

Ecole Doctorale

*Matière, Molécules et Matériaux*

*Laboratoire d'Optique et de Magnétisme*

**AVIS DE SOUTENANCE DE THESE**

**Le vendredi 18 décembre 2020 à 10h**

à l'Université Saint Joseph - Faculté des Sciences - Beyrouth.

**Monsieur LOUTFI HADI**

soutiendra une thèse de doctorat sur le sujet suivant :

"Caractérisation optique par speckle polarisé des cristaux et des spores synthétisés par Bacillus thuringiensis "

**Le jury sera ainsi composé :**

- **MME ABOUD MARIE, Enseignant-Chercheur**  
Université Saint-Joseph - BEYROUTH 1107-2050 - LIBAN
- **MME KALLASSY MIREILLE, Professeure**  
Université St Joseph Beyrouth - Beyrouth 11007 2050
- **M. LE BRUN GUY, Maître de conférences**  
Univ. de Bretagne Occidentale - BREST
- **M. LE JEUNE BERNARD, Professeur des universités**  
Univ. de Bretagne Occidentale - BREST
- **M. LTEIF ROGER, Professeur**  
Université Saint Joseph Beyrouth - Beyrouth 1107 2050
- **M. PELLEN FABRICE, Maître de conférences**  
Univ. de Bretagne Occidentale - BREST
- **M. PICART PASCAL, Professeur**  
ENSIM - LE MANS
- **M. SAAB JOSEPH, Professeur**  
Dean of the Doctoral College - USEK

A BREST, le 10 décembre 2020

Le Président de l'Université de  
Bretagne Occidentale,



A handwritten signature in black ink, appearing to read 'J. Gallo'.

**M. GALLOU**

**Titre :** Caractérisation optique par speckle polarisé des cristaux et des spores synthétisés par *Bacillus thuringiensis*

**Mots clés :** Speckle, taille de grain de speckle, contraste spatial, *Bacillus thuringiensis*, cristal, spore.

**Résumé :** L'objectif de cette thèse était de démontrer l'efficacité de l'analyse du champ de speckle pour caractériser, d'une part, la fermentation des bactéries de *Bacillus thuringiensis*, l'un des microorganismes les plus fréquemment utilisés comme biopesticide et, d'autre part, les cristaux et les spores que génèrent ces bactéries. Le speckle correspond à l'aspect granuleux de l'intensité d'une lumière cohérente, un faisceau laser en l'occurrence, diffusée par une surface rugueuse ou un milieu contenant des particules diffusantes. La première étape de ce travail a consisté en une étude morphologique des cristaux et des spores de neuf souches différentes de *B. thuringiensis*. L'analyse d'images obtenues au microscope électronique à balayage (MEB) a montré la proximité de la taille moyenne des cristaux des souches appartenant à un même *serovar*. Par contre, des variations dans la taille et la forme des spores au sein d'un même *serovar* ont été observées, dont les origines restent encore à explorer. Cette première étape était indispensable pour déterminer la forme et la taille des diffuseurs appelés à interagir avec l'onde optique utilisée comme outil d'investigation. Dans un second temps, une nouvelle étude a été mise en place dans le but de déterminer la configuration expérimentale la plus adaptée et les paramètres issus du speckle à exploiter pour suivre, en temps réel, la croissance bactérienne. Deux configurations expérimentales ont été envisagées : en transmission et en rétrodiffusion. Les cristaux, les spores et les bactéries de *B. thuringiensis* ont été modélisés par des microbilles calibrées. L'influence de la dynamique du

milieu et l'effet du changement du coefficient de diffusion sur le temps caractéristique ont été analysés. Pour les deux configurations, l'exploitation des paramètres spatiaux issus des images de speckle s'est avérée pertinente, et c'est en particulier l'analyse de la taille des grains de speckle en configuration de transmission qui a été retenue. Une fois déterminés la configuration expérimentale optimale, ainsi que les paramètres pertinents à exploiter, il a été possible de suivre, en temps réel, la cinétique de croissance bactérienne de différentes souches de *B. thuringiensis* par analyse du champ de speckle. Simultanément, des mesures de référence en microbiologie, comme la densité optique, le pH du milieu ainsi que l'Unité Formant Colonie ont été effectuées. Nos résultats ont montré que la taille des grains de speckle et le contraste spatial diminuent avec la croissance bactérienne et une analyse statistique a révélé une corrélation élevée entre les paramètres issus de l'analyse du champ de speckle et les paramètres de références. De plus, ces grandeurs issues de speckle ont montré leur sensibilité aux conditions de fermentation.

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre d'un projet Européen ERANETMED (FP7) 2017-2020 intitulé "BIOSMAN" (Towards real-time monitoring of *Bacillus thuringiensis* biopesticides production using laser speckle imaging within a Mediterranean area network) qui associe l'Université Saint Joseph de Beyrouth (Liban), le Centre de Biotechnologie de Sfax (Tunisie) et le laboratoire OPTIMAG (Université de Bretagne Occidentale - France).

---

**Title:** Optical characterization by polarized speckle of crystals and spores synthesized by *Bacillus thuringiensis*

**Keywords:** Speckle, speckle grain size, spatial contrast, *Bacillus thuringiensis*, crystal, spore.

**Abstract:** The main objective of this thesis was to demonstrate the efficiency of speckle field analysis to characterize, on one hand, the fermentation process of *Bacillus thuringiensis* bacteria, microorganism that is the most frequently used as a biopesticide and, on the other hand, the crystals and spores that generate these bacteria. The speckle is the granular aspect of the intensity of coherent light (in our case a laser beam), diffused by a rough surface or a medium containing scattering particles. The first step of this work involved a morphological study of the crystals and spores of nine different strains of *B. thuringiensis*. The analysis of images obtained with a scanning electron microscope (SEM) showed the proximity of the mean crystal size of the strains belonging to the same *serovar*. However, variations in spore size and shape within the same *serovar* have been observed, where the origins of which have yet to be explored. This study was essential to determine the shape and size of the diffusers that would interact with the laser photons used as a tool for our investigation. The second step of the work consisted on identifying the most suitable experimental configuration and on choosing the most efficient parameters derived from the speckle images obtained in order to follow, in real time, the bacterial growth. Thus we considered transmission and backscattering experimental configurations. In addition to that, the crystals, spores and bacteria of *B. thuringiensis* were modelled by calibrated microspheres. The results of this study

showed the influence of the dynamics of the medium and the effect of the variation of the scattering coefficient on the characteristic time. Even though the exploitation of spatial parameters from speckle images proved to be relevant for both configurations, the analysis of the speckle grain size in transmission configuration was retained. Once the optimal experimental configuration as well as the relevant parameters were determined, it was possible to follow, in real time, the bacterial growth kinetics of different strains of *B. thuringiensis* by speckle field analysis. Simultaneously, reference measurements in microbiology, such as optical density, pH of the medium and the Colony Forming Unit were carried out. Our results showed that speckle grain size and spatial contrast decrease with bacterial growth and a statistical analysis revealed a high correlation between the parameters extracted from the speckle field analysis and the reference ones. Moreover, these speckle-derived quantities showed their sensitivity to the variation of the fermentation conditions.

This thesis is part of an European ERANETMED (FP7) 2017-2020 project entitled "BIOSMAN" (Towards real-time monitoring of *Bacillus thuringiensis* biopesticides production using laser speckle imaging within a Mediterranean area network) which associates Saint Joseph University (Beirut - Lebanon), the Biotechnology Center of Sfax (Tunisia) and OPTIMAG Laboratory (University of Western Brittany - France).