude plus approfondie de ces questions

est présentée au chapitre 2.

Protocoles microfluidiques

Il existe plusieurs types de micro-canaux. Dans notre cas, il s'agit de canaux en PDMS, ou polydiméthylsiloxane (un silicone réticulé), conçus à l'aide de moules fabriqués par lithographie douce et collés à une lame de verre, elle aussi couverte de PDMS.

Leur construction demande de suivre un protocole très strict que je vais résumer ici.

Le *wafer*

La première étape est de concevoir la forme que nous souhaitons donner au canal microfluidique final. Pour cela, nous utilisons des logiciels de CAO tel *AutoCad* ou *Catia*. La taille du canal est limitée par celle du moule final qui est standardisé à 10 cm.

Une fois les canaux dessinés, en ayant pris soin de respecter les cotes, ou tout du moins de préciser l'échelle, le fichier est envoyé à une société spécialisée, *Selba*, dans l'impression de masques sur feuilles transparentes. La précision finale du trait atteint le micron dans le cas d'une impression à 50800 dpi.

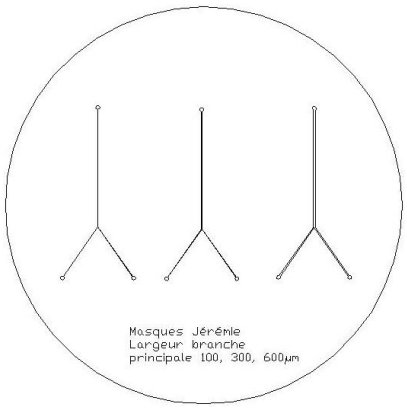


FIGURE 6.18 – Exemple de dessin CAO. Cas de canaux pour viscosimétrie de 100, 300 et 600 µm de large

Une fois le masque reçu commence la conception du moule proprement dite. Celle-ci consiste à couler une résine photo-sensible sur une plaque de silicium, le *wafer*, puis à exposer aux UV les zones de la résine que nous souhaitons voire durcir et former le moule final.

Pour cela, de la résine *SU-8* de *Microchem* est déposée sur le wafer. Pour l'étaler uniformément sur la plaque, celle-ci est placée sur une *spin-coateuse*. Cette machine consiste en une plaque circulaire, le *chuck*, percée d'une trou par lequel le wafer est aspirer afin de le maintenir en place. Le tout subit alors une rotation rapide dont la vitesse et la durée déterminent l'épaisseur finale de la couche de résine. Un point important lors de cette étape est que sur le pourtour du wafer, et sur environ 1 cm, se forme un bourrelet de résine. Il faut donc éviter d'utiliser cette zone pour les canaux.

La résine *SU-8* existe en différentes sortes dont la viscosité change. Cela permet de définir plus facilement l'épaisseur finale, plus celle-ci étant grande, plus la viscosité de la résine devant être élevée. Ainsi, pour des canaux de 100 µm de hauteur, nous utilisons de la résine *SU-8 2100* et faisons tourner la plaque à 2500 rpm durant 30 secondes, après avoir respecté un palier à 500 rpm pendant 10 secondes.

L'étape suivante est de retirer un maximum d'eau de la résine. Pour cela, le wafer est successivement placé 5 min sur une plaque chauffante à 65°C, puis 20 min sur une plaque à 95°C. Il est ensuite laissé à refroidir 5 min à température ambiante. Ces temps de « cuisson » dépendent de l'épaisseur de résine présente sur le wafer.

Une fois refroidie, le wafer est placer dans l'insoleuse. Cet appareil va exposer la résine à des ultraviolets pour la faire réagir, et durcir. Pour cela, le masque est placé entre la source d'UV et le wafer, et le plus près possible de ce dernier, et ce afin de limiter au maximum les effets de diffusion lumineuse qui modifieraient la forme finale. Pour cela, l'insoleuse est équipée d'un système permettant de déterminer très précisément la distance entre le masque et la résine, et l'écart est fixé à quelques dizaines de microns. La résine est alors exposée aux UV pendant 24 s par une source lumineuse de 240 mW cm^{-2}. Le temps d'exposition dépend lui aussi de l'épaisseur, toute la résine devant être exposée.

Une nouvelle étape de cuisson est alors effectuée, 5 min sur une plaque chauffante à 65°C, puis 10 min sur une plaque à 95°C.

Pour finir, le wafer est placé dans un bain de *SU-8 Developer*, un produit qui dissout la résine non-exposée. Le tout est agité 10 min. À la fin de ce temps, il est possible de passer de l'isopropanol sur le wafer pour vérifier le bon déroulement de développement, la résine non exposée réagissant avec ce produit en formant des traces blanches. Si ce n'est pas le cas, il suffit de remettre le wafer dans le développeur.

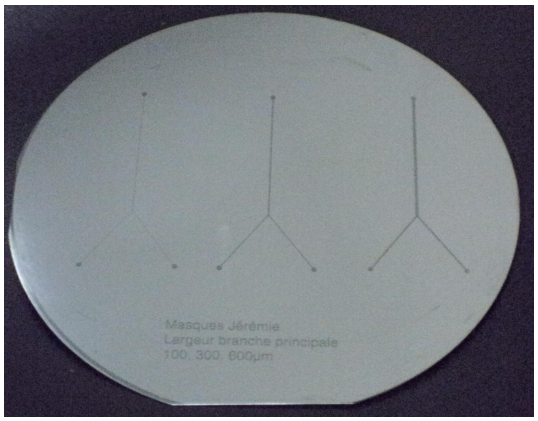


FIGURE 6.19 – Exemple de wafer. Cas de canaux pour viscosimétrie de 100, 300 et 600 µm de large

Le PDMS

Le PDMS est un polymer fabriqué à partir de deux produits : la base et le réticulant. Il en existe plusieurs sorte, les principales étant la *RTV* et la *Sylgard*, deux marques différentes. La première est moins chère que la seconde, mais également moins « pure » car composée de plusieurs polymère différents, contrairement à la *Sylgard* composée d'un seul type de polymère. Dans le cas de la culture cellulaire, la *Sylgard* est fortement recommandée, cependant, en microbiologie, la *RTV* suffit amplement, les bactéries n'étant pas sensible au type de PDMS utilisé. C'est donc ce dernier que nous utilisons. Toutes les manipulations décrites ici doivent être effectuées avec des gants au risque de se retrouver avec les mains poisseuses, le mieux étant de mettre deux paires de gants afin de pouvoir en retirer après la mise à l'étuve.

La première étape consiste à mélanger les deux composants du PDMS qui se présentent sous forme liquide. Afin d'obtenir un PDMS bien solide, il faut respecter une proportion massique de 90 % de base et 10 % de réticulant. Il est possible d'en utiliser d'autres pour modifier les propriétés physiques du PDMS final. Une fois mélangé suffisamment pour d'assurer l'homogénéité du PDMS, il faut le verser dans un tube de type *Falcon* afin de pouvoir le centrifuger 2 min à 500 rpm. Cela permet de retirer la plupart des bulles d'air présentent dans le PDMS en raison du mélange.

Une fois le PDMS centrifugé, il suffit de le verser sur le wafer. Pour éviter que le PDMS ne coule en dehors de celui-ci, un rond d'aluminium est utilisé afin de lui fournir un rebord de 1 à 2 cm. Le tout est alors placé dans une cloche à vide pendant environ 1 h afin de dégazer complètement le cœur du PDMS. La présence de bulles le long du canal serait problématique vis-à-vis de l'hydrodynamique lors de l'écoulement imposé lors de l'expérience.

Pour accélérer la réticulation du PDMS, le wafer est placé dans une étuve à 70°C pendant au moins 30 min. Cette durée est celle nécessaire à une réticulation complète, cependant, dans certains cas, il peut être intéressant de prende le PDMS à demi réticulé pour lui faire subir des traitements chimiques.

Pendant ce temps, il faut préparer les lamelles de verre en les recouvrant de PDMS. Cela permet de fabriquer des canaux dont toutes les parois sont en PDMS, et donc d'avoir des conditions aux bords identiques dans toutes les directions de l'espace. Pour cela, nous utilisons une spin-coateuse prévue pour le PDMS, qui est très poisseux sous sa forme liquide. De la même façon que pour la résine SU-8, la lamelle est aspirée par un trou dans la plaque tournante de l'appareil. Cette plaque aura été préalablement recouverte d'une feuille d'aluminium afin d'éviter de la salir, feuille qui est percée au niveau du trou au centre de la plaque pour laisser passer le vide. Il suffit alors de verser le PDMS sur la lamelle et de déclencher la rotation de l'appareil. Suivant l'épaisseur voulue, la vitesse de rotation varie. Dans notre cas, une épaisseur de 27.8 µm étant suffisante, la procédure se décompose en une étape à 500 rpm pendant 10 s, puis une étape à 2500 rpm durant 40 s. Les lamelles ainsi coatées sont ensuite placées à l'étuve.

Une fois le produit bien solide vient l'étape de découpe du PDMS aux dimensions d'une lamelle de microscope. Une fois découpé, il faut percer les points d'injection et de sortie au moyen de poinçons de façon à pouvoir insérer les tubes reliés aux seringues et à ce qu'ils tiennent à la pression et ne fuient pas. Une fois cela fait, il faut coller le PDMS à la lamelle coatée.

Pour cela, nous utilisons un plasma. On y place le PDMS et la lame séparés, face à coller vers le haut. Le principe est alors de remplacer tut l'air se trouvant à l'intérieur par de l'oxygène pur. Pour cela, un vide de 300 mTorr est créé dans l'appareil, puis il est rempli d'oxygène, et cela 3 fois de suite. Le vide est fait une dernière fois puis maintenue à 300 mTorr en ouvrant suffisamment la vanne d'oxygène pour équilibrer l'aspiration de la pompe à vide et l'entrée de l'oxygène. L'appareil est alors allumé pendant 40 s, temps pendant lequel il crée une très forte différence de potentiel entre le haut et le bas, et donc forme des radicaux libres sur toutes les surfaces libres, dont le bloc de PDMS et la lamelle.

Il ne reste plus qu'à mettre en contact les surfaces à coller, et des liaisons covalentes vont se former d'elles-mêmes. Le canal est alors prêt à être utilisé.

Il peut être intéressant de remarquer que, en raison de la création de radicaux sur les surfaces

du canal, il aura un comportement hydrophile pensant quelques heures, comportement qui disparait ensuite. Dans le cas de nos expériences, cela n'a que très peu d'intérêt, aussi nous laissons les canaux reposer.

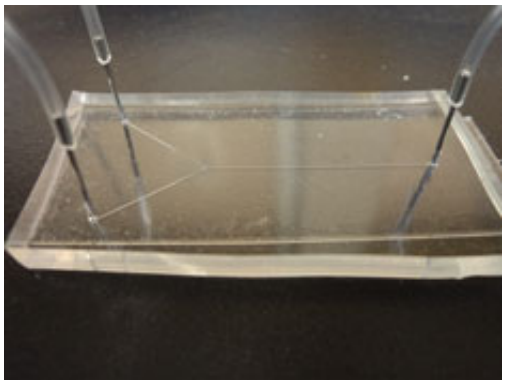


FIGURE 6.20 – Photo du microcanal

Nettoyage du système microfluidique

Travaillant avec des êtres vivants, la propreté des canaux est primordiale. Pour cela, il existe deux écoles. La première consiste à n'utiliser un canal qu'une seule fois. C'est la plus simple et la plus efficace. La seconde consiste à essayer de conserver les canaux pour une série d'expérience pour s'assurer d'avoir garder les mêmes conditions physiques. Cette vision se défend également. Quoi qu'il en soit, il faut nettoyer les seringues d'injections, celles que nous utilisons n'étant pas des modèles jetables, ou tout du moins pas sans un budget conséquent. Les étapes de nettoyage présentées ici sont les mêmes que ce soit pour les seringues ou pour le dispositif, le principe étant de nettoyer les seringues en premier et ensuite les canaux et tubes.

Pour cela, nous remplissons, puis vidons, les seringues avec différents produits successivement.

La première étape consiste à retirer le maximum de bactéries de la seringue par simple dilution. Il s'agit donc de la remplir d'eau bi-distillée stérile à plusieurs reprises. Un minimum de 2 mL au total est injecté puis refoulé.

La seconde cherche à détacher les bactéries des parois, et à les détruire sans pour autant modifier trop profondément les propriétés physico-chimiques du PDMS. Pour cela, nous utilisons du *Tween20*, un surfactant classique. Le *SDS* doit être évité car très difficile à retirer de la surface du PDMS, or il est toxique pour les bactéries. Il est dilué à hauteur de 1 % en volume et injecté dans la seringue. Un volume de 1 mL est suffisant.

La troisième étape consiste à injecter de l'éthanol à 70 % dans la seringue une seule fois pendant environ 20 s. Le but est alors de la vider et, très rapidement, de passer à l'étape suivante pour éviter que les bactéries fixées par l'alcool ne se collent sur les parois.

La suite correspond au début du nettoyage fait en sens inverse. Il faut donc commencer par le *Tween20*, puis finir avec l'eau pure. Les mêmes volumes sont respectés et sont pris d'échantillons propres pour éviter de réinjecter des E. Coli dans la seringue.

En suivant ce protocole, les seringues restent propres plusieurs années d'utilisation intenses. Cependant, quelques fois par an, il peut être intéressant de les nettoyer, et uniquement les seringues en verre, encore plus en profondeur. Pour cela, il suffit de les démonter entièrement et de

les faire bouillir une bonne heure dans de l'eau distillée. Pour les aiguilles, il existe des fils fabriqués spécialement pour être insérés à l'intérieur pour en nettoyer l'intérieur. Un seul passage et dans un seul sens suffit, frotter risquant de créer des défauts sur lesquelles les impuretés pourraient se fixer lors des utilisations suivantes.

Traitement d'images et tracking de particules

Le coeur des mesures qui sont présentées dans ce document est la capacité de discerner les bactéries du reste des images qui sont capturées lors de l'expérience. La partie de traitement d'image et de détection est effectuée sur *ImageJ*, tandis que le tracking est assuré par un programme codé en anceC++.

le *tracking* de bactérie, est quant à lui basé sur des programmes de traitement développés au sein de l'équipe depuis quelques années. Cette méthode consiste à détecter le centre de chaque particule sur chaque image grâce au fait que, en contraste de phase, les bactéries sont blanches et cerclées de noir, ce qui les fait suffisamment ressortir de l'image.

Il consiste en plusieurs étapes des traitement d'images cherchant à obtenir des images les plus génériques possibles quelque soient les conditions d'éclairage ou de contraste. En effet, la modification de la concentration en bactérie de la suspension induira une modification de l'histogramme de l'intensité de l'image.

Pour obtenir ce résultat, les images capturées subissent un filtre passe-haut par transformée de Fourier spatiale qui permet de retirer à toutes les images les gradients de lumière globaux qui pourraient être la conséquence d'une réflexion parasite ou d'une source lumineuse extérieur. Une fois ceci fait, un filtre gaussien est appliqué dans le but de lisser l'image et ainsi de réduire grandement le bruit. La taille de ce filtre dépend de celle des bactéries à l'image. Dans notre cas, une E. Coli faisant une dizaine de pixels, un filtre de $3px$ de diamètre a été appliqué. De plus, pour assurer une luminosité moyenne constante, l'histogramme de l'intensité est modifié pour que cette valeur moyenne soit placée approximativement au niveau du centre de la dynamique disponible. Utilisant des images codées sur 16 bits, nous avons choisi une valeur de 30000 en intensité.

La détection en elle-même consiste alors en une simple recherche des maximums locaux de l'image en imposant un seuil de détection correspondant au contraste de l'image, et donc à l'écart-type de l'intensité des pixels moyenné sur le temps. Une fois les maximum détecté au pixel près, le profil autour de celui-ci est ajusté par une parabole 2D afin d'obtenir une précision sous-pixelaire. Grâce à cette méthode, l'erreur finale est de l'ordre du quart de pixel, soit, dans nos conditions de prise de vue, 0.04 µm.

Leurs positions spatiale (x, y) et temporelle t, ainsi que l'intensité i du maximum sont ensuite enregistrés dans un fichier texte par vidéo.

Une fois toutes les particules présentes sur les images détectées, un autre programme permet de définir des trajectoires à partir de ces données. Pour cela, il compare la position de toutes les particules entre deux images successives et considère que les particules dont les positions sont les plus proches deux à deux entre les deux images sont la même bactérie s'étant déplacée. Ce programme incorpore également des filtres dont le but est d'éviter au maximum les fausses trajectoires. Ceux-ci sont de trois sortes.

Un premier compare les intensités entre les deux images. Ce paramètre sert de pondération sur la distance, et lui permet ainsi de passer outre une particule plus proche mais différente.

Un second filtre permet de gérer deux particules trop proches sur une même image, proximité qui pourrait induire le programme en erreur. Pour cela, l'une des deux détection est supprimer. Cette étape détruit une trajectoire possible, mais évite une fausse trajectoire.

Le dernier filtre consiste à réduire la distance de recherche entre deux images. Ainsi, lorsque l'on connait à l'avance la vitesse théorique des particules, et donc une distance maximale théorique

parcourue entre deux images, cela permet à la fois de réduire les erreurs et d'accélérer le calcul.

En sortie de ce programme, on obtient la position des bactéries en fonction du temps, la distance parcourue entre deux images dans les deux directions, ainsi qu'un numéro de trajectoire. À noter qu'avec ce programme, la dernière position de la trajectoire est toujours retirée. Cela a pour conséquence de créer un filtre sur le temps d'apparition de la particule, car pour être présente dans le fichier de sortie, il faut qu'elle ait été détectée au moins sur deux images successives.

Modèle de diffusion radiale (1D) sous écoulement cylindrique

Position radiale r en fonction du temps t en l'absence de tumble (orbites de Jeffery) :

$$r(t) = R_{\text{Jeffery}} \sin(\omega t + \phi).$$

En présence de *tumble*, on peut écrire le déplacement radial lors d'une trajectoire comme :

$$\begin{aligned}\Delta r &= r(t) - r(0) \\ &= R_{\text{Jeffery}} \left[\sin(\omega t + \phi) - \sin(\phi)\right].\end{aligned}$$

Au bout d'un temps T se produit N *run* de temps t_1, t_2,..., t_N avec :

$$P(t_i) = \frac{1}{t_{\text{run}}} e^{-t_i/t_{\text{run}}},$$

on a donc que le déplacement radial pendant un temps T s'écrit $\Delta r_T = \sum_{i=1}^{N} \Delta r_i$, or, ces déplacements Δr_i étant liés à un processus aléatoire, on a immédiatement que $\langle \Delta r_i \Delta r_j \rangle = 0$ pour $i \neq j$.

Cela nous permet d'écrire le déplacement caractéristique moyen lors d'une trajectoire :

$$\langle {\Delta r_T}^2 \rangle = \left\langle \sum_{i=1}^{N} {\Delta r_i}^2 \right\rangle = \sum_{i=1}^{N} \langle {\Delta r_i}^2 \rangle.$$

Il nous faut donc calculer le déplacement radial net lors d'un *run* :

$$\begin{aligned}\langle {\Delta r_i}^2 \rangle &= \frac{R_{\text{Jeffery}}^2}{2\pi} \int_0^{2\pi} \left[\sin(\omega t_i + \phi) - \sin(\phi)\right]^2 d\phi \\ &= \frac{R_{\text{Jeffery}}^2}{2\pi} \int_0^{2\pi} \left[\sin(\omega t + \phi)^2 + \sin(\phi)^2 - 2\sin(\phi)\sin(\omega t_i + \phi)\right] d\phi \\ &= \frac{R_{\text{Jeffery}}^2}{2\pi} \left[2\pi - 2\int_0^{2\pi} \sin(\phi)\sin(\omega t_i + \phi) d\phi\right] \\ &= \frac{R_{\text{Jeffery}}^2}{2\pi} \left[2\pi - \int_0^{2\pi} \left[\cos(\omega t_i) - \cos(\omega t_i + 2\phi)\right] d\phi\right] \\ &= \frac{R_{\text{Jeffery}}^2}{2\pi} \left[2\pi - 2\pi\cos(\omega t_i) + \int_0^{2\pi} \cos(\omega t_i + 2\phi) d\phi\right] \\ \langle {\Delta r_i}^2 \rangle &= R_{\text{Jeffery}}^2 \left(1 - \cos(\omega t_i)\right).\end{aligned}$$

On voit que si l'on prend $t_i \ll \frac{2\pi}{\omega}$, on obtient alors :

$$\langle {\Delta r_i}^2 \rangle \approx \frac{(R_{\text{Jeffery}} \omega t_i)^2}{2} \approx (U_0 t_i)^2.$$

avec $U_0 = (R_{\text{Jeffery}}\omega)^2$ la vitesse des nageurs. On remarquera que résultat correspond au déplacement rectiligne d'un nageur, ce qui est le résultat attendu.

Il nous faut désormais prendre en compte le *tumble* :

$$\begin{aligned}\langle\langle {\Delta r_i}^2\rangle\rangle &= \frac{R^2_{\text{Jeffery}}}{t_{\text{run}}}\int_0^\infty e^{-t/t_{\text{run}}}\left(1-\cos(\omega t)\right)dt \\ &= R^2_{\text{Jeffery}} - \frac{R^2_{\text{Jeffery}}}{t_{\text{run}}}\int_0^\infty e^{-t/t_{\text{run}}}\cos(\omega t)dt\end{aligned}$$

En posant $I = \int_0^\infty e^{-t/t_{\text{run}}}\cos(\omega t)dt$, on trouve :

$$\begin{aligned}I = \int_0^\infty e^{-t/t_{\text{run}}}\cos(\omega t)dt &= \frac{1}{t_{\text{run}}\omega}\int_0^\infty e^{-t/t_{\text{run}}}\sin(\omega t)dt && \left\{\begin{matrix}u = e^{-t/t_{\text{run}}}\\ dv = \cos(\omega t)\end{matrix}\right\} \\ &= \frac{1}{t_{\text{run}}\omega}\left[\left[-\frac{\cos(\omega t)}{\omega}e^{-t/t_{\text{run}}}\right]_0^\infty - \int_0^\infty e^{-t/t_{\text{run}}}\cos(\omega t)dt\right] && \left\{\begin{matrix}u = e^{-t/t_{\text{run}}}\\ dv = \sin(\omega t)\end{matrix}\right\} \\ &= \frac{1}{t_{\text{run}}\omega^2} - \frac{1}{t^2_{\text{run}}\omega^2}\frac{I}{2} \\ &= \frac{t_{\text{run}}}{1+t^2_{\text{run}}\omega^2}.\end{aligned}$$

En réintroduisant ce résultat dans la formule de $\langle\langle {\Delta r_i}^2\rangle\rangle$, on a :

$$\langle\langle {\Delta r_i}^2\rangle\rangle = R^2_{\text{Jeffery}}\frac{\omega^2 t^2_{\text{run}}}{1+\omega^2 t^2_{\text{run}}}.$$

On a donc que le déplacement lors d'une trajectoire complète s'écrit :

$$\begin{aligned}\langle\langle {\Delta r_T}^2\rangle\rangle &= N\langle\langle {\Delta r_i}^2\rangle\rangle \\ &= N\frac{R^2_{\text{Jeffery}}\omega^2 t^2_{\text{run}}}{1+\omega^2 t^2_{\text{run}}} \\ &= \frac{T}{t_{\text{run}}}\frac{R^2_{\text{Jeffery}}\omega^2 t^2_{\text{run}}}{1+\omega^2 t^2_{\text{run}}} \\ &= T\frac{R^2_{\text{Jeffery}}\omega^2 t_{\text{run}}}{1+\omega^2 t^2_{\text{run}}}.\end{aligned}$$

Ce résultat nous permet d'écrire le coefficient de diffusion correspondant :

$$\begin{aligned}D &= \frac{\langle\langle {\Delta r_T}^2\rangle\rangle}{2T} \\ &= \frac{R^2_{\text{Jeffery}}\omega^2 t_{\text{run}}}{2\left(1+\omega^2 t^2_{\text{run}}\right)} \\ &= \frac{U_0^2 t_{\text{run}}}{2\left(1+\omega^2 t^2_{\text{run}}\right)}.\end{aligned}$$

En approximant la pulsation des orbites de Jeffery comme $\omega \approx {}^1/_{t_{shear}} \approx {}^{V_0}/_R$, on obtient la forme de la diffusion transverse :

$$D \approx \frac{R^2 U_0^2 t_{\text{run}}}{\left(R^2 + V_0^2 t_{\text{run}}^2\right)}.$$

Non-Newtonian Viscosity of *Escherichia coli* Suspensions

Jérémie Gachelin, Gastón Miño, Hélène Berthet, Anke Lindner,* Annie Rousselet, and Éric Clément
PMMH-ESPCI, UMR 7636 CNRS-ESPCI-Universities Pierre et Marie Curie and Denis Diderot, 10 rue Vauquelin, 75005 Paris, France
(Received 5 October 2012; published 26 June 2013)

The viscosity of an active suspension of *E. coli* bacteria is determined experimentally as a function of the shear rate using a Y-shaped microfluidic channel. From the relative suspension viscosity, we identify rheological thickening and thinning regimes as well as situations at low shear rate where the viscosity of the bacteria suspension can be lower than the viscosity of the suspending fluid. In addition, bacteria concentration and velocity profiles in the bulk are directly measured in the microchannel.

DOI: 10.1103/PhysRevLett.110.268103 PACS numbers: 47.63.−b, 47.57.Qk, 47.57.E−

The fluid mechanics of microscopic swimmers in suspension have been widely studied in recent years. Bacteria [1,2], algae [3,4], or artificial swimmers [5] dispersed in a fluid display properties that differ strongly from those of passive suspensions [6]. The physical relationships governing momentum and energy transfer as well as constitutive equations vary drastically for these suspensions [7,8]. Unique physical phenomena caused by the activity of swimmers were recently identified such as enhanced Brownian diffusivity [1,8–10], uncommon viscosity [4,11,12], active transport and mixing [13], or the extraction of work from chaotic motion of bacteria [12,14]. The presence of living and cooperative species may also induce collective motion and organization at the mesoscopic or macroscopic level [15,16], impacting the constitutive relationships in the semi-dilute or dense regimes.

The *E. coli* bacterium (typical length $D = 2\ \mu$m) possesses a quite sophisticated propulsion apparatus consisting of a collection of flagella (7–10 μm length) organized in a bundle attached at the rear of the bacterium and rotating counterclockwise [17]. It has the ability to change direction (a tumble) at a given frequency by unbundling its flagella [18]. In spite of the inherent complexity of the propulsion features, low Reynolds number hydrodynamics impose a long range flow field which can be modeled as an effective force dipole. Due to the thrust coming from the rear, *E. coli* are described as "pushers," hence defining a sign for the force dipole which has a crucial importance on the rheology of active suspensions [7]. For a dilute suspension of force dipoles, Haines *et al.* [19] and Saintillan [20] derived an explicit relation relating viscosity and shear rate. They obtained an effective viscosity similar in form to the classical Einstein relation for dilute suspensionsusing the space occupied by the body: $\eta = \eta_0(1 + K\phi)$ (η_0 is the suspending fluid viscosity and ϕ the volume fraction). These theories predict a negative value for the coefficient K for pushers at low shear rates, meaning the suspension can exhibit a lower viscosity than the suspending fluid. The theoretical assessment of shear viscosity relies on an assumed statistical representation of the orientations of the bacteria, captured by a Fokker-Plank equation and a kinematic model for the swimming trajectories [21,22].

Despite the large number of theoretical studies, few experiments have been conducted. With *Bacillus subtilis* (pushers) trapped in a liquid film, Sokolov *et al.* [11] have shown that a vorticity decay rate could be associated with a strong decrease of shear viscosity in the presence of bacteria. For algae (pullers), Rafai *et al.* [4] have shown that the effective viscosity measured in a classical rheometer is larger than the viscosity of the corresponding dead (passive) suspension. However, no measurements of the viscosity of a dilute suspension of pushers under controlled shear conditions exist to date. This is mainly due to the fact that one has to assess low viscosities near the viscosity of water at very low shear rates to probe the theoretical predictions. These parameters are typically outside of the resolution of a classical rotational rheometer and have thus made these measurements inaccessible. In this letter, we present the first measurements of the shear viscosity of a suspension of pushers using a microfluidic device to overcome these difficulties and obtain the relative viscosity of an active suspension for a large range of shear rates and bacteria concentrations. Our setup also allows direct visualization of the flow as well as the spatial distributions of bacteria in the flow.

The wild type *E. coli* W used here are prepared following the experimental procedures described in Refs. [9,23]. The strain is grown overnight in rich medium (LB). After washing, it is transferred into MMA, a motility medium supplemented with K-acetate (0.34 mM) and polyvinyl pyrolidone (PVP: 0.005%). The sample is then incubated for at least one hour. To avoid bacteria sedimentation, Percoll is mixed with MMAP 1 vol/1 vol (isodense conditions). The suspending fluid is Newtonian with viscosity $\eta = 1.28 \times 10^{-3}$ Pa s at 22 °C. All experiments are performed at a fixed temperature $T = 25$ °C. In a fluid at rest our bacteria swim at an average speed of $U = 20\ \mu$m/s and tumble at a typical frequency of 1 Hz. To gain unambiguous information on the role of bacteria activity we have also worked with nonmotile bacteria,

 © 2013 American Physical Society

changing the bacteria morphology as little as possible. The bacteria are asphyxiated with Sodium Azide and kept at $T = 4\,^{\circ}\mathrm{C}$ overnight. Observation under a microscope of the bacteria within a fluid at rest confirmed the nonmotility. Note however that it is likely that the flagella unbundle if the bacterium does not swim, changing the morphology of nonmotile bacteria compared to their motile counterparts.

To obtain the shear viscosity, we adapted a microfluidic device [24] comparing the Newtonian viscosities of two liquids. The device is a Y-shaped Hele-Shaw cell of height h, such that each branch receives a different fluid, respectively fluid 0 of viscosity η_0 and fluid 1 of viscosity η_1 (see Fig. 1). Both flows are driven at an identical flow rate Q. In a Hele-Shaw approximation, the dominant shear rate occurs in the direction of the cell height z. In addition, for a viscosity ratio close to one, the velocities of the two fluids in the main channel differ only slightly and the shear occurring at the interface of the two fluids in the x direction can be neglected compared to the shear in the z direction. Under these conditions, at steady state the viscosity ratio η_1/η_0 can be directly obtained from the position of the interface between both fluids d_1/d_0 [24]. Guillot *et al.* [24] have also used this approach for non-Newtonian fluids, where it corresponds to the measurement of an apparent viscosity. Here we will follow the same approach and will verify our method subsequently. The suspension of bacteria is flowed into one arm and the suspending Newtonian fluid into the other arm. The interface position is then measured at various flow rates Q. The experimental data is presented as a function of the maximum shear rate obtained by assuming a parabolic flow profile in the channel height $\dot{\gamma}_M = (6Q)/(h^2 d_1)$, where d_1 is the lateral width occupied by the suspension. The relative viscosity $\eta_r =$ is then

$$\eta_r = \frac{\eta_1}{\eta_0} = \frac{d_1}{d_0}. \tag{1}$$

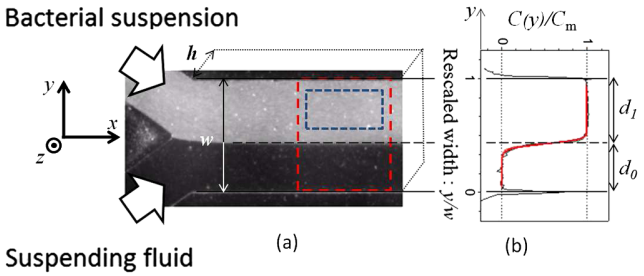


FIG. 1 (color online). Experimental setup. (a) Time-averaged image of the microchannel ($W = 600\ \mu$m) for $Q = 10$ nl/sec in each branch and volume fraction $\phi = 0.35\%$. Bacteria are visualized using a white light microscope. The red and blue frames indicate the measurement areas. (b) Concentration profile $C(y)$ normalized by the maximum concentration C_M (black line) and error function fit used to determine the interface position (red line).

This microfluidic device has the advantage of measuring a viscosity ratio and provides very good resolution of the suspension viscosity independent of its absolute value or the applied shear rate. We use a very high precision two-syringe pump from nemeSYS and a precision syringe (Hamilton Gastight 1805RN) of a very small volume (50 μl) allowing us to impose identical and very small flow rates (down to $Q = 0.5$ nl/sec) on both arms. Test experiments with passive suspensions formed by PS beads (micromod, diameter 2 μm) at small volume fractions ($\phi = 1$–10%) have been carried out and show that our device can measure relative viscosities for these concentrations with high precision.

The Y-shaped channel was fabricated completely from PDMS using a soft-lithography technique. The channel thickness is $h = 100\ \mu$m. The main channel width is $w = 600\ \mu$m and the two inlet branch widths are $w/2$. Inlets are connected by 500 μm diameter tubes to the two-syringe pump. The total length of the main channel is 40 mm. Suspensions were prepared (see [9]) with a number of bacteria per unit volume n in the range $1.9 \times 10^{12}\ \mathrm{l}^{-1} < n < 25.6 \times 10^{12}\ \mathrm{l}^{-1}$. The concentration of bacteria is determined by measuring the optical density of the suspension and using a calibration curve. The volume fraction is estimated using the space occupied by the body of each bacteria $v_b = 1\ \mu\mathrm{m}^3$ such that $\phi = n v_b$, yielding a range of $0.19 < \phi < 2.56\%$. The flowing suspension was observed using an inverted microscope (Zeiss-Observer, Z1) connected to a digital camera (PixeLINK PL-A741-E, $1280 \times 1024\ \mathrm{pix}^2$) capturing videos at a frame rate of 22 images/s using white light. Low magnification 2.5× allowed an extended view of the channel (see Fig. 1). The interface reaches its equilibrium position at approximately 600 μm from the junction of the two inlet channels and this position is then stable over the whole length of the channel. A widening of the interface is observed further downstream from the inlet due to "active" diffusion of the swimming bacteria. We have chosen the sample region (indicated by the red rectangle on Fig. 1) in such a way as to be in steady state conditions while avoiding significant widening of the interface.

During an experiment we increase the flow rate step by step from $Q = 0.5$ nl/sec to $Q = 100$ nl/sec. Note that we have verified for all experiments that identical results are obtained when subsequently decreasing the flow rate. In Fig. 1, the shape of the interface obtained by averaging over 120 successive images is displayed for the measurement area. To quantitatively determine the interface position, we measure the mean light intensity $\langle I\rangle(y)$ across the channel width averaging in the x direction over a distance of 600 μm (see red rectangle in Fig. 1). $C(y) = \ln(\langle I\rangle(y)/\langle I\rangle_0)$, with $\langle I\rangle_0$ being the mean intensity in the absence of bacteria, is then fitted with an error function $\mathrm{erf}(y)$ to obtain the interface position y_I. Once the interface position is determined, we extract the relative viscosity [Eq. (1)] and associate it with $\dot{\gamma}_M$.

Experimental observations are presented in the inset of Fig. 2(a) displaying averaged images for flow rates of $Q = 0.5$ nl/sec, $Q = 2$ nl/sec, and $Q = 10$ nl/sec for a suspension at a volume fraction of $\phi = 0.35\%$. When increasing the flow rate the interface position changes from a value above the midposition to a value below the midposition indicating a change in the suspension viscosity from lower than the viscosity of the suspending fluid to greater.

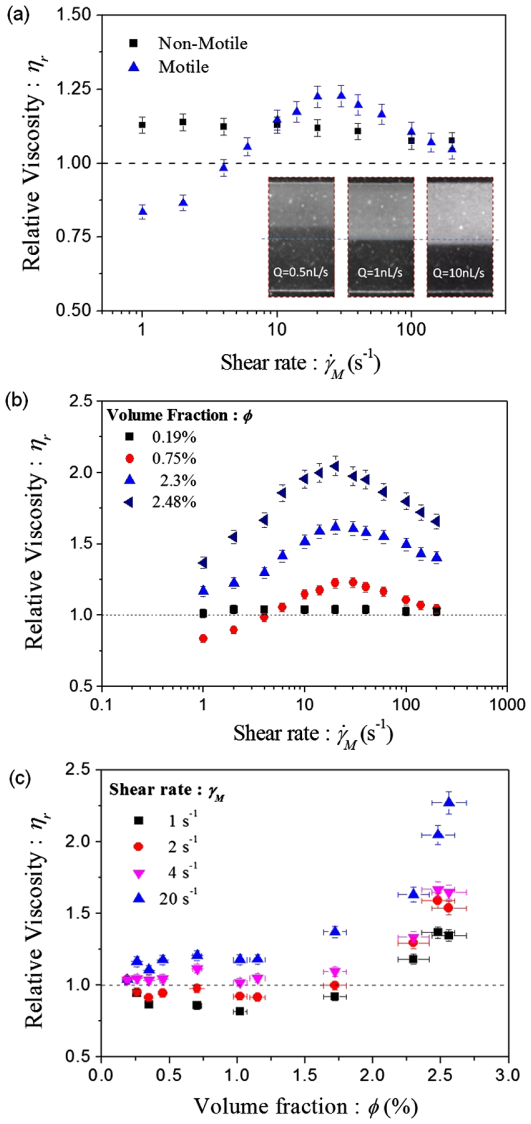


FIG. 2 (color online). Rheology curves. (a) Relative viscosity versus maximum shear rate for motile and nonmotile bacteria at $\phi = 0.8\%$. Inset: Three averaged pictures of the bilaminar flow for flow rates of $Q = 0.5$ nl/s, $Q = 2$ nl/s, and $Q = 10$ nl/s, respectively, for a $\phi = 0.35\%$ bacteria suspension. These images are averaged over 120 images at 22im/s and observed with a 2.5× magnification using phase contrast. The dotted line represents the center position in the channel width. The scale bar corresponds to 200 μm. (b) η_r versus $\dot{\gamma}_M$ at several volume fractions (c) η_r versus ϕ at several shear rates. The errors bars are estimated using the detection error of the interface position.

Quantitative measurements are given in Fig. 2(a) showing the relative viscosity η_r of suspensions of motile and nonmotile bacteria as a function of the maximum shear rate for a concentration of $\phi = 0.8\%$. For the motile bacteria we observe a relative viscosity below one at small shear rates, an increase of viscosity with increasing shear rate (shear thickening) and then shear thinning occurs at higher shear rates. The maximum viscosity is observed at a value of approximately $\dot{\gamma}_M = 20$ s^{-1}. This nonmonotonic behavior as a function of shear rate is in agreement with the results of Saintillan [20] obtained for slender bacteria and can be explained as follows. For shear rates smaller than the inverse of a typical time of bacteria swimming, normally taken as the ratio between the swimming speed and the length of the bacterium U/D, bacteria activity is dominant and the viscosity is decreased. For shear rates larger than this value the activity of the bacteria becomes negligible compared to the effect of the shear flow and the behavior of a passive suspension of rods is recovered. In our case $U/D \sim 10$ s^{-1} is indeed comparable to $\dot{\gamma}_M = 20$ s^{-1}. The viscosity of the nonmotile bacteria does not show a decrease in viscosity below one or shear thickening behavior. This nonmonotonic behavior is thus undoubtedly due to bacteria activity. For shear rates larger than $\dot{\gamma}_M = 20$ s^{-1} the behavior of the two curves becomes similar and is comparable to a passive suspension of rods. Results for different concentrations are given in Fig. 2(b) showing the relative viscosity η_r as a function of the maximum shear rate for various concentrations $\phi = 0.2\%, 0.8\%, 2.3\%$, and 2.5%. Note that for the lowest concentration the viscosity of the Newtonian suspending fluid is recovered for all shear rates validating again our rheological device. For all other concentrations, the curves display the same qualitative behavior as shown on Fig. 2(a) and the maximum in viscosity occurs at the same shear rate for all concentrations. For all of these cases, the shear thinning and shear thickening character of the active suspensions are weak and power law indices n (using $\eta = K\dot{\gamma}^{(n-1)}$) close to one are found for both regimes for all concentrations. Figure 2(c) shows the relative viscosity as a function of the volume fraction ϕ at various shear rates $\dot{\gamma}_M = 1, 2, 4$, and 20 s^{-1}. A decrease in viscosity below one is observed for the small shear rates, confirming in this way the theoretical predictions [19,20]. With increasing concentration a sharp increase of viscosity takes place for all shear rates, corresponding to a semi-dilute regime. In our case this regime is observed for concentrations above approximately 1%. Similar behavior was also observed by Sokolov *et al.* [11] using vortex decay in a suspension of *Bacilus subtilis* in a liquid film and has been predicted by Ryan *et al.* [25] in their simulations.

One of the advantages of our microfluidic device is that we can directly access the local velocity and bacteria concentration profiles as a function of the channel height. Bacteria moving in the flow were visualized with a high

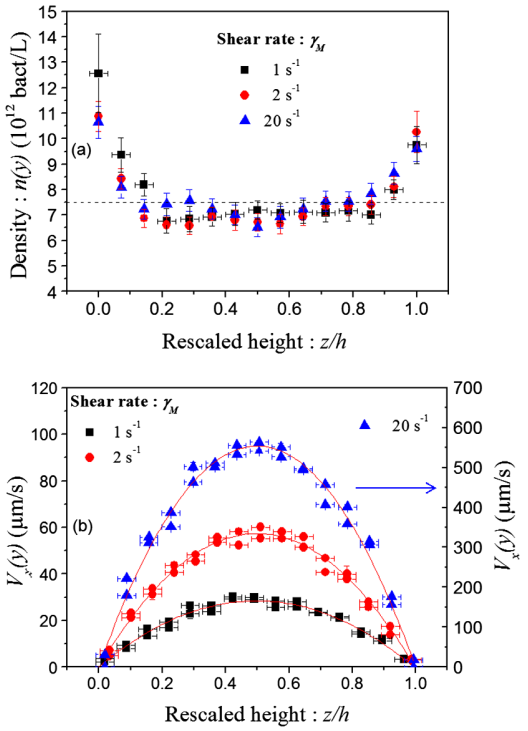


FIG. 3 (color online). Bulk profile measurements for a volume fraction $\phi = 0.75\%$ and shear rates $\dot{\gamma}_M = 1,\ 2,\ 20\ \mathrm{s}^{-1}$. (a) Bacteria density profile $n(z)$. The horizontal dashed line represents the mean density: $\bar{n} = 7.5 \times 10^{12}\,\mathrm{bact/l}$. (b) Velocity profile of passive tracers $V_x(z)$.

magnification objective (40x, phase contrast) allowing the position of the bacteria to be monitored at various heights z (field depth 3 μm). Videos were taken using a high-speed camera (Photron FastCam SA3, resolution 1024×1024 pixels, shutter speed (1/500 s), frame rate 1/50 s for $Q = 0.5$, 1nl/s and 1/500 s for $Q = 10$ nl/s). To monitor the flow velocity, we suspended a very low concentration of 2 μm density-matched latex beads as passive tracers (density 1.03 g/cm^3). Here we present selected results for the volume fraction $\phi = 0.75\%$ at which the reduction of the relative viscosity below 1 is observed at three flow rates ($Q = 0.5$, 1, 10 nl/ sec corresponding respectively to maximum shear rates $\dot{\gamma}_M = 1$, 2, 20 s^{-1}. Videos were taken in a region centered between the interface and the side wall (see blue frame of Fig. 1). To reduce the detection noise, a bacterium is retained only if it is detected on at least two consecutive frames. The flow velocities were computed for particles moving in the focal plane. In Fig. 3(a) we see that the concentration profiles are similar in shape to those published previously by [23] in the absence of flow, i.e., a quasiconstant density and a strong density increase within 10 μm of the wall, hence probing a trapping effect that persists over the range of shear rates explored. The calculated mean concentration is represented by the dashed line in Fig. 3(a) and is in agreement with the measured bulk concentration. It is important to note that the concentration profiles are identical for the various shear rates. The change in viscosity observed is therefore not due to a change in concentration within the microchannel. The velocity profiles $V_x(z)$ are displayed in Fig. 3(b). Within the precision of our experimental setup, a deviation from a parabolic velocity profile is not observed justifying the approximation used for our analysis. Note also that this finding is in agreement with the weak shear thinning or shear thickening character of our suspensions, for which only small changes in the velocity profile are predicted and not detectable in our experiments.

In conclusion, using a microfluidic device, we have measured for the first time the effective viscosity of a suspension of "pushers" (*E. coli* bacteria) as a function of the shear rate over a large range (1–200 s^{-1}) in the dilute and semi-dilute regimes. We confirmed in this way an important prediction for the rheology of pushers: at small shear rates the active viscosity can be smaller then the viscosity of the suspending fluid [7,19,20]. In the dilute as well as in the semi-dilute regime, we observed a shear-thickening behavior at lower shear rates followed by a shear-thinning regime at higher shear rates. The viscosity maximum is observed at a shear rate on the order of the inverse of the time a bacterium needs to swim over a distance of its own length and this value seems independent of the bacteria concentration. These results are consistent with the theoretical calculations of Saintillan [20] conducted in the dilute regime for a simple shear flow using a slender-body (rodlike) representation for the swimmer shape. In the semi-dilute regime (here for volume fractions greater than 1%), we observe a strong increase of the viscosity consistent with numerical simulations by Ryan *et al.* [25]. Our results represent the first experimental validation of the non-Newtonian rheology of an active suspension of pushers under controlled shear conditions. These results are an important experimental validation of the consequences of the original hydrodynamics of active particle systems, and will serve as a validation for the large number of theoretical and numerical studies in this field. In a larger context these results are important for the understanding of bacteria transport, in biomedical applications, biofuel production or soil decontamination.

G. M. acknowledges financial support of the Pierre-Gilles de Gennes Foundation and a MRES special grant. We thank Professors R. Soto, D. Saintillan, I. Aronson, and M. Alves for enlightening scientific discussions and C. Davis for a careful reading of the manuscript.

*anke.lindner@espci.fr

[1] X.-L. Wu and A. Libchaber, Phys. Rev. Lett. **84**, 3017 (2000).

[2] C. Dombrowski, L. Cisneros, S. Chatkaew, R. E. Goldstein, and J. O. Kessler, Phys. Rev. Lett. **93**, 098103 (2004).

[3] K. C. Leptos, J. S. Guasto, J. P. Gollub, A. I. Pesci, and R. E. Goldstein, Phys. Rev. Lett. **103**, 198103 (2009).
[4] S. Rafaï, L. Jibuti, and P. Peyla, Phys. Rev. Lett. **104**, 098102 (2010).
[5] W. F. Paxton, K. C. Kistler, C. C. Olmeda, A. Sen, S. K. St. Angelo, Y. Cao, T. E. Mallouk, P. E. Lammert, and V. H. Crespi, J. Am. Chem. Soc. **126**, 13 424 (2004).
[6] A. Baskaran and M. C. Marchetti, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **106**, 15 567 (2009); D. L. Koch and G. Subramanian, Annu. Rev. Fluid Mech. **43**, 637 (2011).
[7] Y. Hatwalne, S. Ramaswamy, M. Rao, and R. A. Simha, Phys. Rev. Lett. **92**, 118101 (2004).
[8] D. T. N. Chen, A. Lau, L. Hough, M. Islam, M. Goulian, T. Lubensky, and A. Yodh, Phys. Rev. Lett. **99**, 148302 (2007).
[9] G. Mino, T. E. Mallouk, T. Darnige, M. Hoyos, J. Dauchet, J. Dunstan, R. Soto, Y. Wang, A. Rousselet, and E. Clement, Phys. Rev. Lett. **106**, 048102 (2011).
[10] P. T. Underhill, J. P. Hernandez-Ortiz, and M. D. Graham, Phys. Rev. Lett. **100**, 248101 (2008).
[11] A. Sokolov and I. S. Aranson, Phys. Rev. Lett. **103**, 148101 (2009).
[12] R. Di Leonardo, L. Angelani, D. Dell'Arciprete, G. Ruocco, V. Iebba, S. Schippa, M. P. Conte, F. Mecarini, F. De Angelis, and E. Di Fabrizio, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **107**, 9541 (2010).
[13] M. J. Kim and K. S. Breuer, Anal. Chem. **79**, 955 (2007).
[14] A. Sokolov, M. M. Apodaca, B. A. Grzybowski, and I. S. Aranson, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **107**, 969 (2010).
[15] G. Gregoire, H. Chate, and Y. Tu, Phys. Rev. E **64**, 011902 (2001).
[16] D. Saintillan and M. J. Shelley, J. R. Soc. Interface **9**, 571 (2012).
[17] H. C. Berg, *E. coli in Motion* (Verlag, New York, 2004).
[18] N. C. Darnton, L. Turner, S. Rojevsky, and H. C. Berg, J. Bacteriol. **189**, 1756 (2007).
[19] B. M. Haines, A. Sokolov, I. Aranson, L. Berlyand, and D. Karpeev, Phys. Rev. E **80**, 041922 (2009)
[20] D. Saintillan, Exp. Mech. **50**, 1275 (2010).
[21] F. P. Bretherton, J. Fluid Mech. **14**, 284 (1962); G. B. Jeffery, Proc. R. Soc. A **102**, 161 (1922).
[22] A. Zöttl and H. Stark, Phys. Rev. Lett. **108**, 218104 (2012).
[23] A. P. Berke, L. Turner, H. C. Berg, and E. Lauga, Phys. Rev. Lett. **101**, 038102 (2008).
[24] P. Guillot, P. Panizza, J.-B. Salmon, M. Joanicot, A. Colin, C.-H. Bruneau, and T. Colin, Langmuir **22**, 6438 (2006); P. Galambos and F. Forster, *Micro-Electro-Mechanicical System (MEMS), 1998* p. 187 (unpublished); P. Nghe, P. Tabeling, and A. Ajdari, J. Non-Newtonian Fluid Mech. **165**, 313 (2010).
[25] S. Ryan, B. M. Haines, L. Berlyand, F. Ziebert, and I. S. Aranson, Phys. Rev. E **83**, 050904 (2011).

New Journal of Physics
The open access journal at the forefront of physics
Deutsche Physikalische Gesellschaft DPG | IOP Institute of Physics

Collective motion in an active suspension of *Escherichia coli* bacteria

J Gachelin, A Rousselet, A Lindner and E Clement[1]
PMMH-ESPCI, UMR 7636 CNRS-ESPCI-Universities Pierre et Marie Curie and Denis Diderot, 10 rue Vauquelin, F-75005 Paris, France
E-mail: eric.clement@upmc.fr

Received 2 August 2013, revised 2 December 2013
Accepted for publication 16 December 2013
Published 13 February 2014
New Journal of Physics **16** (2014) 025003
doi:10.1088/1367-2630/16/2/025003

Abstract
We investigate experimentally the emergence of collective motion in the bulk of an active suspension of *Escherichia coli* bacteria. When increasing the concentration from a dilute to a semi-dilute regime, we observe a continuous crossover from a dynamical cluster regime to a regime of 'bio-turbulence' convection patterns. We measure a length scale characterizing the collective motion as a function of the bacteria concentration. For bacteria fully supplied with oxygen, the increase of the correlation length is almost linear with concentration and at the largest concentrations tested, the correlation length could be as large as 24 bacterial body sizes (or 7–8 when including the flagella bundle). In contrast, under conditions of oxygen shortage the correlation length saturates at a value of around 7 body lengths.

S Online supplementary data available from stacks.iop.org/NJP/16/025003/mmedia

1. Introduction

Large-scale collective and synchronized motion is present not only in animal groups [1, 2] and human crowds [3], but also in driven granular matter [4–7], dense actine networks [8] or active emulsions [9]. However, its origin and significance may stem from physically different origins and remain to a large extent an open issue. For animal motion an early line of thought relates the origin of collective motion to local interactions that favor the adjustment of individual motion

[1] Author to whom any correspondence should be addressed.

Content from this work may be used under the terms of the Creative Commons Attribution 3.0 licence. Any further distribution of this work must maintain attribution to the author(s) and the title of the work, journal citation and DOI.

© 2014 IOP Publishing Ltd and Deutsche Physikalische Gesellschaft

on the mean value of its local surroundings (a gregarious tendency) [10]. Such models were studied theoretically and numerically [10, 11] and it was shown that large-scale flocking motion appears spontaneously as soon as the local gregarious tendency overcomes the orientation noise. This may lead to a rich variety of self-organized patterns [12]. In simple numerical simulations, noise is often taken as an external control parameter; however, in real systems the origin of local ordering and internal fluctuations remains unclear (mechanical or hydrodynamic fluctuations, perception, reaction capacities for living species, etc) [13]. These models essentially ignore the presence of a fluid background with the exception of a passive damping of particle motion. For suspensions of swimming microorganisms hydrodynamic theories were developed either based on the macroscopic transport equations phenomenology [14–16] or directly coming from a kinetic theory accounting explicitly for the transfer of momentum to the fluid and the hydrodynamic interactions between the swimmers [17, 18]. Numerical simulations of swimmers in a surrounding fluid were also performed to model active suspensions with the aim to test the theoretical predictions or to expand the studies to limits where the analytical theory is difficult [19–21]. In particular, the issue of collective organization of swimmers was addressed beyond the linear stability analysis of hydrodynamic modes [19, 20, 23]. An important outcome of these studies is that, for rear-activated swimmers or 'pushers' (as considered in this paper), long-range nematic ordering as well as fully isotropic states are both unstable and essentially lead to collective motion [14, 23]. The onset of collective motion may [17] or may not [18] depend on the system size [14, 15, 17, 22, 23].

From the experimental point of view, several studies were performed for self-propelled swimmers using bacteria [24], algae [27, 28] or self-propelled colloids [9, 29]. Unique physical phenomena caused by the activity of swimmers were identified such as enhanced Brownian diffusivity [24, 27, 30, 31], uncommon viscous response [28, 32, 34], active transport and mixing [35] or work extracted from the bacteria swimming activity [36, 37]. For bacteria strains such as *Bacillus subtilis* or paramecia, different authors reported large-scale collective motion baptized at the occasion of bio-turbulence [39, 42, 44–46]. Recently, a hydrodynamic equation was proposed for describing this regime [42, 43, 46]. However, it is probable that such large-scale motion is strongly influenced by the presence (or absence) of oxygen [41] or any other chemical species influencing the motility of the organisms as well as, in some cases, gravitational geotaxic effects [44]. However, *B. subtilis* were also reported to move collectively on agar plates in a dense swarm mode where obviously hydrodynamic interactions are absent [38]. For high concentrations the elongated aspect ratio is generally believed to play an important role in the global organization [47]. A similar observation has been made for passive non-biological systems such as mechanically activated rods [5, 6]. The anisotropic shape of the *B. subtilis* bacteria might also be at the origin of collective motion in the case of strong confinement in thin films where a sharp transition to collective motion as a function of the bacteria concentration was reported in a rather dense regime [40].

In this paper, we investigate the onset of collective motion in suspensions of *Eschericha coli* bacteria [48] in the bulk. *E. coli* are far less sensitive to oxygen shortage than *B. subtilis* and have a less elongated shape. We can thus expect hydrodynamic interactions to be more important for *E. coli* bacteria compared to *B. subtilis* and the study of their collective behavior might give additional insight in the underlying mechanisms. Some experimental studies using *E. coli* bacteria addressed the role of hydrodynamic interactions, but no systematic study of the emergence of large-scale structures for suspensions of *E. coli* bacteria in the bulk exists so far. Note, however, that in quasi-two-dimensional thin films, Wu *et al* [24] reported the spontaneous

organization of *E. coli* bacteria to form 'swirls and jets', but no direct quantitative measurement of this effect was made.

Drescher *et al* [33] explicitly determined the leading hydrodynamic parameters (local hydrodynamic field and effective force dipole parameter values) for *E. coli* bacteria. Consequently, long-range hydrodynamic effects would be particularly important for advection, the flow field scaling as $1/r^2$ (r is the distance from the swimmer), whereas reorientations would essentially depend on vorticity scaling as $1/r^3$, thus being more effective at shorter range. They suggest that steric effects also play a role in the alignment of bacteria, which will be clearly a dominant effect for higher concentrations. Wu *et al* [25] also performed a three-dimensional (3D) tracking of trajectories of *E. coli* bacteria at small concentrations, in a range comparable to the concentrations tested in the present paper, and state that hydrodynamic interactions between neighboring bacteria led to an increase in the diffusion coefficient. Using the same technique, Qian *et al* [26] studied pair velocity correlation for two given concentrations, again pointing out the importance of hydrodynamic interactions.

In a recent numerical contribution, Saintillan and Shelley [23] studied the emergence of coherent structures and correlated dynamics solely caused by hydrodynamic interactions in active suspensions. They showed a progressive increase of the velocity correlation lengths with concentration when going from the dilute to the semi-dilute regime. The role of hydrodynamic interaction was also put in perspective in a contribution by Sokolov *et al* [41] who studied the collective organization of *Bacillus subtillis*. These authors controlled the concentration of O_2 to vary both the swimming speed and the tumbling rate. They highlighted two fundamental mechanisms: long-range hydrodynamic interactions and close-range collisions. *A priori* for microorganisms, collisions would include both hydrodynamic and steric interactions. They also identified a time scale (here the tumbling frequency) defining the coherence time of the collective structures.

The aim of the present work is to carry out quantitative measurements of the emergence of collective motion in a suspension of *E. coli* bacteria by systematically varying the concentration from the dilute to the semi-dilute concentration regime. We also investigate the influence of oxygen shortage on the collective behavior. We will compare our results to the existing theoretical predictions to get insight into the underlying mechanisms of the emergence of collective behavior.

2. Materials and methods

2.1. Experimental setup

We use wild-type *E. coli* bacteria prepared following the experimental protocol described in [31, 49]. The strain was grown overnight in lysogeny broth (LB). After washing, it was transferred into MMAP, a minimal medium supplemented with K acetate (0.34 mM) and polyvinyl pyrolidone (PVP: 0.005%). Then it was incubated for at least an hour in that medium. To avoid bacteria sedimentation, Percoll was mixed with MMAP (1 vol/1 vol) to obtain density matching between the bacteria and the medium. In this minimal medium, bacteria do not reproduce and they swim at a speed of around $20\,\mu\mathrm{m\,s}^{-1}$ [34]. Chemicals inducing chemotactic driving are absent in the suspending medium except for those that might be produced by the bacteria themselves. For the rather dilute suspensions we use here, we may expect that the effect of such a signal is negligible with respect to hydrodynamic forces; however, it is quite

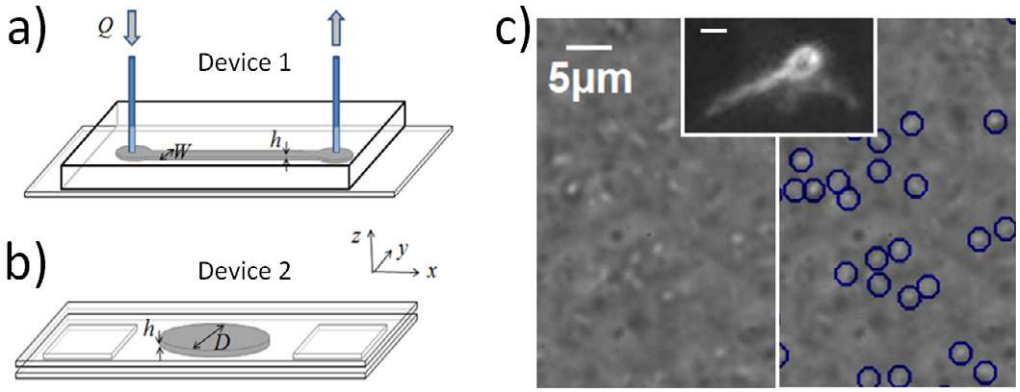


Figure 1. Experimental setup. (a) Device 1: rectangular PDMS microchannel with $h = 100$ and $W = 600\,\mu$m. (b) Device 2: circular chamber made from a droplet of the suspension of diameter $D = 5$ mm confined between two cover glass slides separated by a distance $h = 100\,\mu$m. (c) Left panel: snapshot of the suspension ($\phi = 0.75\%$). Right panel: the detected bacterial body is indicated as a circle and its velocity in the x−-y plane is represented with a line. Inset: fluorescently labeled *E. coli* bacterium; the scale bar is $2\,\mu$m.

difficult to completely rule out this possibility when bacteria start to aggregate. The suspensions were prepared with the number of bacteria per unit volume n in the range $0.2 \times 10^{12}\,\mathrm{l}^{-1} < n < 80 \times 10^{12}\,\mathrm{l}^{-1}$. The bacteria body volume being taken as $v_\mathrm{b} = 1\ \mu\mathrm{m}^3$, this corresponds to a volumetric concentration $\phi = n v_\mathrm{b}$ in the range $0.02\% < \phi < 8\%$. With the *E. coli* body length being $a = 2\,\mu$m the total length of the bacterium, taking also the flagella into account, can be estimated as $l \approx 3$–$4a = 6$–$8\,\mu$m. In this case, the excluded volume fraction is $\nu = \phi * (l/a)^3$ and for $\phi = 8\%$ we reach a value $\nu = O(1)$. At a concentration of $\phi = 8\%$ a semi-dilute regime is thus reached. When necessary, in order to monitor the flow velocity, a very low concentration of $2\,\mu$m density-matched latex beads are suspended as passive tracers into the suspensions.

To contain the suspension, different types of geometries are used: rectangular PDMS channels of height $h = 100\,\mu$m and width $W = 600\,\mu$m (see figure 1(a)) and circular chambers of diameter 5 mm made from a droplet of the suspension confined between two glass cover slips maintained at a distance of $h = 100\,\mu$m by two spacers (see figure 1(b)). The suspensions of bacteria are flown into the microfluidic channel, whereas the droplet of the suspension is directly deposited onto the cover glass. Furthermore, rectangular micro-fluidic channels are made in PDMS, a material known to be transparent to oxygen fluxes (avoiding in this way oxygen shortage for the bacteria), whereas in the droplet, oxygen can permeate through the droplet interface with air but not from the upper and lower edges. The PDMS channels are made using standard soft-lithography techniques. For the rectangular channels used in the experiments with and without flow, the inlets are connected by 500 μm diameter tubes to a syringe pump. All experiments are performed at a fixed temperature of $T = 25\,^\circ$C.

The bacteria suspensions are monitored using an inverted microscope (Zeiss-Observer, Z1). Bacteria moving in the flow are visualized with a high-magnification objective (100×, phase contrast) allowing observation of the bacteria at various heights z (field depth $6.6\,\mu$m). Videos were taken using a high-speed camera, Photron FastCam SA3, at resolution 1024×1024 pixels, shutter speed $1/500$ s and frame rate 125 fps.

2.2. Data analysis

First, the local bacteria velocities projected onto the xy plane are obtained using a correlation-based PIV technique. The boxes used to access the motion correlation are of size $1.92\,\mu$m (i.e. 12 pixels), corresponding to the typical bacteria body length. The observation window is a square of size $135.2\,\mu$m. To process the image sequences, we use the commercial PIV software La Vision Davis 7.2.2. The correlation is done over a time step of 0.04 s. Note that for the typical swimming speed of the bacteria of $20\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}}$, the bacteria swim over a typical distance of $0.8\,\mu$m during the time interval of 0.04 s. This is much smaller than our field depth of $6.6\,\mu$m. Even bacteria swimming perpendicular to the x–y plane do thus not leave the field of observation during this time. This means that we are essentially measuring projections of 3D trajectories. After processing, we obtain at each time step a spatially resolved velocity field $\vec{V}(\vec{r}, t)$ at time t.

We also analyzed the image sequences using a tracking algorithm developed in the group. In this case, the bacteria appearing as a white spot surrounded by a dark edge can easily be tracked at high frame rate if the concentration is not too high. See figure 1(b) and video 1 in the supplementary data (available from stacks.iop.org/NJP/16/025003/mmedia) for an animation of the bacteria tracking. The effective depth of field is here $3.4\,\mu$m. The difficulty is that most of the bacteria stay only fractions of a second in the field, so the lag time during which a bacterium is tracked can act as a filter on the population. For these results, we used the corresponding PIV lag time of 0.04 s. We have checked that varying the lag time slightly did not lead to a modification of the velocity correlations. The two methods (PIV and tracking) can be seen as complementary methods bearing their own possible limits and artifacts. Note that tracking becomes difficult at higher concentrations and higher flow rates. So for each claim we make in this paper, we tried to perform a crosscheck using both methods.

3. Experimental results

In this part, we will consider suspensions of bacteria observed at mid-height between the top and bottom walls of the chambers. Visual observation of the velocity fields clearly shows large-scale coherent structures (see figure 2). In figures 2(a)–(c), we represent for different packing fractions ($\phi = 0.1$, 1 and 2%) the spatial distribution of the velocity fields and in figures 2(d)–(f) a color map of the corresponding velocity directions. We can directly observe clusters of bacteria moving collectively in a given direction. Note that for the representation, displacements smaller than 1 px per 5 frames are not shown. See video 2 in the supplementary data for an animation of these cluster dynamics using the tracking method. In figure 3 the spatial velocity distribution is shown for a higher concentration ($\phi = 8\%$), corresponding to the semi-dilute regime. We clearly see large-scale collective motion resembling qualitatively the bio-turbulence patterns reported for *B. subtilis* (see video 3 in the supplementary data).

To quantitatively analyze these structures, we calculated two types of spatial correlation functions: velocity correlation functions and angle correlation functions. The velocity correlation functions $C_{ij}(R) = \langle(\overline{V_i(\vec{r})V_j(\vec{r}+\vec{R})} - \overline{V_i(\vec{r})}^2)/\overline{V_i^2(\vec{r})}\rangle$ are computed as a function of the distance $R = \|\vec{R}\|$, the indices i, j represent the x or y direction. For each image, the correlation function is calculated as a spatial average (over-line) and a second average is taken over time (bracket) which corresponds to 4000 images. Similarly, we computed the

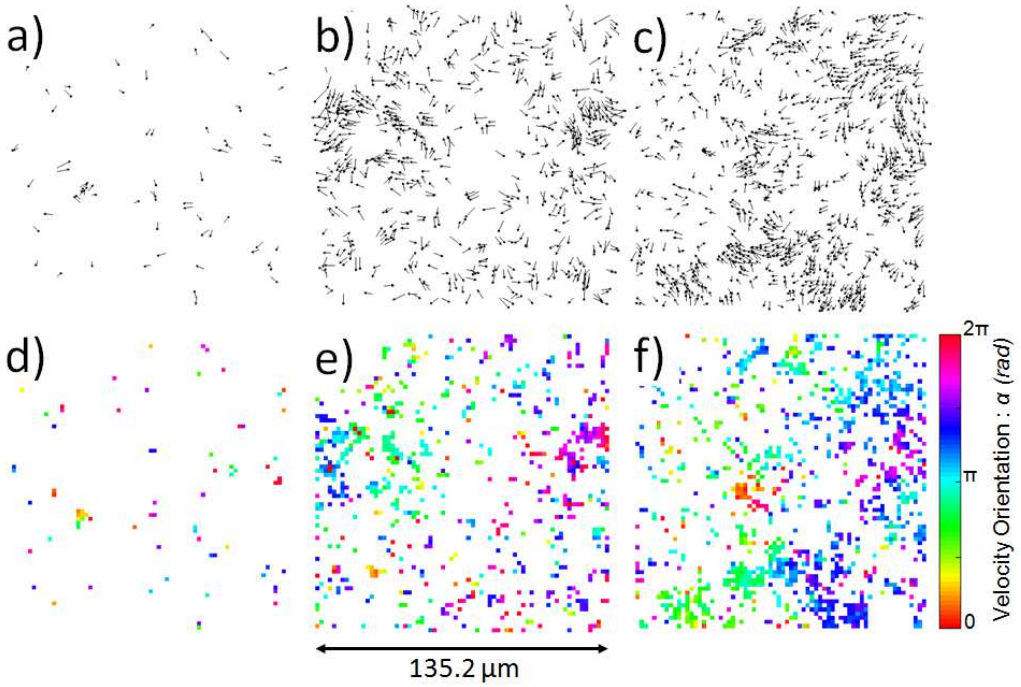


Figure 2. Velocity spatial distribution obtained from PIV. Velocity vectors: (a) $\phi = 0.1\%$, (b) $\phi = 1\%$ and (c) $\phi = 2\%$. Velocity directions in the color map: (d) $\phi = 0.1\%$, (e) $\phi = 1\%$ and (f) $\phi = 2\%$.

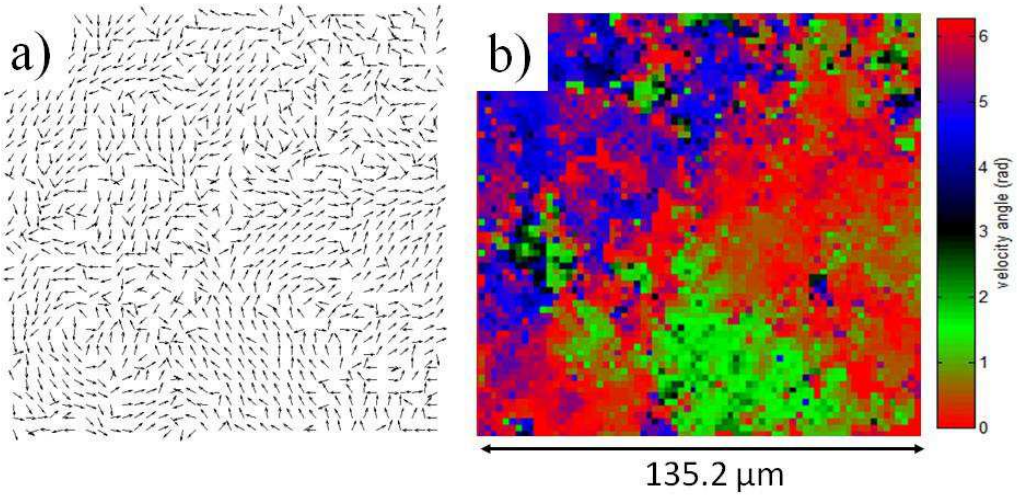


Figure 3. Spatial velocity distribution obtained from PIV at $\phi = 8\%$ in the microfluidic PDMS Hele-Shaw cell (device 1). (a) Velocity vectors and (b) color map of the velocity directions.

angular correlations using the velocity director $\vec{n} = \vec{V}/\|\vec{V}\|$ to monitor whether bacteria move in the same direction independently from their velocity amplitude. With the same definitions for the averages: $C_\alpha(R) = \langle \vec{n}(\vec{r})\vec{n}(\vec{r}+\vec{R}) - \overline{\vec{n}(\vec{r})}^2 \rangle$. In figures 4(a) and (c), we display C_{xx} and C_α for four values of the bacteria concentration ϕ. The velocity correlations obtained from PIV and bacteria tracking show that the spatial organization of the bacteria varies with

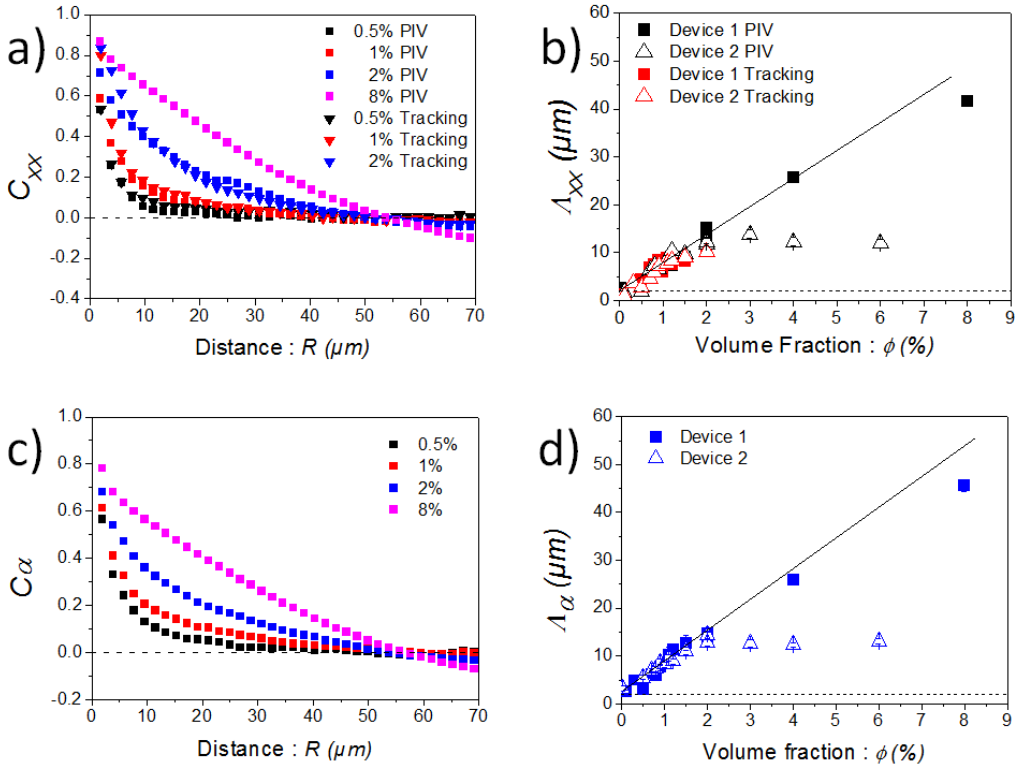


Figure 4. Collective motion of bacteria. (a) Velocity correlation functions C_{xx} for $\phi = 0.5$, 1 and 2% using PIV and tracking data. (b) Velocity correlation lengths Λ_{xx} as a function of ϕ. (c) Angle correlation functions $C_{\alpha}(R)$ for $\phi = 0.5$, 1 and 2% for device 1 and device 2 using PIV data. (d) Angle correlation lengths Λ_{α} as a function of ϕ. The dashed line at the bottom of (c) and (d) represents 2 μm, i.e. the PIV box size or the typical bacteria length.

concentration. Using an exponential fit we extract the values for the corresponding correlation lengths Λ displayed as a function of ϕ in figures 4(b) and (d). When comparing the different methods (tracking/PIV and velocity correlation/angular correlation) or the different systems (channel/droplet) we obtain consistent results at concentrations $\phi < 2\%$. The correlation length increases in a quasi-linear way with the concentration.

For higher concentrations bacteria tracking becomes more difficult and we only display results obtained from PIV. In the microfluidic PDMS channel, we observe an increase of the correlation lengths with the concentration up to $\phi = 8\%$, the largest concentration tested. No saturation is observed. At $\phi = 8\%$ $\Lambda = 48\,\mu$m and the ratio $\Lambda/a \approx 24$ or $\Lambda/l \approx 8$, taking also the flagella into account. This is in agreement with previous observations for other coherent structures, where typical mesoscopic lengths up to ten bacterium sizes, including the flagella, were observed [39, 41–43, 45, 46]. Note that Λ_{yy} (not shown) is identical to Λ_{xx} for all concentrations. Importantly, the increase of the correlation length seems progressive and no apparent threshold for the onset of collective motion is observed.

Note that these results are qualitatively similar to the numerical simulations of Saintillan *et al* [23], who studied the collective behavior of slender rod-like pushers in the dilute and semi-dilute regimes. They also found a quasi-linear increase of the correlation length with concentration. However, it is important to note that these 3D numerical simulations were

performed in boxes of relatively small sizes: the box size L is about ten times the bacterial body length l and the authors show that the correlation length depends on the box size by slightly varying the latter. In our case, considering a bacterium total length of about $l = 6\,\mu$m (including flagella) the vertical direction of the channel corresponds to about 17 bacteria lengths (flagella included) and a quantitative comparison of the results is thus difficult.

The experimental results become very different when the bacteria are confined between two cover glass slides. No oxygen can diffuse inside through the glass slides. Interestingly, in this case, we observe a saturation of the correlation length at a value of $\lambda = 14\,\mu$m. This might indicate that at higher concentration, oxygen shortage might become important, leading to a saturation of the correlation length, as observed by Sokolov *et al* [41].

4. Summary and conclusion

In this paper, we show the progressive emergence of collective motion in the bulk of a suspension of *E. coli* bacteria when the concentration is increased from the dilute to the semi-dilute regime. In the small concentration regime, we observe cluster-like structures as isolated patches of bacteria moving in the same direction. The formation of these clusters may be due to an interplay between the hydrodynamic interactions and the collisions producing a subsequent ordering of the swimmers. At the higher concentrations, we observe the emergence of large-scale coherent motion similar to the bio-convection patterns reported earlier for *B. subtilis* [39, 41–43, 45, 46]. The velocity and orientation correlation functions were measured and the correlation lengths were extracted. We show a progressive and almost linear increase of the correlation length with concentration up to large mesoscopic scales. Note that these results are qualitatively similar to the numerical results of Saintillan and Shelley [23] whose simulations solely take into account the hydrodynamic interactions between swimmers. Interestingly, we observed a saturation of the correlation length with concentration when the bacteria are deprived of oxygen. These results point out the importance of a coherence time scale limiting the spatial extension of collective motion [41]. In practice, this time scale may be fixed by the tumbling frequency which is enhanced for *E. coli* in the case of oxygen reduction [50], a result consistent with the observations of Sokolov *et al* [41] for *B. subtilis*.

The existence of collective motion in such dilute or semi-dilute suspensions of bacteria may have an important influence on the macroscopic behavior of these suspensions and might have to be taken into account for further modeling the rheology of these suspensions in the semi-dilute regime [34].

References

[1] Cavagna A *et al* 2010 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **107** 11 865
[2] Vicsek T and Zafeiris A 2012 *Phys. Rep.* **517** 71
[3] Helbing D, Farkas I and Vicsek T 2000 *Nature* **407** 487
[4] Pouliquen O 2004 *Phys. Rev. Lett.* **93** 248001
[5] Narayan V, Ramaswamy S and Menon N 2007 *Science* **317** 105
[6] Kudrolli A *et al* 2008 *Phys. Rev. Lett.* **100** 058001
Kudrolli A 2010 *Phys. Rev. Lett.* **104** 088001
[7] Deseigne J, Dauchot O and Chate H 2010 *Phys. Rev. Lett.* **105** 098001
[8] Schaller V *et al* 2010 *Nature* **467** 73

[9] Thutupalli S, Seemann R and Herminghaus S 2011 *New J. Phys.* **13** 073021
[10] Vicsek T *et al* 1995 *Phys. Rev. Lett.* **75** 1226
[11] Gregoire G and Chate H 2004 *Phys. Rev. Lett.* **92** 025702
[12] Peruani F, Klauss T, Deutsch A and Voss-Boehme A 2011 *Phys. Rev. Lett.* **106** 128101
[13] Yates C A *et al* 2009 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **106** 5464
[14] Simha R A and Ramaswamy S 2002 *Phys. Rev. Lett.* **89** 058101
[15] Baskaran A and Marchetti M C 2009 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **106** 15567
[16] Toner J, Tu Y and Ramaswamy S 2005 *Ann. Phys.* **318** 170
[17] Saintillan D and Shelley M J 2008 *Phys. Rev. Lett.* **100** 178103
Saintillan D and Shelley M J 2008 *Phys. Fluids* **20** 123304
[18] Subramanian G and Koch D L 2009 *J. Fluid Mech.* **632** 359
[19] Hernández-Ortiz J P, Stoltz C G and Graham M D 2005 *Phys. Rev. Lett.* **95** 204501
[20] Saintillan D and Shelley M J 2007 *Phys. Rev. Lett.* **99** 058102
[21] Ishikawa T and Pedley T J 2007 *J. Fluid Mech.* **588** 399
[22] Hohenegger C and Michael Shelley J 2010 *Phys. Rev.* E **81** 046311
[23] Saintillan D and Shelley M J 2012 *J. R. Soc. Interface* **9** 571
[24] Wu X-L *et al* 2000 *Phys. Rev. Lett.* **84** 3017
[25] Wu M *et al* 2006 *Appl. Environ. Microbiol.* **72** 4987
[26] Qian L *et al* 2007 *Phys. Fluids* **19** 061701
[27] Leptos K C *et al* 2009 *Phys. Rev. Lett.* **103** 198103
[28] Rafaï S, Jibuti L and Peyla P 2010 *Phys. Rev. Lett.* **104** 098102
[29] Paxton W F *et al* 2004 *J. Am. Chem. Soc.* **126** 13431
[30] Wilson L G *et al* 2011 *Phys. Rev. Lett.* **106** 018101
[31] Mino G *et al* 2011 *Phys. Rev. Lett* **106** 048102
[32] Sokolov A *et al* 2009 *Phys. Rev. Lett.* **103** 148101
[33] Drescher K *et al* 2011 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **108** 10940
[34] Gachelin J *et al* 2013 *Phys. Rev. Lett.* **110** 268103
[35] Kim M J *et al* 2007 *Anal. Chem.* **79** 955
[36] Sokolov A *et al* 2010 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **107** 969
[37] Di Leonardo R *et al* 2010 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **107** 9541
[38] Zhang H P, Be'er A, Florin E-L and Swinney H L 2010 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **107** 13626
[39] Dombrowski C *et al* 2004 *Phys. Rev. Lett.* **93** 098103
[40] Sokolov A, Aranson I S, Kessler J O and Goldstein R E 2007 *Phys. Rev. Lett.* **98** 158102
[41] Sokolov A and Aranson I S 2012 *Phys. Rev. Lett.* **109** 248109
[42] Dunkel J *et al* 2013 *Phys. Rev. Lett.* **110** 228102
[43] Wioland H *et al* 2013 *Phys. Rev. Lett.* **110** 268102
[44] Kitsunezaki S, Komori R and Harumoto T 2007 *Phys. Rev.* E **76** 046301
[45] Sokolov A *et al* 2009 *Phys. Rev.* E **80** 031903
[46] Wensink H H *et al* 2012 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **109** 14308
[47] Wensinck H and Loewen H 2012 *J. Phys: Condens. Matter* **24** 464130
[48] Berg H C 2004 *E. coli in Motion* (New York: Springer)
[49] Berke A P *et al* 2008 *Phys. Rev. Lett.* **101** 038102
[50] Rebbapragada A *et al* 1997 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **94** 10541

Bibliographie

[1] A. Einstein, "Zur theorie der brownschen bewegung," Ann. Phys. **324**, 371–381 (1906). 01080.
Cité pages 13 et 14

[2] G. K. Batchelor, "The effect of brownian motion on the bulk stress in a suspension of spherical particles," Journal of Fluid Mechanics **83**, 97–117 (1977). 00966.
Cité pages 13 et 14

[3] I. M. Krieger, "A mechanism for non-newtonian flow in suspensions of rigid spheres," Journal of Rheology **3**, 137 (1959). 01568.
Cité pages 13 et 14

[4] D. Leighton and A. Acrivos, "Viscous resuspension," Chemical Engineering Science **41**, 1377–1384 (1986). 00243.
Cité pages 13 et 14

[5] I. E. Zarraga, D. A. Hill, and D. T. L. Jr, "The characterization of the total stress of concentrated suspensions of noncolloidal spheres in newtonian fluids," Journal of Rheology (1978-present) **44**, 185–220 (2000). 00199.
Cité pages 13 et 14

[6] J. K. Dhont and W. J. Briels, "Rod-like brownian particles in shear flow," Soft Matter : Complex Colloidal Suspensions, edited by G. Gompper, M. Schick **2** (1988). 00005.
Cité page 13

[7] M. Doi and S. F. Edwards, *The theory of polymer dynamics* (Clarendon Press, 1986). 00203.
Cité page 13

[8] H. C. Berg and D. A. Brown, "Chemotaxis in escherichia coli analysed by three-dimensional tracking," Nature **239**, 500–504 (1972). 01371.
Cité pages 14, 24, et 75

[9] H. C. Berg, *Random walks in biology* (Princeton University Press, Princeton, N.J., 1993). 02302.
Cité pages 14, 26, et 73

[10] H. C. Berg, *E. coli in motion* (Springer, New York, 2004). 00443.
Cité pages 14, 24, 43, et 73

[11] P. S. Lovely and F. W. Dahlquist, "Statistical measures of bacterial motility and chemotaxis," Journal of theoretical biology **50**, 477–496 (1975). 00109.
Cité pages 14, 24, 25, et 44

[12] C. Douarche, A. Buguin, H. Salman, and A. Libchaber, "E. coli and oxygen : A motility transition," Physical Review Letters **102** (2009). 00026.
Cité pages 14, 27, 41, 46, et 125

[13] J. Saragosti, V. Calvez, N. Bournaveas, B. Perthame, A. Buguin, and P. Silberzan, "Directional persistence of chemotactic bacteria in a traveling concentration wave," PNAS (2011). 00023.
Cité pages 14, 25, et 41

[14] L. G. Wilson, V. A. Martinez, J. Schwarz-Linek, J. Tailleur, G. Bryant, P. N. Pusey, and W. C. K. Poon, "Differential dynamic microscopy of bacterial motility," Phys. Rev. Lett. **106**, 018101 (2011). 00040.
Cité page 14

[15] J. Saragosti, P. Silberzan, and A. Buguin, "Modeling e. coli tumbles by rotational diffusion. implications for chemotaxis," PLoS ONE **7**, e35412 (2012). 00003.
Cité pages 14, 25, 26, 41, et 75

[16] T. Vicsek, A. Czirók, E. Ben-Jacob, I. Cohen, and O. Shochet, "Novel type of phase transition in a system of self-driven particles," Physical review letters **75**, 1226 (1995). 03009.
Cité pages 14 et 51

[17] T. Vicsek and A. Zafeiris, "Collective motion," Physics Reports **517**, 71–140 (2012). 00306.
Cité page 14

[18] A. Wysocki, R. G. Winkler, and G. Gompper, "Cooperative motion of active brownian spheres in three-dimensional dense suspensions," EPL (Europhysics Letters) **105**, 48004 (2014). 00008.
Cité page 14

[19] J. P. Hernandez-Ortiz, C. G. Stoltz, and M. D. Graham, "Transport and collective dynamics in suspensions of confined swimming particles," Physical Review Letters **95** (2005). 00216.
Cité page 14

[20] A. Baskaran and M. C. Marchetti, "Statistical mechanics and hydrodynamics of bacterial suspensions," PNAS **106**, 15567–15572 (2009). 00112.
Cité pages 14, 28, et 52

[21] K. Drescher, R. E. Goldstein, N. Michel, M. Polin, and I. Tuval, "Direct measurement of the flow field around swimming microorganisms," Physical Review Letters **105** (2010). 00076.
Cité pages 14 et 28

[22] H. H. Wensink, J. Dunkel, S. Heidenreich, K. Drescher, R. E. Goldstein, H. Löwen, and J. M. Yeomans, "Meso-scale turbulence in living fluids," PNAS **109**, 14308–14313 (2012). 00063.
Cité pages 15, 59, et 68

[23] D. Saintillan and M. Shelley, "Orientational order and instabilities in suspensions of self-locomoting rods," Physical Review Letters **99** (2007). 00148.
Cité pages 15 et 31

[24] D. Saintillan and M. Shelley, "Instabilities and pattern formation in active particle suspensions : Kinetic theory and continuum simulations," Physical Review Letters **100** (2008). 00132.
Cité pages 15 et 52

[25] A. Sokolov, R. Goldstein, F. Feldchtein, and I. Aranson, "Enhanced mixing and spatial instability in concentrated bacterial suspensions," Physical Review E **80** (2009). 00066.
Cité pages 15, 68, et 126

[26] D. Saintillan and M. J. Shelley, "Emergence of coherent structures and large-scale flows in motile suspensions," Journal of The Royal Society Interface **9**, 571–585 (2011). 00000.
Cité pages 15, 30, 31, 61, 62, 68, 96, 98, 125, et 127

[27] A. Sokolov and I. S. Aranson, "Physical properties of collective motion in suspensions of bacteria," Phys. Rev. Lett. **109**, 248109 (2012). 00026.
Cité pages 15, 61, 62, 68, et 69

[28] E. Lushi and C. S. Peskin, "Modeling and simulation of active suspensions containing large numbers of interacting micro-swimmers," Computers & Structures **122**, 239–248 (2013). 00006.
Cité page 15

[29] A. Sokolov, I. S. Aranson, J. O. Kessler, and R. E. Goldstein, "Concentration dependence of the collective dynamics of swimming bacteria," Phys. Rev. Lett. **98**, 158102 (2007). 00200.
Cité pages 15, 31, 32, 52, et 125

[30] X. Chen, X. Dong, A. Be'er, H. L. Swinney, and H. P. Zhang, "Scale-invariant correlations in dynamic bacterial clusters," Physical Review Letters **108** (2012). 00031.
Cité pages 15 et 62

[31] S. D. Ryan, A. Sokolov, L. Berlyand, and I. S. Aranson, "Correlation properties of collective motion in bacterial suspensions," New Journal of Physics **15**, 105021 (2013). 00004.
Cité page 15

[32] E. Lushi, H. Wioland, and R. E. Goldstein, "Fluid flows created by swimming bacteria drive self-organization in confined suspensions," Proceedings of the National Academy of Sciences (2014). 00002.
Cité page 15

[33] I. Theurkauff, C. Cottin-Bizonne, J. Palacci, C. Ybert, and L. Bocquet, "Dynamic clustering in active colloidal suspensions with chemical signaling," Phys. Rev. Lett. **108**, 268303 (2012). 00072.
Cité page 15

[34] Y. Hatwalne, S. Ramaswamy, M. Rao, and R. Simha, "Rheology of active-particle suspensions," Physical Review Letters **92** (2004). 00224.
Cité pages 15, 36, 79, 99, 109, et 123

[35] B. Haines, A. Sokolov, I. Aranson, L. Berlyand, and D. Karpeev, "Three-dimensional model for the effective viscosity of bacterial suspensions," Physical Review E **80** (2009). 00044.
Cité pages 15, 109, 120, et 123

[36] D. Saintillan, "The dilute rheology of swimming suspensions : A simple kinetic model," Experimental Mechanics **50**, 1275–1281 (2009). 00000.
Cité pages 15, 35, 38, 79, 99, 109, 118, 120, 123, et 126

[37] S. Ryan, B. Haines, L. Berlyand, F. Ziebert, and I. Aranson, "Viscosity of bacterial suspensions : Hydrodynamic interactions and self-induced noise," Physical Review E **83** (2011). 00019.
Cité pages 15, 39, 120, et 124

[38] L. Jibuti, S. Rafaï, and P. Peyla, "Suspensions with a tunable effective viscosity : a numerical study," Journal of Fluid Mechanics **693**, 345–366 (2012). 00005.
Cité page 15

[39] A. Sokolov and I. Aranson, "Reduction of viscosity in suspension of swimming bacteria," Physical Review Letters **103** (2009). 00103.
Cité pages 16, 39, 109, et 120

[40] S. Rafaï, L. Jibuti, and P. Peyla, "Effective viscosity of microswimmer suspensions," Physical Review Letters **104** (2010). 00096.
Cité pages 16 et 52

[41] M. Mussler, S. Rafaï, P. Peyla, and C. Wagner, "Effective viscosity of non-gravitactic chlamydomonas reinhardtii microswimmer suspensions," EPL (Europhysics Letters) **101**, 54004 (2013). 00007.
Cité page 16

[42] N. C. Darnton, L. Turner, S. Rojevsky, and H. C. Berg, "On torque and tumbling in swimming escherichia coli," Journal of Bacteriology **189**, 1756–1764 (2007). 00128.
Cité page 21

[43] J. Adler, "Chemotaxis in bacteria," Science **153**, 708–716 (1966). 00758.
Cité page 22

[44] J. J. Falke, R. B. Bass, S. L. Butler, S. A. Chervitz, and M. A. Danielson, "The two-component signaling pathway of bacterial chemotaxis," Annual Review of Cell and Developmental Biology **13**, 457–512 (1997). 00436.
Cité page 22

[45] C. T. Archer, J. F. Kim, H. Jeong, J. H. Park, C. E. Vickers, S. Y. Lee, and L. K. Nielsen, "The genome sequence of e. coli w (ATCC 9637)," BMC Genomics **12**, 9 (2011). 00035.
Cité page 22

[46] U. Alon, L. Camarena, M. G. Surette, B. Aguera y Arcas, Y. Liu, S. Leibler, and J. B. Stock, "Response regulator output in bacterial chemotaxis," The EMBO journal **17**, 4238–4248 (1998). 00167.
Cité page 23

[47] F. Perrin, "Mouvement brownien d'un ellipsoide - i. dispersion diélectrique pour des molécules ellipsoidales," J. Phys. Radium **5**, 497–511 (1934). 01400.
Cité page 25

[48] F. Perrin, "Étude mathématique du mouvement brownien de rotation," Ph.D. thesis, Université de Paris (1928). 00123.
Cité page 25

[49] F. Perrin, "Mouvement brownien d'un ellipsoide (II). rotation libre et dépolarisation des fluorescences. translation et diffusion de molécules ellipsoidales," J. Phys. Radium **7**, 1–11 (1936). 00834.
Cité page 25

[50] E. M. Purcell, "Life at low reynolds number," American Journal of Physics **45**, 3 (1977). 00000.
Cité page 28

[51] G. Miño, T. Mallouk, T. Darnige, M. Hoyos, J. Dauchet, J. Dunstan, R. Soto, Y. Wang, A. Rousselet, and E. Clement, "Enhanced diffusion due to active swimmers at a solid surface," Physical Review Letters **106** (2011). 00000.
Cité pages 29 et 30

[52] A. Jepson, V. A. Martinez, J. Schwarz-Linek, A. Morozov, and W. C. K. Poon, "Enhanced diffusion of nonswimmers in a three-dimensional bath of motile bacteria," Physical Review E **88** (2013). 00007.
Cité page 29

[53] H. Chaté, F. Ginelli, and F. Raynaud, "Collective motion of self-propelled particles interacting without cohesion," Physical Review E **77** (2008). 00166.
Cité page 30

[54] P. Tabeling, *Introduction a la microfluidique* (Belin, Paris, 2003). 00101.
Cité pages 34 et 90

[55] G. B. Jeffery, "The motion of ellipsoidal particles immersed in a viscous fluid," Proc. R. Soc. Lond. A **102**, 161–179 (1922). 02483.
Cité pages 34, 71, 73, 77, 80, et 99

[56] Marcos, H. Fu, T. Powers, and R. Stocker, "Separation of microscale chiral objects by shear flow," Physical Review Letters **102** (2009). 00000.
Cité page 35

[57] Marcos, H. C. Fu, T. R. Powers, and R. Stocker, "Bacterial rheotaxis," Proceedings of the National Academy of Sciences **109**, 4780–4785 (2012). 00000.
Cité pages 35, 71, 101, 102, et 126

[58] C. Dombrowski, L. Cisneros, S. Chatkaew, R. E. Goldstein, and J. O. Kessler, "Self-concentration and large-scale coherence in bacterial dynamics," Physical Review Letters **93** (2004). 00307.
Cité pages 51 et 68

[59] X.-L. Wu and A. Libchaber, "Particle diffusion in a quasi-two-dimensional bacterial bath," Physical Review Letters **84**, 3017 (2000). 00319.
Cité page 52

[60] J. Gachelin, A. Rousselet, A. Lindner, and E. Clement, "Collective motion in an active suspension of escherichia coli bacteria," New J. Phys. **16**, 025003 (2014). 00001.
Cité page 52

[61] B. Delaunay, "Sur la sphere vide," Izv. Akad. Nauk SSSR, Otdelenie Matematicheskii i Estestvennyka Nauk **7**, 1–2 (1934). 01733.
Cité page 63

[62] A. Rebbapragada, M. S. Johnson, G. P. Harding, A. J. Zuccarelli, H. M. Fletcher, I. B. Zhulin, and B. L. Taylor, "The aer protein and the serine chemoreceptor tsr independently sense intracellular energy levels and transduce oxygen, redox, and energy signals for escherichia coli behavior," Proceedings of the National Academy of Sciences **94**, 10541–10546 (1997). 00205.
Cité page 69

[63] G. Taylor, "Dispersion of soluble matter in solvent flowing slowly through a tube," Proceedings of the Royal Society A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences **219**, 186–203 (1953). 04074.
Cité page 71

[64] R. Aris, "On the dispersion of a solute in a fluid flowing through a tube," Proceedings of the Royal Society A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences **235**, 67–77 (1956). 02240.
Cité page 71

[65] A. Zöttl and H. Stark, "Nonlinear dynamics of a microswimmer in poiseuille flow," Phys. Rev. Lett. **108**, 218104 (2012). 00019.
Cité page 78

[66] A. Zöttl and H. Stark, "Periodic and quasiperiodic motion of an elongated microswimmer in poiseuille flow," The European Physical Journal E **36** (2013). 00004.
Cité page 78

[67] C. Hohenegger and M. J. Shelley, "Dynamics of complex biofluids," New Trends in the Physics and Mechanics of Biological Systems : Lecture Notes of the Les Houches Summer School : Volume 92, July 2009 **92**, 65 (2011). 00002.
Cité page 79

[68] B. Ezhilan and D. Saintillan, "Transport and rheology of a dilute active suspension in pressure-driven channel flow," Journal of Fluid Mechanics (2014). (submitted).
Cité pages 85 et 104

[69] R. Rusconi, J. S. Guasto, and R. Stocker, "Bacterial transport suppressed by fluid shear," Nature Physics **10**, 212–217 (2014). 00003.
Cité pages 85 et 104

[70] Pahlavan, A. Alizadeh, and D. Saintillan, "Instability regimes in flowing suspensions of swimming micro-organisms," Physics of Fluids **23**, 011901–011901–18 (2011). 00011.
Cité page 89

[71] I. Goldhirsch and C. Goldenberg, "On the microscopic foundations of elasticity," The European Physical Journal E : Soft Matter and Biological Physics **9**, 245–251 (2002). 00135.
Cité page 93

[72] C. Goldenberg and I. Goldhirsch, "Small and large scale granular statics," Granular Matter **6**, 87–96 (2004). 00047.
Cité page 93

[73] D. Saintillan and M. J. Shelley, "Active suspensions and their nonlinear models," Comptes Rendus Physique **14**, 497–517 (2013). 00008.
Cité page 109

[74] J. Gachelin, G. Miño, H. Berthet, A. Lindner, A. Rousselet, and r. Clément, "Non-newtonian viscosity of escherichia coli suspensions," Phys. Rev. Lett. **110**, 268103 (2013). 00011.
Cité page 109

[75] P. Galambos and F. Forster, "An optical micro-fluidic viscometer," ASME Int. Mech. Eng. Cong. Exp., Anaheim, CA pp. 187–191 (1998). 00013.
Cité pages 110, 111, 112, et 126

[76] P. Guillot, P. Panizza, J.-B. Salmon, M. Joanicot, A. Colin, C.-H. Bruneau, and T. Colin, "Viscosimeter on a microfluidic chip," Langmuir **22**, 6438–6445 (2006). 00081.
Cité pages 110, 111, et 126

[77] P. Nghe, “Ecoulements de fluides complexes en géométries microfluidiques,” Ph.D. thesis, UPMC, Paris (2010). 00000.
Cité pages 110 et 126

[78] G. K. Batchelor, *An introduction to fluid dynamics* (Cambridge University Press, Cambridge, U.K. ; New York, NY, 1967). 00007.
Cité page 115

[79] W. Ostwald, “Ueber die rechnerische darstellung des strukturgebietes der viskosität,” Kolloid-Zeitschrift **47**, 176–187 (1929). 00023.
Cité page 122

[80] H. M. Lopez, J. Gachelin, C. Douarche, H. Auradou, and E. Clement, “Turning bacteria suspensions into a "superfluid",” Nature (2014). (submitted).
Cité page 123

Jérémie GACHELIN **19 décembre 2014**

Sujet : Rhéologie et comportement de suspensions de Escherichia Coli en milieux confinés

Résumé : Lorsque des particules actives, des particules pouvant se mouvoir par elles-mêmes, sont mises en suspension dans un fluides, celles-ci peuvent avoir un comportement collectif. Dans ce document, nous présentons des travaux expérimentaux utilisant des Escherichia Coli, une particule biologique, des techniques microfluidiques, ainsi que des simulations numériques. Ceux-ci nous ont permis de caractériser les comportements collectifs de ces nageurs, leur modification en présence d'un cisaillement extérieur ainsi que l'impact de ces comportements microscopiques sur sa viscosité. Nous avons ainsi mis au jour le caractère progressif de l'apparition des mouvements collectifs avec la concentration, l'existence d'un taux de cisaillement critique commun pour les comportements individuels et collectifs des nageurs, ainsi qu'une rhéologie non-newtonienne de ces suspensions.

Mots clés : Escherichia Coli, rhéologie, particules actives, suspensions actives, mouvements collectifs, microfluidique, bactérie

Subject : Rheology and behavior of confined Escherichia Coli suspensions

Abstract : If we put active particles, ie. motile particles, in suspension into a fluid, collective behaviors can occur. In this document, we present experimental works using Escherichia Coli, a biological particle, microfluidic devices, and numerical simulations. By these ways, we caracterized these swimmers, their collective motions, the impact of an external shear on their behavior, and rheological behavior of this kind of suspensions. We show that the typical size of these collective motions increases smoothly with the volume fraction, and that a critical shear rate exist and is the same for individual and collective motion under shear. We also show for that bacterial suspensions have a non-newtonian viscosity and describe their rheological behavior.

Keywords : Escherichia Coli, rheology, active particules, active matter, collective motion, microfluidic, bacteria