UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

CONTRÔLE TRIDIMENSIONNEL DE BACTÉRIES MAGNÉTOTACTIQUES AGISSANT COMME MICROROBOTS POUR LE TRANSPORT ACTIF DE MÉDICAMENT VERS UNE TUMEUR

DOMINIC DE LANAUZE

INSTITUT DE GÉNIE BIOMÉDICAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION

DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES

(GÉNIE BIOMÉDICAL)

AVRIL 2013

© Dominic de Lanauze, 2013.

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé:

CONTRÔLE TRIDIMENSIONNEL DE BACTÉRIES MAGNÉTOTACTIQUES AGISSANT COMME MICROROBOTS POUR LE TRANSPORT ACTIF DE MÉDICAMENT VERS UNE TUMEUR

présenté par : DE LANAUZE Dominic

en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliquées

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

Mme CHERIET Farida, Ph.D., présidente

M. MOHAMMADI Mahmood, Ph.D., membre et directeur de recherche

M. MARTEL Sylvain, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

M. GOSSELIN Frédérick, Ph.D., membre

DÉDICACE

À la mémoire de M. Roger A. Blais (1926-2009)

REMERCIEMENTS

Ce projet de recherche n'aurait pu être réalisé sans la contribution importante de nombreuses personnes.

Je tiens tout d'abord à remercier le Dr. Mahmood Mohammadi pour la qualité de l'encadrement dont il m'a fait profiter tout au long de ce projet en partageant ses connaissances. Son soutien, ses nombreux conseils et la confiance qu'il m'a témoignés sont autant d'éléments qui ont contribué à me transmettre sa passion pour la recherche ainsi que sa vision positive.

Je remercie également le Dr. Sylvain Martel d'avoir bien voulu me considérer comme candidat apte à faire une contribution en acceptant de m'inclure dans l'équipe du laboratoire de NanoRobotique et de m'avoir encouragé à participer à des projets de recherches stimulants et innovateurs. Il a su contribuer à ma maturité en m'inculquant la soif pour d'apprendre tout aussi bien qu'une ouverture d'esprit pour des projets hors de l'ordinaire.

Je tiens à remercier mes modèles et mentors qui ont su m'encourager et m'appuyer tout au long de ce périple: le Dr. Ouajdi Felfoul pour son encadrement, ses conseils et son soutien et M. Nasr Tabatabaei pour ses conseils et encouragements qui se sont avérés indispensables.

Je remercie également mes éditeurs, Viviane Lalande et Manuel Vonthron pour leur appui tout au long de mon projet de recherche ainsi que lors de la révision de ma rédaction.

Je tiens évidemment à remercier tous les membres du laboratoire de NanoRobotique qui ont, tous et chacun, contribué d'une façon ou d'une autre au succès de ce projet de recherche : Mme Samira Taherkhani, M. Charles Tremblay, M. Michael Atkin, Mme Neila Kaou, M. Alexandre Bigot, Mme Nina Olamaei, M. Benjamin Conan, Mme Azadeh Sharafi, M. Guillermo Vidal, M. Hussein Salama, Mme Nysrin Mokrani et Mme Jacinthe Lapointe.

Je tiens également à remercier M. Daniel Houle pour son intérêt et sa contribution au cours des expériences in vivo et aussi pour m'avoir transmis la passion de découvrir et d'explorer de nouvelles sphères scientifiques.

Finalement, je tiens de tout mon cœur à remercier ma famille, dont mes parents pour leur encouragement, mes trois frères Patrick, Justin et Simon pour leur soutien, ma belle Émilie Champagne pour son appui, ainsi que mes amis pour leur compréhension.

Merci à vous tous!

RÉSUMÉ

En 2012, le cancer se classait comme première cause de mortalité au Canada. Parmi les traitements disponibles pour contrer cette maladie, la chimiothérapie demeure un des traitements les plus utilisés. Malgré les progrès au niveau du développement de nouveaux agents thérapeutiques utilisés en chimiothérapie, leur manque de spécificité envers les cellules cancéreuses entraîne d'importants effets secondaires chez les patients. En effet, le fonctionnement de cette thérapie, administrée de façon systémique, repose sur la diffusion passive du médicament à travers l'organisme du patient dans l'espoir qu'une portion de la dose administrée entre en contact et affecte les cellules cancéreuses. Malheureusement, en utilisant un tel système de livraison d'agents thérapeutiques, la dose thérapeutique administrée au patient dépasse largement celle que le site tumoral nécessite et l'excédent affecte négativement les régions saines.

Le laboratoire de NanoRobotique de l'École Polytechnique de Montréal mise actuellement sur une nouvelle plateforme de livraison de médicaments qui permettra de complémenter les traitements de chimiothérapie. Cette plateforme cherche à exploiter les progrès technologiques en microrobotique afin de d'utiliser un microrobot autopropulsé et dirigeable à distance pouvant être guidé activement vers un site tumoral. La charge thérapeutique requise serait établie, ajoutée au biotransporteur et dirigée directement dans la tumeur. Ce faisant, les effets secondaires indésirables que les traitements de chimiothérapie causent actuellement aux régions saines du corps seraient réduits au grand bénéfice du patient.

Le microbiotransporteur retenu consiste en des bactéries magnétotactiques MC-1 ne mesurant que 2 µm de diamètre. Celles-ci peuvent être contrôlées à distance par l'intermédiaire de champs magnétiques. En effet, ces bactéries ont la capacité de s'orienter en fonction du champ magnétique grâce à la présence d'une chaîne de nanoparticules magnétiques contenues dans leur cellule.

L'objectif de ce projet de recherche était de développer une plateforme de contrôle beaucoup plus avancée pour regrouper les bactéries magnétotactiques en agrégats et de les diriger à distance et de façon tridimensionnelle à l'aide de techniques informatiques nouvellement crées et de valider nos résultats par des essais sur des animaux, anticipant la possibilité d'éventuellement l'appliquer à l'être humain.

Une analyse a d'abord été complétée sur le comportement des bactéries magnétotactiques en présence de champs magnétiques de haute intensité afin d'évaluer leurs limites de réaction. Une description de la nouvelle plateforme expérimentale initialement conçue est présentée. La conception d'un logiciel de simulation permettant de prédire le comportement de ces microorganismes lorsqu'exposés à des champs magnétiques générés à partir de cette plateforme est également décrite.

De plus, un second logiciel conçu spécifiquement pour contrôler cette nouvelle plateforme expérimentale est également présenté. Des techniques de contrôles permettant de produire des agrégats de bactéries magnétotactiques dans un environnement tridimensionnel et de les contrôler à distance sont mises de l'avant. Ces techniques de contrôle permettant de contrôler tridimensionnellement ces microorganismes sont validés expérimentalement in vitro, une première dans le domaine de la microrobotique. Des expériences in vivo impliquant des souris sont également présentées et confirment notre capacité à contrôler ces bactéries à l'intérieur des tissus d'un animal vivant.

De plus, ce rapport fait également état d'un prototype d'instrument médical produit au laboratoire de NanoRobotique. Cet instrument, développé en collaboration avec des oncologues de l'hôpital général juif de Montréal, est dédié à la livraison de médicaments pour traiter le cancer colorectal utilisant la méthode de livraison de médicaments présentée et développée dans ce projet. Sa description est présentée en annexe.

ABSTRACT

In 2012, cancer was ranked as the leading cause of death in Canada. Among the treatments available for this disease, chemotherapy remains one of the most used treatments. Despite progress in the development of new therapeutic agents used in chemotherapy, their lack of specificity to reach cancer cells results in significant side effects in patients. Indeed, the application of this systemically administered therapy is based on the passive diffusion of the drug throughout the patient's body in the hope that a sufficient quantity will reach the cancer cells. Unfortunately, this method of delivering therapeutic agents requires doses that far exceed the dose required for the tumor and the excess negatively affects healthy regions.

The NanoRobotics laboratory of École Polytechnique de Montreal is currently developing a new drug delivery platform that could complement chemotherapy treatment. The platform seeks to exploit technological advances in microrobotics to make use of a self-propelled microrobot that can be remotely guided to a tumor site. The proper amount of medication would be determined, loaded onto the microrobot and channeled directly to the tumor. In doing so, the adverse side-effects that chemotherapy treatment to non-selected areas of the body now causes would be reduced to benefit of the patient’s well-being.

The microbiotransporter is made up of MC-1 magnetotactic bacteria measuring only 2 μm in diameter. They can be remotely controlled via magnetic fields. Indeed, these bacteria have the ability to be guided by the magnetic field due to the presence of a chain of magnetic nanoparticles contained in the cell.

The objective of this research project was to develop a more advanced control platform to aggregate magnetotactic bacteria and remotely direct them in a three-dimensional manner using newly created computer software and to validate our results by experiments on animals, anticipating the opportunity of applying this technology on humans.

An analysis was first conducted on the behavior of magnetotactic bacteria when exposed to high intensity magnetic fields in order to assess their control limitations. A description of the newly designed experimental platform is presented. Also described is the simulation software that was conceived to predict the behavior of these organisms when exposed to the platform’s magnetic fields.

In addition, three-dimensional software specifically designed to control this new experimental platform along with control techniques able to produce and remotely generate and direct aggregates of magnetotactic bacteria in a three-dimensional environment are described. These three-dimensional control techniques for these microorganisms have been validated experimentally in vitro, which is a first in the field of microrobotics. In vivo experiments involving mice are also presented and confirm our ability to control these bacteria within the tissues of a living animal.

Moreover, this report also describes the prototype of a medical device which was simultaneously created in the NanoRobotics laboratory. This instrument, developed in collaboration with oncologists at the Jewish General Hospital in Montreal, was constructed to assist in the delivery of drugs to treat colorectal cancer based on the use of our drug delivery system described in this research. Its description is presented in Appendix 3.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE III

REMERCIEMENTS IV

RÉSUMÉ VI

ABSTRACT VIII

TABLE DES MATIÈRES X

LISTE DES TABLEAUX XIV

LISTE DES FIGURES XV

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS XXIII

LISTE DES ANNEXES XXIV

INTRODUCTION 1

CHAPITRE 1 REVUE DE LITTÉRATURE 2

1.1 Le cancer 2

1.2 Problématique 6

1.3 Vision du projet 7

1.4 Environnement tumoral 8

1.5 La microrobotique 10

1.5.1 Microrobots artificiels 11

1.5.2 Microrobots naturels 15

1.6 Les bactéries magnétotactiques (MTB) 17

1.6.1 Description des MTB 17

1.6.2 Choix et caractéristiques de MC-1 19

1.6.3 Contrôle magnétique de MTB 20

1.7 Objectifs de recherche 23

CHAPITRE 2 MÉTHODOLOGIE DE RECHERCHE 25

CHAPITRE 3 PERPETUAL NORTH/SOUTH POLARITY REVERSAL IN MAGNETOTACTIC BACTERIA *MAGNETOCOCCUS MARINUS* EXPOSED TO HIGH STATIC MAGNETIC FIELDS 28

3.1 Introduction 28

3.2 Materials and Methods 30

3.2.1 Cell culture and light and electron microscopy 30

3.2.2 Magnetic resonance imaging (MRI) 31

3.3 Results and Discussion 31

3.4 Conclusions 43

CHAPITRE 4 DÉVELOPPEMENT D'APPLICATIONS INFORMATIQUES POUR LE CONTRÔLE DE MTB DANS UN ENVIRONNEMENT TRIDIMENSIONNEL 45

4.1 Contraintes de développement 45

4.2 Description de la plateforme 46

4.2.1 Générateur de champs magnétiques 47

4.2.2 Caractérisation des bobines électriques du montage 50

4.2.3 Sources de tension 51

4.3 Description du logiciel de simulation 51

4.3.1 Équations mathématiques 51

4.3.2 Simulation du déplacement de MTB 55

4.4 Description du logiciel de contrôle du montage expérimental 58

4.4.1 Description du logiciel de contrôle 58

4.4.2 Protocole de communication 60

4.4.3 Mesure du temps d'envoi des commandes 61

4.5 Limitations 62

4.6 Conclusion 63

CHAPITRE 5 THREE-DIMENSIONAL REMOTE AGGREGATION AND STEERING OF MAGNETOTACTIC BACTERIA MICROROBOTS FOR DRUG DELIVERY APPLICATIONS 64

5.1 Introduction 64

5.2 Model, Experimental Setup and Simulations 66

5.3 Materials and Methods 76

5.3.1 Magnetotaxis Platform 76

5.3.2 MTB Preperation 76

5.3.3 Validation of MTB Aggregation 76

5.3.4 Validation of MTB Swarm Control 78

5.3.5 3D Aggregation 81

5.4 Results and Discussion 82

5.5 Conclusion 89

CHAPITRE 6 VALIDATION DU CONTRÔLE TRIDIMENSIONNEL DES MTB *IN VIVO* 91

6.1 Introduction 91

6.2 Matériel et méthodes 93

6.2.1 Préparation des MTB 93

6.2.2 Injection des MTB 94

6.2.3 Plan expérimental 95

6.2.4 Champs magnétiques 98

6.2.5 Analyse des organes 104

6.3 Résultats 105

6.3.1 Expérience 1 105

6.3.2 Expérience 2 106

6.3.3 Expérience 3 107

6.4 Discussion et conclusion 108

CHAPITRE 7 DISCUSSION GÉNÉRALE 112

7.1 Sommaire des travaux 112

7.2 Contribution au domaine médical 114

7.3 Limitations 115

CHAPITRE 8 RECOMMANDATIONS 117

8.1.1 « Registration » : Étalonnage de la plateforme magnétique 117

8.1.2 Choix des séquences de champs magnétiques 117

8.1.3 Logiciel de contrôle 118

8.1.4 Tests in vivo à l'intérieur d'un tissu tumoral 118

CONCLUSION 119

RÉFÉRENCES 120

ANNEXES 125

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 4-1: Tableau des paramètres de simulation requis pour les bobines électriques du générateur de champs magnétiques 50

Tableau 4-2: Exemple de séquence magnétique composée de 6 configurations magnétiques 57

Table 5-1: Example of a magnetic field sequence tested for convergence using our convergence algorithm. 73

Table 5-2: Magnetic field sequence 1 75

Table 5-3: Magnetic field sequence 2 75

Table 5-4: Magnetic field sequence 3 75

Table 5-5: Parameters of the magnetic field sequence 3 with a modified current ratio for the electric coils along the X axis leading to theoretical 1.2 cm shift in the MTB aggregation position along the X axis' positive direction in the experimental setup. 80

Tableau 6-1: Tableau de répartition des souris par groupe selon les critères de l'expérience 1..... 96

Tableau 6-2: Tableau de répartition des souris par groupe selon les critères de l'expérience 2..... 97

Tableau 6-3: Tableau de répartition des souris par groupe selon les critères de l'expérience 3..... 98

Tableau 6-4: Séquence magnétique utilisée à l'intérieur de la plateforme expérimentale pour l'expérience 1 99

Tableau 6-5: Séquence magnétique utilisée à l'intérieur de la plateforme expérimentale pour l'expérience 2 101

Tableau 6-6: Séquence magnétique utilisée à l'intérieur de la plateforme expérimentale pour l'expérience 3 103

LISTE DES FIGURES

Figure 1-1: Causes et proportions de la mortalité au Canada en 2012 [1] 3

Figure 1-2: Schéma de la structure de la revue de littérature sur la microrobotique. 11

Figure 1-3: Schéma de la force magnétique exercée sur une particule magnétique en présence d'un gradient magnétique. 14

Figure 1-4: Schéma du fonctionnement d'un flagelle artificiel propulsé par un champ magnétique rotatif externe induisant un moment magnétique sur la tête magnétisée du dispositif. 14

Figure 1-5: (*A*) Schéma du moment magnétique induit sur une bactérie magnétotactique présente dans un champ magnétique uniforme. (*B*) Photographie d'une bactérie magnétotactique prise à l'aide d'un microscope électronique dans laquelle nous apercevons la chaîne de magnétosomes (nanoparticules magnétiques). 17

Figure 1-6: Organigramme de la hiérarchie taxonomique des bactéries magnétotactiques [34]. ..19

Figure 1-7: Schéma du montage expérimental utilisé pour construire une micropyramide à l'aide de MTB. 22

Figure 2-1: Plan de la méthodologie recherche ainsi que de la structure du mémoire. 25

Figure 3-1: (*A*) Magnetic torque exerted on the magnetosome chain of cells of the polar magnetotactic bacterium *Magnetococcus marinus* strain MC-1 in a magnetic field. (*B*) Representation of the swimming direction relative to the magnetic field for north-seeking (NS) and south-seeking (SS) cells. 28

Figure 3-2: Transmission electron microscopy (TEM) images of cells from the two populations of *M. marinus* used in this study. (*A*-*C*) TEM images of cells harvested later in growth with complete magnetosome chains. (*D*-*F*) TEM images of cells harvested early in growth with shorter/incomplete magnetosome chains. 32

Figure 3-3: Theoretical coercive field (H_c) of magnetosome chains containing magnetite nanoparticles according to the chain of spheres model. 35

Figure 3-4: In a mixture of nonmagnetic and magnetic cells, the oxic and anoxic zones have been created by cells of the nonmagnetic mutant (*A*), the lines depicted in *C*, *D*, *E*, *F* show the swimming path of cells during 200 ms. Oxygen influences the swimming speed of magnetic

cells and therefore in the anoxic zones (*C* and *E*) the cells' swimming speed is considerably lower than that observed in the oxic zones (*D* and *F*). In oxic, anoxic zones and in a 20 gauss magnetic field, the swimming direction of cells is only influenced by the direction of the magnetic field. 36

Figure 3-5: Ratio of cells of *M. marinus* that change polarity when encountering the air-water interface of the droplet when exposed to different magnetic field strengths. 37

Figure 3-6: Ratio of NS and SS cells in samples of cell suspensions of *M. marinus* exposed to a 1.5 Tesla (15,000 gauss) MRI magnetic field. 38

Figure 3-7: Statistical comparison of the two populations of *M. marinus* used in the experiments, one population containing complete magnetosome chains and the other, shorter incomplete chains. (*A*) Histogram of the number of magnetosomes in the chains for each population. (N=100) (*B*) Histogram of the radius of the magnetosomes in each population (N=100).....39

Figure 3-8: (*A*) Schematic representation of the two identical drops of a suspension of cells of *M. marinus* in their initial magnetized state (mainly NS) positioned on a single microscope glass slide. Both drops were exposed to a common low strength magnetic field (~20 gauss). NS cells are represented as white spheres and SS cells as black spheres. (*B*) Optical microscopy image of the two identical adjacent drops in their initial magnetized state (mainly NS). Cells appear as small white lines that represent their swimming trajectory since an exposure time of 200 ms was used to capture the image. The white dots appearing in the center of the image (between the two drops) have no relevance since they represent cells outside the two drops. (*C*) Schematic representation of the two identical drops of the suspension of *M. marinus* having been magnetized in the opposite direction of their initial magnetization state (now mainly SS) positioned on a single microscope glass slide. Both drops were exposed to a common low strength magnetic field of ~20 gauss. NS cells are represented as white spheres and SS cells as black spheres. (*D*) Optical microscopy image of the same drops as in B having been magnetized in the opposite direction of their initial magnetization state (mainly SS). This remagnetization was induced by increasing the strength of the magnetic field to approximately 2,000 gauss for a period of 10 sec without changing the orientation of the field. Again, the white dots appearing in the center of the

image (between the two drops) have no relevance since they represent cells outside the two drops. 42

Figure 3-9: Setup of the device using permanent magnets generating a magnetic field layout used to create a population of *M. marinus* of a single NS polarity. Magnetic field intensity and orientation are represented using arrows. Contour lines represent positions where the magnetic field is constant. 43

Figure 4-1: Schéma des composantes de la plateforme expérimentale utilisée pour contrôler le déplacement de MTB dans un environnement tridimensionnel. (*A*) Ordinateur permettant de contrôler les sources de tension. (*B*) Concentrateur USB permettant de combiner six connexion USB en une seule. (*C*) Les six sources de tension permettant de fournir les courants requis pour alimenter le générateur de champs magnétiques. (*D*) Le générateur de champs magnétiques. 47

Figure 4-2: Photographies de la plateforme expérimentale. (*A*) L'écran d'ordinateur lors de l'exécution du logiciel de contrôle. (*B*) Les six sources de tension. (*C*) Les fils acheminant le courant provenant des sources de tension au générateur de champs magnétiques. (*D*) Le générateur de champs magnétiques. 47

Figure 4-3: Schéma des caractéristiques générales du générateur de champs magnétiques. (*A*) Perspective tridimensionnelle. (*B*) Vue de dessus (selon l'axe des Y). (*C*) Vue de face (selon l'axe des X). (*D*) Vue de côté (selon l'axe des Z). 49

Figure 4-4: Schéma du système de coordonnées utilisé pour calculer le champ magnétique à un point dans l'espace pour un fil circulaire transportant un courant i. 52

Figure 4-5: Capture de l'écran du logiciel de simulation développé pour simuler des champs magnétiques générés par la plateforme expérimentale. Un graphique tridimensionnel à gauche de l'interface présente le résultat de la simulation. Le panneau de configuration des paramètres de la simulation est présent du côté droit de l'interface. 54

Figure 4-6: Représentation tridimensionnelle des lignes de champ magnétique d'un monopole magnétique. Les flèches dans ce schéma représentent les lignes de champs magnétiques. La sphère au centre représente un monopole magnétique vers lequel les lignes de champ convergent. 56

Figure 4-7: Capture de l'écran de l'interface du logiciel de contrôle de la plateforme expérimentale. 59

Figure 4-8: Diagramme du fonctionnement séquentiel de l'interface de contrôle du montage expérimental 60

Figure 4-9: Mesure de l'activité magnétique à l'intérieur de la plateforme expérimentale lors de l'application de la séquence magnétique présentée au Tableau 4-2. Les creux du signal présenté correspondent aux moments où aucune activité magnétique n'est présente dans la plateforme, alors que les plateaux supérieurs indiquent une activité magnétique constante. 61

Figure 5-1: Microscopic images of MTB (white lines) responding to the presence of a 2 mT magnetic field induction oriented in different directions. The white dots in the background are immobilised bacteria on the surface of the microscope slide and should be ignored. The white arrows indicate the swimming direction of the MTB. The red tip of the compass needle appearing in each frame indicates the direction of the applied magnetic field. Images were acquired using a Zeiss Imager.Z1 optical microscope in dark field reflexion mode using an exposure time of 200 ms. 65

Figure 5-2: Three-dimensional vector plot of a theoretical magnetic field having all its magnetic field lines oriented towards a common point in space, giving rise to a magnetic monopole. The blue arrows represent the intensity and orientation of the magnetic induction at that point. *(A)* Three-dimensional perspective view of the magnetic field vectors. *(B)* X-Y view of the magnetic field vectors. (C) Y-Z view of the magnetic field vectors. (D) X-Z view of the magnetic field vectors. 67

Figure 5-3 : Schematic representation of three orthogonal pairs of electric coils positioned in a Maxwell configuration that make-up the magnetotaxis platform used to generate different magnetic field geometries. 68

Figure 5-4: Example of the resulting simulated magnetic field geometry generated inside the 3D magnetotaxis platform when both coil pairs along the X and Y axis are each carrying 40 A. The blue arrows represent the intensity and orientation of the magnetic induction at that point. *(A)* Three-dimensional perspective view of the magnetic field vectors. *(B)* X-Y view of the magnetic field vectors. (C) Y-Z view of the magnetic field vectors. (D) X-Z view of the magnetic field vectors. 69

Figure 5-5: Coordinate system representation of a single current carrying circular wire used as a base element for the simulation of electric coils. 69

Figure 5-6: Graphical representation of the magnetic field components used in the simulations to calculate the speed and direction of the MTB swimming trajectory. A schematic bacterium is presented as following the magnetic field vector *B*. 71

Figure 5-7: Three-dimensional vector field representation of the summed normalized magnetic field configurations of the magnetic field sequence presented in Table 5-1. This vector field covers a 125 cm^3 region centered in the middle of the magnetic field setup. The blue arrows represent the intensity and orientation of the magnetic induction at that point. *(A)* Three-dimensional perspective view of the magnetic field vectors. *(B)* X-Y view of the magnetic field vectors. (C) Y-Z view of the magnetic field vectors. (D) X-Z view of the magnetic field vectors. 73

Figure 5-8: Graphical representation of the simulation of eight MTB converging towards the center of a 125 cm^3 volume located at the center of the experimental setup. Each bacterium is initially located in one corner of the represented volume and is identified by a multitude of red circles appearing as red lines. *(A)* Three-dimensional perspective view of the MTB movement simulation. *(B)* X-Y view of the simulation. (C) Y-Z view of the simulation. (D) X-Z view of the simulation. 74

Figure 5-9: Pictures of two 5mL MTB filled vial placed vertically at the center of the experimental platform. Planar MTB aggregations in each vial (visible as white lines) were generated by activating a single pair of electric coils. The dotted lines in the picture demonstrate our ability to shift the aggregation of MTB by varying the current ratio in the pair of electric coils. 78

Figure 5-10: Graphical representation of the simulation result of the MTB aggregation shift along the X axis due to a decrease from 40:40 to 45:40 in the current ratio between the electric coils on this axis of the experimental setup. This simulation presents the movement of eight MTB (red circles) initially located in each corner of the 125 cm^3 volume presented. The resulting sequence from this current ratio variation leading to the simulation result presented in this figure is presented in Table 5-5. *(A)* Three-dimensional perspective view of the MTB

movement simulation. *(B)* X-Y view of the simulation. (C) Y-Z view of the simulation. (D) X-Z view of the simulation. 80

Figure 5-11: 3D MATLAB reconstruction of MRI images of the 3D glass maze injected with a gadolinium-based contrast agent solution. *(A)* Three-dimensional perspective view of the 3D maze. *(B)* X-Y view of the maze. (C) Y-Z view of the maze. (D) X-Z view of the maze.....82

Figure 5-12 : Pictures of MTB aggregation results using each of the three magnetic field sequences presented in tables 5-2 to 5-4. (A-C) MTB aggregation result in a 5mL MTB filled vial placed vertically at the center of the experimental setup for sequences 1, 2, and 3 respectively. The white arrows point to the resulting MTB aggregation. (D-F) MTB aggregation result in MTB filled 30 mm diameter petri dish placed horizontally in the experimental setup for sequences 1, 2, and 3 respectively.....82

Figure 5-13: Plot of the simulated migration of 28 MTB initially positioned along the extremity of a virtual 30 mm diameter petri dish positioned at the center of the experimental setup using sequence 2 with an exposure time of 3 seconds for a total period of 25 minutes. 84

Figure 5-14: Graphs of relative MTB concentration at the targeted area (middle of sample) for three different magnetic field sequences applied on a 1.2 mL MTB sample contained in a petri dish. (A) MTB concentration increase for sequence 1. (B) MTB concentration increase for sequence 2. (C) MTB concentration increase for sequence 3. 85

Figure 5-15: Pictures of the movement of an MTB aggregate along a predetermined cross shaped path within a petri dish positioned at the center of the platform. The MTB aggregate was generated using the magnetic field sequence 3 with an exposure time of 3 seconds. The movement of this MTB aggregate was generated using the current ratio variation technique. *(A)* Initial position of the MTB aggregate. *(B)* Movement of the aggregate towards the upper part of the petri dish. *(C)* Movement of the aggregate towards the right side of the petri dish. *(D)* Movement of the aggregate towards the left side of the petri dish. *(E)* Movement of the aggregate towards the bottom part of the petri dish. *(F)* Final position of the aggregate at the center of the petri dish. 87

Figure 5-16: Pictures showing a rectangular pattern of displacement of a MC-1 MTB aggregate (dense white blur) in a vial containing 15 mL volume of MTB solution. *(A)* MTB aggregate position when focusing the magnetic field sequence on the upper left part of the solution. *(B)*

MTB aggregate position when focusing the magnetic field sequence on the upper middle part of the solution. *(C)* MTB aggregate position when focusing the magnetic field sequence on the upper right part of the solution. *(D)* MTB aggregate position when focusing the magnetic field sequence on the bottom left part of the solution. *(E)* MTB aggregate position when focusing the magnetic field sequence on the bottom middle part of the solution. *(F)* MTB aggregate position when focusing the magnetic field sequence on the bottom right part of the solution. 88

Figure 5-17: 3D navigation of an MTB aggregate inside a chaotic network of interconnected hollow glass tubes. The MTB aggregate appears as a dense white spot identified by white arrows in the images. 89

Figure 6-1 : Anatomie générale de la souris [67]. La rate (en anglais « spleen ») est visible sur le flanc gauche de la souris à la droite de l'image. 92

Figure 6-2: Illustration de la technique d'injection directe dans la rate d'une souris. *(A)* Photographie d'une injection de MTB dans la rate d'une souris. *(B)* Schéma de la rate identifiant le point d'injection dans l'organe. La ligne pointillée délimite le côté injecté de l'organe du côté opposé. 94

Figure 6-3: Schéma représentant la partie inférieure du réseau sanguin de la souris [67]. La veine caudale y est représentée (en anglais « caudal vein »). 95

Figure 6-4: Graphiques illustrant le résultat de simulation de la séquence magnétique appliquée dans l'expérience 1. Les vecteurs bleus représentent la somme des champs magnétiques normalisés en ce point pour chaque configuration constituant la séquence. *(A)* Point de vue en perspective de l'ensemble du volume analysé situé au centre de la plateforme expérimentale. *(B)* Point de vue selon le plan X-Y de l'ensemble du volume représenté. (C) Point de vue selon le plan Y-Z de l'ensemble du volume représenté. (D) Point de vue selon le plan X-Z de l'ensemble du volume représenté. 100

Figure 6-5: Graphiques illustrant le résultat de simulation de la séquence magnétique appliquée dans l'expérience 2. Les vecteurs bleus représentent le champ magnétique à ce point dans la plateforme. *(A)* Point de vue en perspective de l'ensemble du volume analysé situé au centre de la plateforme expérimentale. *(B)* Point de vue selon le plan X-Y de l'ensemble du volume

représenté. *(C)* Point de vue selon le plan Y-Z de l'ensemble du volume représenté. *(D)* Point de vue selon le plan X-Z de l'ensemble du volume représenté. 102

Figure 6-6: Graphiques représentant le résultat de simulation de la séquence magnétique appliquée dans l'expérience 3. Les vecteurs bleus représentent la somme des champs magnétiques normalisés en ce point de chaque configuration constituant la séquence. *(A)* Point de vue en perspective de l'ensemble du volume analysé situé au centre de la plateforme expérimentale. *(B)* Point de vue selon le plan X-Y de l'ensemble du volume représenté. *(C)* Point de vue selon le plan Y-Z de l'ensemble du volume représenté. *(D)* Point de vue selon le plan X-Z de l'ensemble du volume représenté. 104

Figure 6-7: Graphique des pourcentages de MTB détectées dans le sang et les deux côtés de la rate par rapport à la quantité initialement injectée dans la rate de la souris dans le cadre de l'expérience 1 pour les trois groupes expérimentaux. 106

Figure 6-8 : Graphique des pourcentages de MTB détectées dans le sang et les deux côtés de la rate par rapport à la quantité de MTB initialement injectées dans la rate de la souris dans le cadre de l'expérience 2 pour les deux groupes expérimentaux. 107

Figure 6-9 : Graphique des pourcentages de MTB détectées dans le sang et la rate entière par rapport à la quantité de MTB initialement injectées dans la rate de la souris dans le cadre de l'expérience 3 pour les deux groupes expérimentaux. 108

Figure 7-1: Figure qui présente les caractéristiques de taille et de débit sanguin dans divers vaisseaux sanguins du corps humain. Image adaptée de [71]. Le débit sanguin moyen ainsi que le diamètre des vaisseaux sanguins sont identifiés. 115

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

MTB	Bactéries magnétotactiques (« Magnetotactic Bacteria »)
PBS	Tampon de phosphate salin (« Phosphate Buffer Saline »)
OAI	Interface oxique-anoxique (« Oxic-Anoxic Interface »)
OATZ	Zone de transition oxique-anoxique (« Oxic-Anoxic Transition Zone »)
TEM	Microscopie électronique en transmission (« Transmission Electron Microscopy »)
IV	Intraveineux
NS	À la recherche du Nord (« North Seeking »)
SS	À la recherche du Sud (« South Seeking »)

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Code Matlab du logiciel de simulation……...……. 125

Annexe 2 : Code informatique C# de la classe permettant d'établir une communication entre le logiciel de contrôle de la plateforme expérimentale et les sources de tension.....152

Annexe 3 : Rapport de développement d'un prototype d'instrument médical pour le traitement du cancer colorectal chez un humain……..…….……..157

INTRODUCTION

Le projet de recherche faisant état de ce mémoire s'est déroulé dans le cadre d'un projet de recherche de grande envergure au laboratoire de NanoRobotique de l'École Polytechnique de Montréal sous la supervision du Dr. Mahmood Mohammadi et du Dr. Sylvain Martel.

Ce projet de recherche, financé par le Consortium Québécois sur le Développement du Médicament (CQDM), vise à mettre au point une technique novatrice de livraison de médicaments contre le cancer pour les patients atteints d'un cancer colorectal. L'attribution de ce financement de la part du CQDM est le fruit des nombreux efforts des membres du laboratoire de NanoRobotique qui cherchent à utiliser des bactéries magnétotactiques (MTB) comme microrobots pour effectuer une grande variétés de tâches à l'échelle du micromètre, dont l'une d'entre elles est la mise au point d'un biotransporteur capable de transporter une charge thérapeutique à travers le système vasculaire d'un être vivant.

Le projet se déroule principalement au laboratoire de NanoRobotique de l'École Polytechnique de Montréal en collaboration avec divers autres laboratoires d'universités québécoises, dont l'Unité de recherche en histologie et de pathologie moléculaire de l'IRIC de l'Université de Montréal, le Laboratoire d'étude des auto-assemblages biomoléculaires du département de chimie de l'université de Montréal, le « McGill Centre for the Study of Host Resistance » de l'université McGill, et le Centre de recherche sur le cancer Rosalind & Morris Goodman de l'université McGill.

En tant qu'étudiant à la maîtrise en génie biomédical à l'École Polytechnique de Montréal, mon rôle consistait à travailler sur l'aspect technique de la plateforme expérimentale afin de mettre au point différentes techniques permettant de contrôler des MTB tridimensionnellement et à distance, à l'aide de champs magnétiques.

Les détails concernant mes objectifs de recherche ainsi que la méthodologie de recherche sont respectivement présentés aux chapitres 1 et 2 de ce mémoire.

CHAPITRE 1 REVUE DE LITTÉRATURE

Dans ce parcours de la littérature, nous débutons par un bref survol du cancer ainsi que des méthodes de traitements actuellement utilisées. Nous exposons ensuite les façons par lesquelles nous cherchons à améliorer les traitements du cancer par l'usage de la microrobotique et par les travaux de recherches préalablement effectués dans cette même optique pour finalement établir les différents objectifs de ce projet.

Il est à noter que nous fournirons en début de chapitre une revue plus détaillée de la littérature lorsque des notions plus précises seront requises.

1.1 Le cancer

Ce projet cherche à apprivoiser une des maladies les plus mortelles du début du 21e siècle : le cancer. Cette maladie se caractérise par la prolifération anormale de cellules dans l'organisme. Alors que les causes exactes de l'apparition d'un cancer ne sont toujours pas connues, les nombreux facteurs que sont, entre autre, l'usage du tabac, l'obésité, l'exposition à la radiation ont été identifiés comme des risques contributifs à son apparition. Le Canada considère cette maladie comme la plus importante cause de mortalité et prévoit que 75 700 personnes, soit 0,22% de la population, y succomberont en 2012 [1, 2]. Le diagramme de la Figure 1-1 indique la répartition des diverses causes de mortalité au Canada pour l'année 2012. Par ailleurs, aux États-Unis, il est prévu qu'annuellement 577 190 Américains, soit 0,19% de la population, en mourront en 2012 [3].

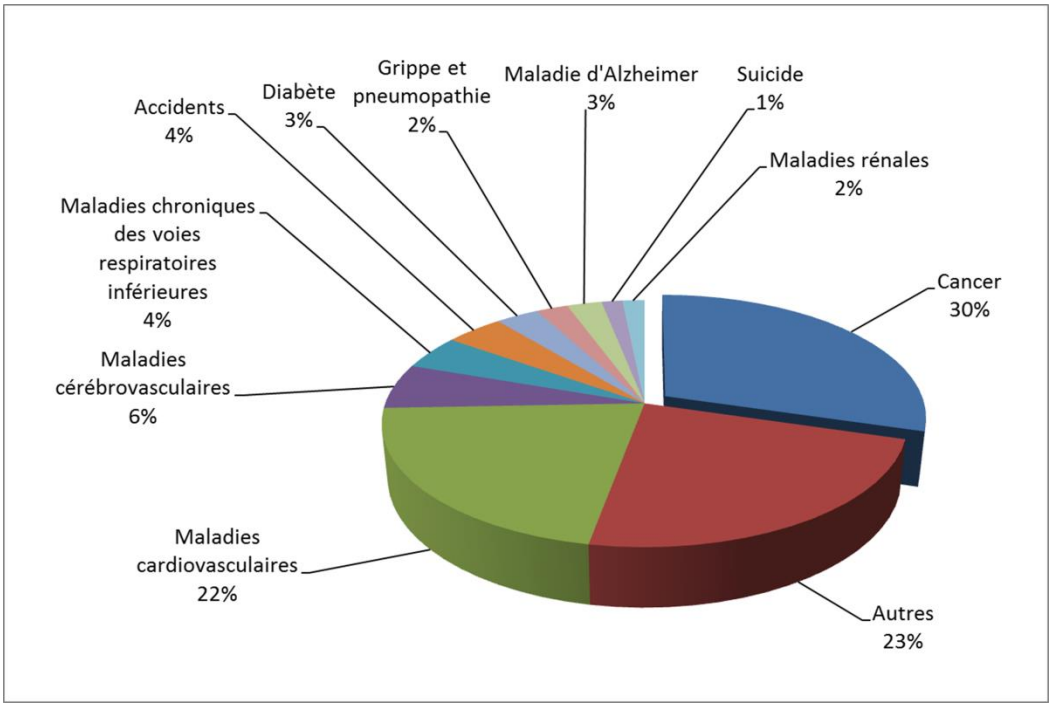


Figure 1-1: Causes et proportions de la mortalité au Canada en 2012 [1]

À ce jour, plus d'une centaine de types de cancer ont été identifiés, mais le cancer du poumon et le cancer colorectal sont annuellement responsables du plus grand nombre de décès, soit 29 400 décès tous sexes confondus.

Dans le cadre de ce projet de recherche, nos analyses ont été orientées vers le cancer colorectal, deuxième cancer le plus meurtrier, qui à lui seul provoque la mort prématurée d'environ 9 200 patients au Canada en 2012. Pour tenter d'enrayer ou de retarder les effets de ce cancer, les traitements dont peuvent bénéficier les patients sont les suivants :

1. Chirurgie

La chirurgie est une procédure localisée dont le but est de retrancher une partie ou l'entièreté du tissu cancéreux. Malgré cela, cette technique fréquemment utilisée est la plus directe et efficace à ce jour. Pour en faire une intervention curative, le chirurgien est appelé à bien identifier les régions atteintes pour les retirer de façon à éviter la propagation des cellules cancéreuses dans les tissus connexes. Ce mode d'intervention très invasif provoque souvent des dommages importants à l'organe ciblé ainsi qu'aux tissus environnants.

2. Radiothérapie

La radiothérapie est une méthode de traitement qui utilise des radiations pour détruire les cellules cancéreuses en modifiant les brins d'acide désoxyribonucléique (ADN) qui les composent. L'irradiation occasionne des mutations au niveau de leur ADN et les empêchent de se reproduire correctement, mettant terme à leur prolifération. La radiothérapie est un traitement local qui vise une région ciblée du corps. Cependant, comme la chirurgie, l'irradiation occasionne des dommages tant aux tissus sains qu'aux tissus cancéreux de la zone irradiée [4]. Bref, ce traitement est un traitement local, tel que la chirurgie, mais non spécifique aux tissus cancéreux.

3. Chimiothérapie

La chimiothérapie est une thérapie systémique, c'est-à-dire qui est administrée à l'ensemble de l'organisme via le réseau sanguin, utilisant des agents thérapeutiques toxiques pour les cellules cancéreuses (cytotoxiques). Il existe de nombreux agents thérapeutiques, chacun ayant une efficacité optimale pour un type de cancer particulier. Chaque agent thérapeutique agit selon un mécanisme particulier pour modifier le fonctionnement des cellules cancéreuses, soit en brisant les chaînes d'ADN, soit en inhibant l'activité enzymatique nécessaire à leur reproduction, soit en bloquant la synthèse d'ADN, ou autrement. Les agents thérapeutiques peuvent être très efficaces pour empêcher ou ralentir la reproduction non contrôlée des cellules cancéreuses. Puisque l'efficacité d'un médicament varie grandement d'un type de cancer à un autre, l'utilisation de plusieurs agents chimiques est priorisée et connue sous le nom de polychimiothérapie [5]. Celle-ci s'avère généralement plus efficace que de faire l'usage d'un seul type d'agent chimique (monochimiothérapie). Dans le cas du cancer colorectal, les agents thérapeutiques les plus communément utilisés sont : le « 5-FU », l'« irinotecan », et l'« oxaliplatin » [5, 6].

Le grand défi de l'utilisation de la chimiothérapie est de parvenir à restreindre les effets des agents thérapeutiques administrés uniquement au site tumoral. Malheureusement, les techniques actuelles de livraison de ces médicaments ne parviennent pas à les circonscrire aux régions tumorales. Par conséquent, une forte dose d'agents thérapeutiques doit être administrée au patient, ce qui entraîne également des effets sur les tissus non cancéreux. Ce manque de spécificité s'attribue en partie au manque de connaissances sur les biomarqueurs spécifiques aux cellules cancéreuses [6]. Ainsi, malgré la grande efficacité qu'ont ces médicaments à ralentir ou

empêcher la reproduction des cellules cancéreuses, leur manque de spécificité entraîne des effets secondaires très néfastes chez le patient traité.

De nombreuses autres techniques complémentaires à la chimiothérapie sont en cours de développement pour pallier à ce manque de spécificité. Entre autres, une technique basée sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux cherche à exploiter la présence d'antigènes spécifiques à la surface des cellules cancéreuses [5]. Cette technique de ciblage peut être employée de deux façons. La première vise à administrer ces anticorps de façon systémique afin qu'ils se fixent à l'antigène cible situé à la surface des cellules. Ainsi, le système immunitaire du patient agit afin d'éliminer ces cellules marquées par les anticorps. La seconde technique d'utilisation de ces anticorps vise à les fixer aux agents thérapeutiques administrés afin d'obtenir un complexe capable de se fixer à l'antigène cible situé à la surface des cellules cancéreuses. Ainsi, lorsque l'anticorps est fixé à la cellule cancéreuse, le médicament y est présent également permettant d'augmenter la spécificité des agents thérapeutiques.

Un autre exemple de thérapies en cours de développement est la thérapie bactérienne. Celle-ci cherche à exploiter les caractéristiques du microenvironnement tumoral plutôt que les antigènes spécifiques à certaines cellules. En effet, certaines bactéries sont reconnues pour leur capacité de coloniser naturellement les zones tumorales qui présentent un environnement propice pour leur prolifération [7]. Après quelques jours de prolifération, ces microorganismes injectés systémiquement envahissent le site tumoral, et nuisent à son développement.

Il existe aussi l'immunothérapie (ou biothérapie). Cette technique modifie le comportement du système immunitaire du patient pour l'entraîner à combattre lui-même les cellules cancéreuses. Cette stimulation du système immunitaire est provoquée par l'administration de certains agents immunostimulateurs.

D'autres thérapies se basent sur l'utilisation de vaccins, soit pour conditionner le système immunitaire à se défendre contre l'apparition de cancers liés à certains agents infectieux (vaccins prophylactiques) ou, comme thérapie pour traiter des cancers existants (vaccins thérapeutiques). Les vaccins visent à exposer le système immunitaire d'un patient à des antigènes afin d'entraîner la production d'anticorps pour contrer certaines formes d'agents infectieux. Lors de l'administration du vaccin, le système immunitaire augmente sa production de lymphocytes T responsables d'identifier ce type d'agent infectieux et de générer une réaction adéquate et plus

rapide lors d'une prochaine exposition. Ces vaccins sont utilisés pour contrer des microorganismes qui causent de l'infection et qui entraînent l'apparition de tissus cancéreux. Il s'agit donc de premiers vaccins dont l'utilisation se limite à quelques types de cancer précis, tels ceux reconnus pour être induits soit par des virus (Human Papilloma Virus – HPV et Hepatitis B Virus - HBV) ou par une activité bactérienne. Ces techniques de préventions faisant usage d'agents antiviraux ou antibiotiques ont donc une application potentielle à portée limitée compte tenu du peu de cancers causés par un virus ou une bactérie.

Les différentes techniques précédemment énumérées reposent toutes sur le même principe de fonctionnement. L'agent thérapeutique retenu est administré en forte dose de façon systémique dans le corps du patient via le système sanguin. Par la suite, la liaison de ces agents au site tumoral s'effectue de façon passive grâce aux caractéristiques d'affinité qui rapprochent le complexe thérapeutique et les cellules cancéreuses. Malgré le fait que cette spécificité puisse être très efficace lorsque l'agent se trouve à proximité de sa cible, le déplacement du complexe vers la cible est laissé au hasard et à la répartition uniforme du complexe à travers le système vasculaire du patient. Ainsi, cette technique repose sur un ciblage passif. Ceci occasionne une disproportion marquée entre la quantité d'agents thérapeutiques administrés et la quantité de ceux-ci ayant atteint la cible.

Ainsi, malgré l'efficacité de ces nombreuses techniques de traitement permettant soit d'augmenter ou de complémenter l'efficacité des traitements de chimiothérapies, celles-ci ne parviennent toujours pas à limiter leurs effets au site tumoral de façon à épargner les tissus sains. Le fait que ces agents dépendent d'un ciblage passif pour être acheminés au site tumoral implique qu'une dose thérapeutique nettement supérieure à ce qui est requis doit être administrée, contribuant aux effets secondaires ressentis chez le patient.

1.2 Problématique

Ce survol rapide des différentes techniques actuelles de traitement du cancer nous permet de constater qu'une des principales lacunes réside dans leur manque de spécificité envers les cellules cancéreuses. En effet, les techniques reposent sur le ciblage passif où la distribution de l'agent thérapeutique doit parcourir l'ensemble de l'organisme avant d'atteindre le site tumoral en

question. Il y a donc lieu de se questionner sur l'absence de ce manque de spécificité qu'un vecteur actif de transport pourrait corriger.

De plus, dans le cas de la chimiothérapie, d'autres obstacles restreignent l'effet thérapeutique des agents cytotoxiques utilisés. L'hétérogénéité de la vascularisation tumorale nuit, par exemple, à la dispersion du médicament à travers l'ensemble de la tumeur et la présence de zones hypoxiques (zones peu vascularisées et particulièrement résistantes) limite l'efficacité de ce traitement. Finalement, comme la chimiothérapie est généralement administrée de façon systémique, l'affaiblissement des régions saines aggrave inutilement la santé générale du patient.

Ainsi, l'utilisation d'un vecteur actif de transport pour acheminer l'agent thérapeutique directement au site tumoral permettrait :

1. de ne traiter que les cellules cancéreuses et de protéger les cellules saines en empêchant que celles-ci soient exposées aux agents thérapeutiques,
2. d'optimiser la dose d'agents thérapeutiques administrés en la limitant à la quantité qu'exige le traitement.

Ces avantages permettraient, par conséquent, d'améliorer les effets thérapeutiques engendrés par le traitement, tout en réduisant les effets secondaires améliorant ainsi le rendement des séances de traitement du cancer.

1.3 Vision du projet

Ce projet cherche à exploiter les avancements scientifiques de plusieurs disciplines pour identifier une façon plus efficace, simple et économique de concevoir, fabriquer et réaliser un système de livraison actif de médicaments permettant d'acheminer un agent thérapeutique de façon non invasive directement au sein d'une tumeur.

La technique novatrice de livraison de médicament proposée se base sur l'utilisation d'un petit robot de taille micrométrique (microrobot) comme véhicule de transport. L'usage d'un tel véhicule, auquel serait greffée une charge thérapeutique, permettrait de diriger celle-ci précisément au site tumoral. Ce moyen réduirait la dispersion des agents thérapeutiques vers les autres parties de l'organisme, améliorerait la spécificité du traitement, et réduirait les effets secondaires néfastes (auxquels est assujetti le patient).

La taille, la propulsion et la navigation sont les principales contraintes techniques liées au développement et à l'utilisation d'un tel robot. Ce microrobot doit :

1. être suffisamment petit afin de pouvoir naviguer à l'intérieur d'un tissu tumoral humain,
2. être doté d'un système de propulsion suffisant pour transporter et déplacer une charge thérapeutique,
3. être doté d'un système de contrôle directionnel permettant d'orienter son déplacement vers le site tumoral.

L'utilisation d'une telle approche permettrait d'exploiter l'efficacité des agents thérapeutiques disponibles en agissant comme technique complémentaire à la chimiothérapie afin d'augmenter la spécificité du traitement à l'aide d'un système de transport actif utilisant des agents thérapeutiques autopropulsés.

1.4 Environnement tumoral

Afin de pouvoir caractériser le type de robot requis pour l'application envisagée, il est d'abord nécessaire de connaître l'environnement dans lequel il devra fonctionner. Comme il en a été question préalablement, ce microrobot devra pouvoir naviguer dans un tissu tumoral humain. Cette section portera donc sur l'analyse de l'environnement tumoral pour identifier les caractéristiques à considérer pour choisir et utiliser un microrobot.

Comme nous l'avons mentionné, une tumeur est composée d'un ensemble de cellules qui se reproduisent de façon non contrôlée et qui se transforment en amas de tissu. La tumeur se distingue d'un tissu sain par les facteurs suivants :

1. la présence de zones hypoxiques,
2. l'irrégularité de la vascularisation,
3. l'espace interstitiel,
4. la pression interstitielle.

L'irrégularité de la vascularisation est occasionnée par l'angiogenèse issue des cellules cancéreuses. Cet environnement chaotique de vaisseaux sanguins entraîne la présence de zones

hypoxiques où les cellules manquent d'apport en nutriments occasionnant l'apparition de zones nécrotiques au sein du tissu. Ces zones se trouvent donc éloignées des vaisseaux sanguins, compliquant la diffusion des agents thérapeutiques lors de l'administration de traitement de chimiothérapie.

L'espace interstitiel correspond à l'espace entre les cellules qui forment le tissu. Dans un milieu tumoral, cet espace est connu pour être plus important que celui d'un tissu sain [8]. Puisque notre microrobot devra naviguer dans cet environnement pour acheminer sa charge thérapeutique au sein de la tumeur, nous caractérisons cet environnement afin d'établir les contraintes de taille du robot. Une étude rapporte que l'espace interstitiel d'une tumeur humaine varie de 6% à 40% [8]. Cet espace interstitiel est calculé comme le ratio de volume entre l'espace interstitiel et le volume total du tissu comprenant l'espace vasculaire, interstitiel et cellulaire. En prenant en considération qu'une cellule humaine saine possède un diamètre d'environ 30μm [9], nous évaluons que la taille du robot envisagé, tout en étant aussi petit que possible, ne devrait pas excéder quelques micromètres (<10μm) s'il doit naviguer autour des cellules tumorales.

Enfin, la pression interstitielle d'une tumeur peut être de deux à cinq fois plus importante que celle d'un tissu sain. Ce gradient de pression orienté de l'extérieur vers l'intérieur du tissu tumoral nuit à la diffusion des médicaments devant atteindre le centre du tissu tumoral lors de l'administration de chimiothérapie.

La présence de ces obstacles limite ainsi l'efficacité des traitements qui dépendent d'une diffusion passive du médicament vers le site tumoral. Ainsi, l'utilisation d'un robot pouvant franchir ces barrières et livrer l'agent thérapeutique à l'intérieur d'une tumeur semble être une solution prometteuse pouvant potentiellement augmenter l'efficacité des agents thérapeutiques actuellement utilisés.

Pour identifier un robot capable de répondre aux exigences de parcours que présente un environnement tumoral, nous devions respecter les critères suivants:

1. Taille de moins de 10 μm,
2. Auto-propulsé,
3. Auto suffisant énergétiquement
4. Contrôlable à distance

Ces caractéristiques nous ont alors permis d'orienter nos recherches dans le domaine de la robotique pour identifier un microrobot pouvant à la fois satisfaire les critères exigés et nous permettre d'entreprendre des études de faisabilité. Voilà le sujet de la prochaine section.

1.5 La microrobotique

Ayant défini les contraintes à respecter dans le choix d'un microrobot, un survol des développements récents dans le domaine de la robotique s'impose, plus précisément dans le domaine de la microrobotique appliquée au domaine médical [10], pour identifier un véhicule approprié à la tâche. Dans un premier temps nous survolerons les développements et préciserons ensuite les raisons qui justifient le choix de microrobot.

Actuellement, les recherches s'intensifient pour découvrir des robots de taille submillimétrique [11, 12]. Les projets de recherche visent des applications toutes aussi différentes les unes des autres, en s'adressant à la chirurgie oculaire [13], la détection de cancer dans le système gastro-intestinal, la destruction de calculs rénaux [12], la livraison ciblée de médicaments [14], etc. Indépendamment de l'application envisagée, les contraintes technologiques de base liées au développement d'un microrobot demeurent les mêmes. Dans cette section, nous survolerons divers projets de recherches en cours en lien avec le développement de microrobots dédiés à des applications médicales.

Dans les sous sections suivantes, nous diviserons cette analyse en deux volets afin de couvrir indépendamment les robots de types artificiels et de types naturels. Le plan de notre revue de la littérature qui se rapporte à la microrobotique est schématisé dans la figure suivante (Figure 1-2). Nous couvrirons ainsi les deux principales techniques de conception de microrobots, soit de type artificielle et naturelle. Nous explorerons également les divers systèmes de contrôle permettant de naviguer ces microrobots.

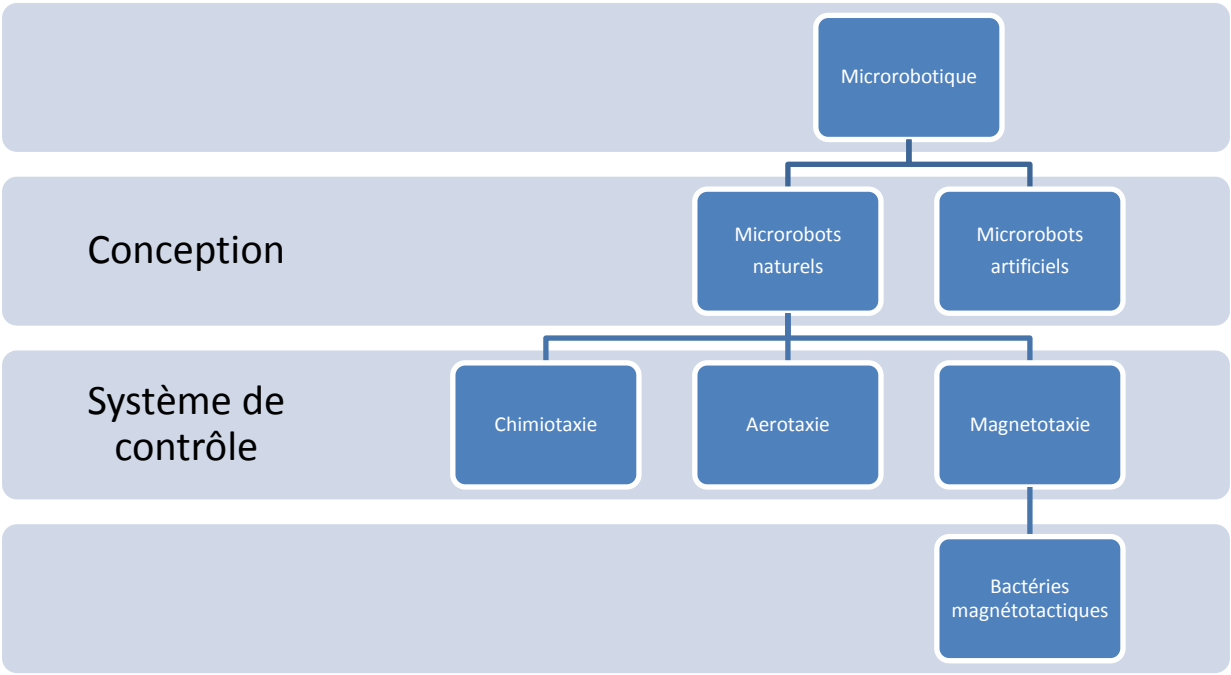


Figure 1-2: Schéma de la structure de la revue de littérature sur la microrobotique.

1.5.1 Microrobots artificiels

Nous débutons avec un survol des progrès constatés au niveau de la conception de microrobots de type artificiel. Quatre contraintes principales doivent être considérées lors de la conception d'un microtransporteur dédié à une application médicale à l'intérieur de l'organisme humain [15], soit :

1. L'apport en énergie
2. La méthode de propulsion [16]
3. Le système de contrôle directionnel
4. L'insertion et le retrait dans le corps humain

En comparant les contraintes à respecter dans le cadre de notre application, et celles présentées ci-haut concernant leurs conception, nous devons ajouter le contrôle à distance comme élément supplémentaire primordial. Cette contrainte supplémentaire sera traitée à la section 1.5.1.2.

1.5.1.1 Source énergétique

Une des principales difficultés rencontrées lors du développement de microrobots est la miniaturisation de sa source énergétique. Cette source d'énergie est nécessaire pour leur permettre d'effectuer les tâches requises.

La méthode la plus directe serait d'incorporer au microrobot une source électrique, telle qu'une pile électrique. Nous jugeons cependant inefficace de considérer cette solution dans le contexte des limites de la miniaturisation. Différentes stratégies ont donc été envisagées afin de pouvoir leur fournir l'énergie dont ils ont besoin. Certains projets de recherche tentent d'y incorporer la possibilité d'extraire de son environnement l'énergie que son fonctionnement exige. Par exemple, certains utilisent des transducteurs pour convertir divers types d'énergie, telles les différences de température [17] ou vibrations, en énergie électrique. Une autre considération consiste à extraire l'énergie chimique de l'environnement dans lequel le robot fonctionne. Ces différentes approches constituent donc des solutions plausibles pour pallier à leur besoin énergétique.

Une approche alternative pour subvenir à ce besoin énergétique est de considérer une source énergétique externe fournissant l'alimentation requise à distance par induction magnétique [18]. Cette technique permet de transmettre l'énergie requise sous forme de champs magnétiques alternatifs.

Une autre stratégie considérée est l'utilisation du moment et de la force magnétiques produits sur un microrobot comportant du matériel ferromagnétique à partir d'une source de champ magnétique externe [19, 20]. En jouant sur la géométrie et la composition du microrobot, il est possible de provoquer son déplacement. Les détails théoriques permettant de comprendre le fonctionnement de ce type de contrôle seront décrits dans la section suivante puisqu'une telle approche agit en même temps comme méthode de propulsion et système de contrôle directionnel.

L'utilisation d'une source d'énergie externe est donc avantageuse par rapport à l'utilisation d'une source embarquée. En effet, la miniaturisation de ces robots peut être grandement simplifiée puisqu'aucune miniaturisation de la source énergétique n'est requise.

1.5.1.2 Méthode de propulsion et système de contrôle

Les modes de propulsion et de contrôle sont intimement reliés puisqu'ils utilisent souvent le même système. Cette section décrit divers microrobots qui utilisent des technologies différentes pour ces deux modes de contrôle.

Les modes de propulsion et de contrôle des microrobots sont très variés. Certains chercheurs s'inspirent de microorganismes biologiques pour tenter de reproduire artificiellement leur mécanisme de propulsion. Par exemple, un projet de recherche [21] tente de reproduire le mécanisme de propulsion d'une espèce aquatique, soit un poisson-coffre (traduit du terme anglais « box-fish »). La taille relativement grande (quelques centimètres) du dispositif demeure l'inconvénient de cette approche.

D'autres projets font valoir la possibilité de mettre à contribution des sources optiques, tel un laser, pour contrôler l'orientation de leur dispositif [22, 23]. Le désavantage de ces techniques réside dans le fait que la lumière est limitée au niveau de sa pénétration à l'intérieur de tissus biologiques.

La propulsion utilisant une source magnétique externe pourrait également agir à la fois comme méthode de propulsion ainsi que comme méthode de contrôle directionnel. Le groupe de recherche du laboratoire de NanoRobotique de l'École Polytechnique de Montréal a réussi à utiliser le champ magnétique d'un appareil d'Imagerie par Résonnance Magnétique (IRM) afin de diriger une bille magnétique à l'intérieur d'une artère principale du système vasculaire d'un porc [20]. Ce type de technologie utilise la force magnétique engendré sur une particule ferromagnétique en présence d'un gradient magnétique. Cette force magnétique est décrite mathématiquement par l'équation 1.1 et est schématisée dans la Figure 1-3.

$$\vec{F}_{mag} = V(\vec{M} \cdot \vec{\nabla})\vec{B} \tag{1.1}$$

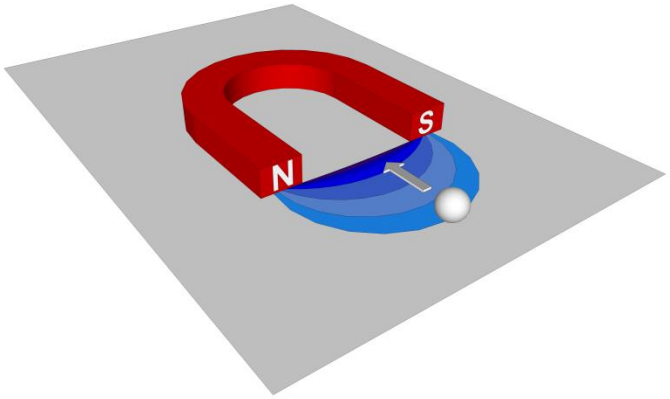


Figure 1-3: Schéma de la force magnétique exercée sur une particule magnétique en présence d'un gradient magnétique.

Un autre groupe de recherche tente également d'exploiter les propriétés du magnétisme afin de diriger un microrobot artificiel en reproduisant le mode de propulsion d'un microorganisme doté d'un flagelle [11, 24]. Ce robot ne mesure qu'environ une dizaine de micromètres. Il utilise un champ magnétique rotatif externe afin d'entraîner un dispositif ayant une forme hélicoïdale lui permettant de progresser et de se déplacer dans son milieu [25]. Le fonctionnement de ce dispositif se base sur l'utilisation du moment magnétique induit sur un corps magnétisé par la présence d'un champ magnétique externe. Le moment magnétique induit sur un tel objet magnétisé est décrit mathématiquement par l'équation 1.2.

$$\vec{\tau} = \vec{m} \times \vec{B} \tag{1.2}$$

Un schéma expliquant le fonctionnement de cette technologie est présenté à la Figure 1-4

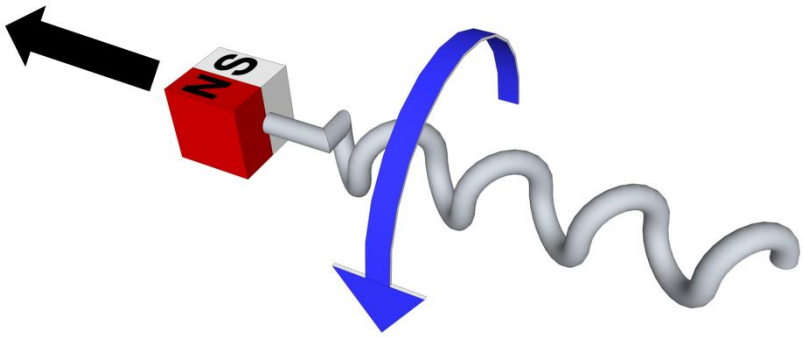


Figure 1-4: Schéma du fonctionnement d'un flagelle artificiel propulsé par un champ magnétique rotatif externe induisant un moment magnétique sur la tête magnétisée du dispositif.

1.5.1.3 Insertion et retrait d'un microrobot dans le corps humain

Nous ne couvrons que brièvement les défis liés aux méthodes d'insertion et de retrait des microrobots à l'intérieur du corps humain. En effet, puisque ces technologies n'en sont pas au point d'être testées dans un organisme animal, beaucoup de questions à ce niveau restent à être explorées. La technique d'introduction peut être considérer relativement directe en introduisant ces microrobots par l'usage d'une seringue. D'autre part, la réaction immunitaire engendrée par l'organisme en réponse à la présence de ces corps étrangers risque d'être un obstacle important dans les développements futurs de ces microrobots. De plus, l'extraction de ces dispositifs du corps humain une fois leur tâche effectuée reste à être étudiée.

Malheureusement, malgré la quantité importante de dispositifs microrobotiques artificiels développés, ceux-ci ne peuvent être considérés comme des microrobots autonomes utilisables dans le cadre de notre application. En effet, ces dispositifs artificiels sont soit trop gros et/ou non autonomes puisque leur déplacement dépend entièrement d'une source externe. Cette dépendance nécessite que l'on connaisse préalablement le parcours précis devant être emprunté par le microrobot pour se rendre au point ciblé. Ainsi, ceux-ci ne sont donc pas efficaces lors de parcours dans un environnement chaotique inconnu, tel qu'il en sera question lors de la navigation dans un environnement tumoral.

En étudiant les contraintes liées au choix de notre microtransporteur dans le cadre de notre application, nous évaluons que l'utilisation d'un microrobot artificiel non autonome n'est pas adéquat pour naviguer à l'intérieur d'un environnement tumoral possédant une vascularisation chaotique nécessitant un minimum d'autonomie de déplacement. Ainsi, plutôt que de tenter de produire un microrobot artificiel complet en s'inspirant de microorganismes, nous nous tournons vers la nature afin de chercher à exploiter ce qui est naturellement disponible.

1.5.2 Microrobots naturels

Tel qu'il en a déjà été question, plutôt que de tenter de concevoir et de fabriquer un microrobot complet artificiellement, plusieurs groupes de recherches tentent activement d'apprivoiser ce que la nature rend disponible afin de pouvoir en faire usage comme microrobot préfabriqué. En effet, en étudiant le fonctionnement de divers types de microorganismes, tel que les bactéries, nous constatons qu'elles ressemblent beaucoup à ce que nous envisageons être un microrobot. Pouvant

avoir des tailles aussi petites que 0,5 µm de diamètre, ces microorganismes munis de flagelles peuvent compter sur leur propre système de propulsion mesurant moins de 300 atomes d'hydrogène [14] (≈30 nm), et peuvent se fier sur leur propre système énergétique qui les rend totalement indépendants d'une source d'énergie externe.

En contrepartie, la complexité d'en faire usage survient lorsqu'il est question de les faire dévier de leur comportement naturel habituel pour leur faire accomplir une tâche. Peu importe l'application envisagée, pour être considérés comme microrobots, il est essentiel de pouvoir dicter le mouvement de ces microorganismes pour influencer leurs déplacements.

Chaque microorganisme répond à un ensemble de stimuli. Ces derniers agissent comme mécanismes de contrôle directionnel pour le microorganisme afin de l'orienter dans son environnement naturel pour qu'il puisse trouver son milieu optimal de fonctionnement et de prolifération. Nous appelons tactisme [26] le déplacement influencé par l'environnement dans lequel se trouve le microorganisme. Par exemple, certains microorganismes orientent leurs déplacements en fonction de la présence de lumière (phototaxie), d'autres en fonctions de la présence de gradient chimique (chimiotaxie), d'autres en fonction de la présence de champs magnétiques (magnétotaxie), etc.

Le système directionnel le plus commun chez les microorganismes est la chimiotaxie. Cependant, ce type de système directionnel est difficile à exploiter à cause de l'ensemble de variables (concentration en oxygène, pH, niveau de sels, etc.) caractérisant l'environnement chimique. Ce type de contrôle n'est donc pas un système de contrôle approprié pour notre application. Parmi tous les systèmes de tactisme analysés, la magnétotaxie [27] est le seul type permettant d'envisager avec un contrôle en temps réel et à distance sur les microorganismes. En effet, les microorganismes magnétotactiques ont la capacité d'orienter leur déplacement en fonction de la présence d'un champ magnétique. Puisque le corps humain est transparent aux champs magnétiques de basses fréquences et intensités, l'usage de tels micros transporteurs s'avère très pratique pour fins d'applications médicales évitant ainsi toute complication lors du transfert de cette technologie vers le patient.

Ces microorganismes ont donc été considérés comme prometteurs dans le cadre de notre projet de recherche afin d'agir en tant que microrobot pour le transport actif de médicaments.

1.6 Les bactéries magnétotactiques (MTB)

Cette section est dédiée à la description et à la caractérisation des MTB. Nous couvrirons également en fin de chapitre les études récentes sur le contrôle des MTB.

1.6.1 Description des MTB

Découvertes en 1975 [28], les bactéries magnétotactiques, sont des microorganismes qui utilisent le champ magnétique terrestre pour optimiser leurs déplacements dans leur environnement naturel. Ces déplacements sont possible grâce à la présence de nanoparticules magnétiques dans leur cellule qui leur confèrent un moment magnétique [29]. Ces nanoparticules sont minéralisées par la cellule à partir du fer qui se trouve dans son environnement. Elles sont normalement composées d'oxyde de fer (magnétite - Fe_3O_4) ou de sulfite de fer (Greigite – Fe_3S_4). Dès leur minéralisation, ces particules de très petite taille (moins de 100 nm de diamètre), s'alignent dans la cellule pour former une chaîne de nanoparticules orientées selon l'axe formé par le centre de la cellule et le point de jonction des deux groupes de flagelles de la bactérie [30, 31].

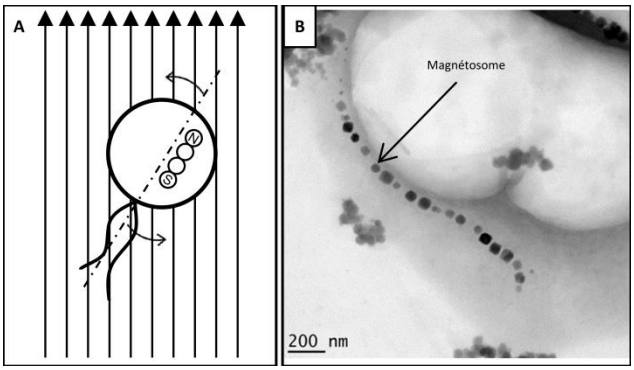


Figure 1-5: (*A*) Schéma du moment magnétique induit sur une bactérie magnétotactique présente dans un champ magnétique uniforme. (*B*) Photographie d'une bactérie magnétotactique prise à l'aide d'un microscope électronique dans laquelle nous apercevons la chaîne de magnétosomes (nanoparticules magnétiques).

La forme et la composition de cette chaîne accordent un moment magnétique à la cellule. Ce moment lui permet de s'aligner avec le champ magnétique terrestre pour optimiser ses déplacements vers des environnements plus propices à leur prolifération soit, des environnements pauvres en oxygène [30]. Cette réponse de la cellule à un tel stimuli magnétique se nomme la magnétotaxie [32].

Il faut noter qu'il existe deux types de bactéries magnétotactiques: les MTB axiales et polaires [14]. Les MTB axiales ont la propriété de s'aligner dans la direction du champ magnétique sans démontrer de préférences par rapport à son sens de déplacement. En effet, elles utilisent le champ magnétique terrestre comme ligne de parcours pour trouver leur environnement propice. En procédant ainsi, la cellule transforme sa recherche d'un environnement optimal à sa prolifération d'une recherche tridimensionnel en une recherche selon une seule dimension, puisque celle-ci ne se déplace qu'en fonction de l'axe du champ magnétique. Cette possibilité provient de la présence de flagelles de chaque côté de la cellule qui lui permet de renverser son sens de déplacement régulièrement tout en suivant le champ magnétique. C'est le contraire qui se produit dans le cas des MTB polaires. Celles-ci s'orientent aussi dans la direction du champ magnétique mais elles ne se déplacent que dans un seul sens. Cette particularité est un élément crucial à considérer lorsqu'on envisage d'utiliser ces MTB comme véhicules microrobotiques contrôlables à distance.

De plus, dans une population de MTB polaires, le sens de déplacement de ces MTB n'est pas homogène. En effet, la littérature précise que dans un échantillon, le pourcentage de MTB suivant un parcours par rapport au parcours contraire dépend de la source géographique de l'échantillon [33]. Cette particularité s'explique par le fait que l'orientation du champ magnétique terrestre varie en fonction de la position sur la planète. Ainsi, des MTB polaires provenant de l'hémisphère sud de la terre auront tendance à se diriger vers le Sud (South Seeking), alors que les MTB polaires provenant de l'hémisphère nord auront tendance à chercher le Nord (North Seeking). Ces caractéristiques deviennent très importantes à respecter lors du choix de microorganismes pour fins de contrôle.

Il n'y a donc aucun doute que la bactérie idéale qui répond le mieux au développement d'une plateforme de contrôle de bactéries magnétotactiques est la bactérie magnétotactique polaire. En effet, essayer de contrôler des MTB axiales est une tâche beaucoup plus ardue car le sens de déplacement le long des lignes du champ magnétique est imprévisible.

Les travaux du Dr. Ouajdi Felfoul lors de son projet de doctorat au laboratoire de NanoRobotique ont permis d'identifier un type de bactérie particulier ayant des caractéristiques susceptibles de répondre aux besoins de notre application. Il s'agit de la bactérie magnétotactique *Magnetococcus Marinus* MC-1 [34]. Les caractéristiques à l'appui du choix de ce

microorganisme sont exposées dans la section suivante et se retrouvent de façon plus détaillée dans la thèse du Dr. Felfoul [35].

1.6.2 Choix et caractéristiques de MC-1

Cette section décrit les caractéristiques du *Magnetoccocus Marinus* MC-1, soit le type de MTB retenu pour notre projet de recherche ainsi que les principaux des travaux de recherches qui s'y rattachent. La présentation des travaux antérieurs suit l'ordre chronologique de leur publication pour permettre au lecteur d'en suivre l'évolution en fonction des objectifs recherchés.

À titre informatif, le diagramme de la Figure 1-6 représente la classification taxonomique de ce type de microorganismes.

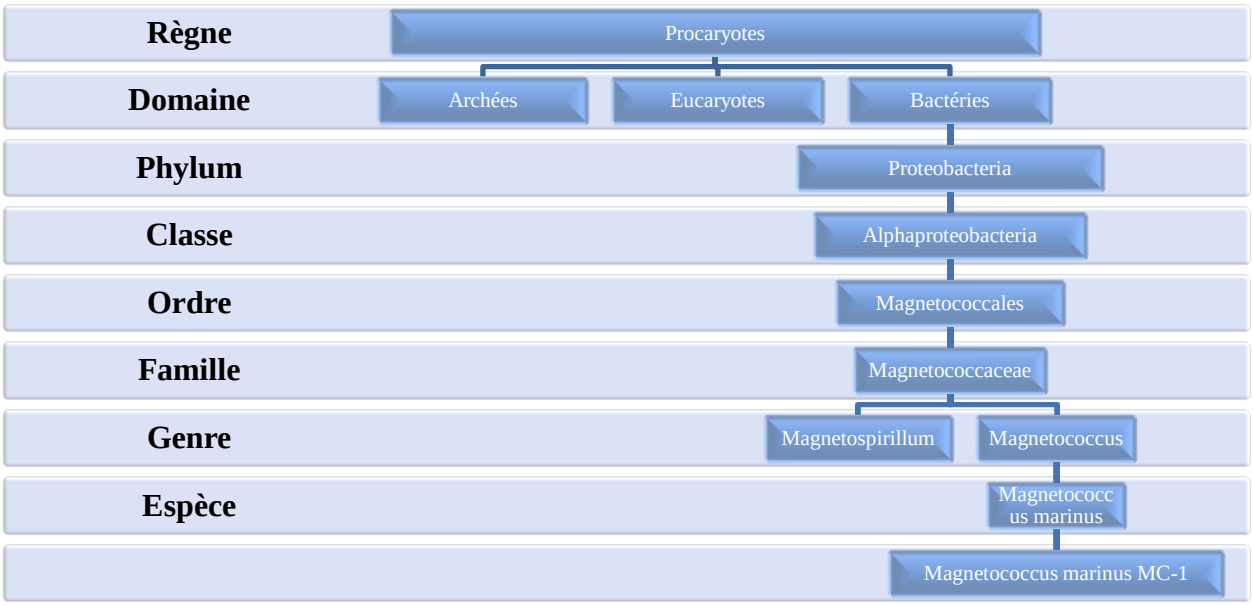


Figure 1-6: Organigramme de la hiérarchie taxonomique des bactéries magnétotactiques [34].

La bactérie MC-1 a une forme sphérique de 2 µm de diamètre. Elle possède une simple chaîne de nanoparticules magnétiques totalisant un moment magnétique approximatif de 10^{-15} Am^2 qui lui permet de réagir à des champs magnétiques aussi faibles que 50 µT [28], ce qui est très près de la valeur de l'induction magnétique à la surface de la Terre.

Avant de poursuivre dans l'analyse des diverses caractéristiques de la bactérie MC-1, nous devons comprendre que ce genre de microorganisme ne réagit pas uniquement à un seul stimulus.

En effet, plutôt que de réagir uniquement aux stimuli magnétiques, comme c'est le cas d'une bactérie dite magnétotactique, ce microorganisme réagit en fonction d'un équilibre de plusieurs stimuli, soient le champ magnétique et la concentration d'oxygène. Dans son milieu de vie, il utilise le champ magnétique terrestre (50 μT) pour retrouver son environnement idéal à basse concentration d'oxygène. Ce type de MTB ne suit donc pas le champ magnétique aveuglément, mais l'utilise plutôt afin satisfaire un besoin précis d'oxygène. En fonction du niveau d'oxygène présent, ce microorganisme peut varier son sens de migration vers l'avant ou l'arrière en variant le sens de rotation de ses flagelles. Ainsi, le microorganisme réagit à un équilibre de stimuli plutôt qu'à un seul. Ce comportement s'appelle magnétoaérotactisme [30, 36].

En 2007, un groupe de chercheurs se penche sur le temps de réponse de MTB face à un changement d'orientation du champs magnétique[37]. Bien que les expériences de l'article concernent un type de MTB différent, elles confirment la rapidité avec laquelle les MTB changent de direction sous l'influence d'un champ magnétique même à une fréquence angulaire aussi élevée que 5 Hz. Cette étude démontre donc la capacité des MTB à réagir quasi-instantanément à la variation d'orientation du champ magnétique.

En 2009 [14], les MTB *Magnetococcus Marinus* sont avancées comme microrobots potentiels pour la livraison d'agents thérapeutiques dans la vasculature humaine. D'ailleurs l'article nous informe avoir constaté qu'une population de ce type de MTB se déplaçait à une vitesse moyenne d'environ 200 μm/s. D'autres observations sont rapportées, telle qu'une diminution de la vitesse des MTB nageant à l'intérieur de microcapillaires ainsi qu'une diminution graduelle de vitesse des MTB nageant dans un environnement sanguin à une température de 37 °C.

Cette section nous a donc permis de rapporter certains faits notés dans la littérature sur le sujet qui nous concerne, soit la caractérisation du comportement des MTB de type MC-1. Dans la prochaine section, nous aborderons les travaux de recherche effectués en lien avec le contrôle des MTB.

1.6.3 Contrôle magnétique de MTB

Les projets de recherche basés sur l'exploitation de bactéries magnétotactiques sous forme de microrobots autonomes sont très restreints. En effet, ils se limitent presqu'entièrement à ceux de notre laboratoire de NanoRobotique de l'École Polytechnique de Montréal. Nombreux sont les

chercheurs qui s'inspirent de ce type de microorganisme pour développer des robots imitant leur comportement, tel qu'un flagelle artificiel qui reproduit le système de propulsion de cette bactérie [24]. Cependant, au niveau du contrôle externe direct de ces MTB qui agissent comme microrobots autonomes, les sources littéraires sont pratiquement absentes.

Cette section présentera donc les différentes recherches préalablement entreprises en lien avec le contrôle et la caractérisation de ce type de MTB. Précisons à nouveau que ce survol de travaux suit l'ordre chronologique de publication pour suivre le fil conducteur des expériences dans le temps.

En 2004 [38], la manipulation de MTB à l'aide de microélectroaimants permet d'orienter des MTB vers un endroit précis sur une surface plane ayant comme objectif d'effectuer un micro-assemblage des chaînes de nanoparticules contenues dans les cellules.

En 2006 [39], notre groupe de recherche rapporte la capacité de deux types de MTB, *Magnetospirillum gryphiswaldense et Magnetococcus Marinus* MC-1, à déplacer des billes d'une taille de 3µm de diamètre, greffées à la surface des bactéries. Des analyses sont également entreprises afin de caractériser l'alignement des MTB de type *Magnetospirillum gryphiswaldense* en fonction d'un champ magnétique de basse intensité et de la distribution de vitesses. Les résultats confirment qu'un champ magnétique de quelques centaines de microtesla est suffisant pour aligner les MTB avec le champ magnétique, orienter leur déplacement, et aussi déplacer des des billes de 3 µm de diamètre.

En 2010 [40], notre groupe de recherche franchit une étape importante dans le domaine de la microfabrication. En contrôlant ces MTB nous avons pu les diriger pour ériger une micropyramide composées de blocs ayant une taille de 80µm x 20µm x 15µm. L'expérience consistait à contrôler les MTB en utilisant un électroaimant placé directement sous l'échantillon observé sous microscope. Deux plateformes permettaient de déplacer la position de MTB au micromètre près. Le schéma du montage utilisé pour cette réalisation est présenté à la Figure 1-7.

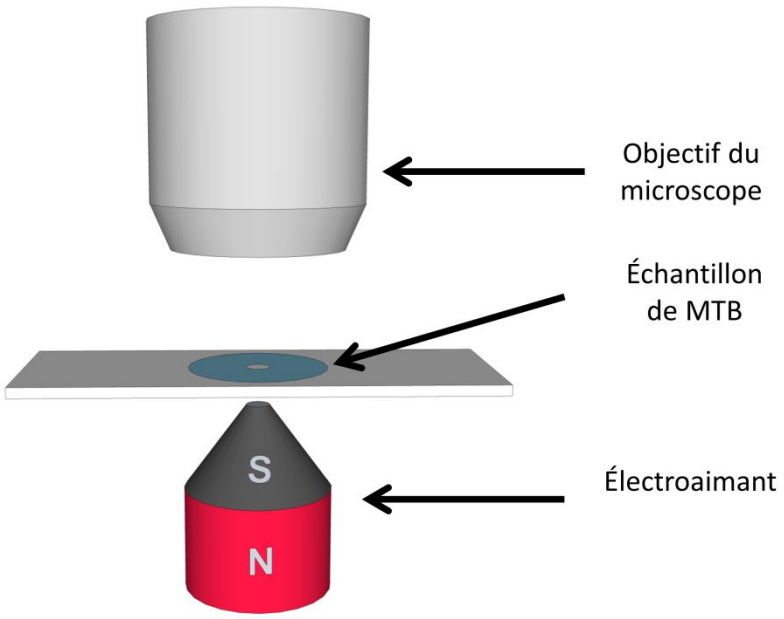


Figure 1-7: Schéma du montage expérimental utilisé pour construire une micropyramide à l'aide de MTB.

Les observations liées aux diverses expériences conduites par le Dr. Felfoul [35] au cours de ses recherches sur le déplacement des MTB sous l'effet du champ magnétique lui ont permis de les exprimer mathématiquement et de conclure que l'intensité du champ magnétique appliqué sur ce type de MTB influence significativement la vitesse de déplacement. Certaines limites ont aussi été constatées concernant le comportement de ce type de MTB sous l'influence de champs magnétiques à haute intensité. En effet, la direction de migration des MTB peut changer brusquement lorsqu'exposées à de champs magnétique très élevés qui se rapprochent de 1 Tesla. Certaines propositions permettant possiblement d'expliquer ce comportement ont été avancées, mais restent à être démontrées.

De plus, cette recherche fait état de la conception préliminaire d'un générateur de champ magnétique permettant théoriquement de contrôler des agrégats de MTB dans un environnement tridimensionnel. La plateforme développée à partir de ces travaux préliminaires sera présentée au Chapitre 3 de notre étude.

Afin de pouvoir utiliser ces MTB comme biotransporteurs pour acheminer un agent thérapeutique dans le système vasculaire humain, il est nécessaire de contrôler ces MTB à distance afin de pouvoir générer une agrégation de ces microorganismes en un endroit en particulier dans un espace tridimensionnel. Des techniques de contrôle tridimensionnel doivent donc être

développées afin de pouvoir réaliser l'objectif visé. Ce projet de recherche a donc comme but d'explorer cet aspect. Dans la section suivante, nous établirons les objectifs de l'étude qui nous permettront de structurer les divers chapitres de ce mémoire.

1.7 Objectifs de recherche

Dans cette section, nous formulons les différents objectifs de ce projet de recherche. Afin de pouvoir développer une plateforme médicale permettant de diriger activement un agent thérapeutique au sein d'une tumeur à l'intérieur du réseau vasculaire humain, il est nécessaire de pouvoir contrôler le déplacement de cet agent thérapeutique à distance. Le contrôle sur cet agent thérapeutique est assuré par l'utilisation d'un microrobot, dans ce cas une bactérie magnétotactique de type MC-1, capable de se déplacer dans le système vasculaire humain. Le déplacement de cette bactérie est influençable à distance en utilisant des champs magnétiques. Tel que mentionné précédemment, un appareil permettant de générer des champs magnétiques dans un environnement tridimensionnel a préalablement été conçu par les membres de notre laboratoire. Cependant, la caractérisation et la validation du fonctionnement de cet appareil restent à être démontrées de même que notre capacité de contrôler des MTB dans un environnement tridimensionnel.

Mes objectifs de recherche consistent donc à :

1. Étudier l'influence du champ magnétique sur le comportement des bactéries magnétotactiques afin de déterminer leurs limites de contrôle.
2. Développer des simulations permettant d'analyser le champ magnétique généré à l'intérieur de la plateforme et prédire le comportement des MTB à l'intérieur de la plateforme magnétique.
3. Développer et valider expérimentalement les techniques de contrôle tridimensionnel permettant de générer et de guider des agrégats de MTB dans un environnement tridimensionnel.
4. Valider expérimentalement les techniques de contrôle développées à l'aide de tests in-vivo.

Cette revue de littérature nous a permis d’exposer les recherches scientifiques précédemment effectuées en lien avec ce projet de recherche. À partir de ces connaissances, nous avons été en mesure d’établir les travaux non exécutés requis pour mener ce projet de recherche à bon port.

La méthodologie de recherche ainsi que la structure de ce mémoire qui permet d’atteindre les objectifs du projet sont présentées au chapitre suivant.

CHAPITRE 2 MÉTHODOLOGIE DE RECHERCHE

Ce chapitre décrit la méthodologie de recherche retenue pour accomplir les objectifs dont il était précédemment question. Elle en expose la structure ainsi que le contenu de chaque étape et décrit mon intervention et mes contributions personnelles. La Figure 2-1 dévoile la structure de ce mémoire en résumant les principaux aspects couverts dans chacun des chapitres.

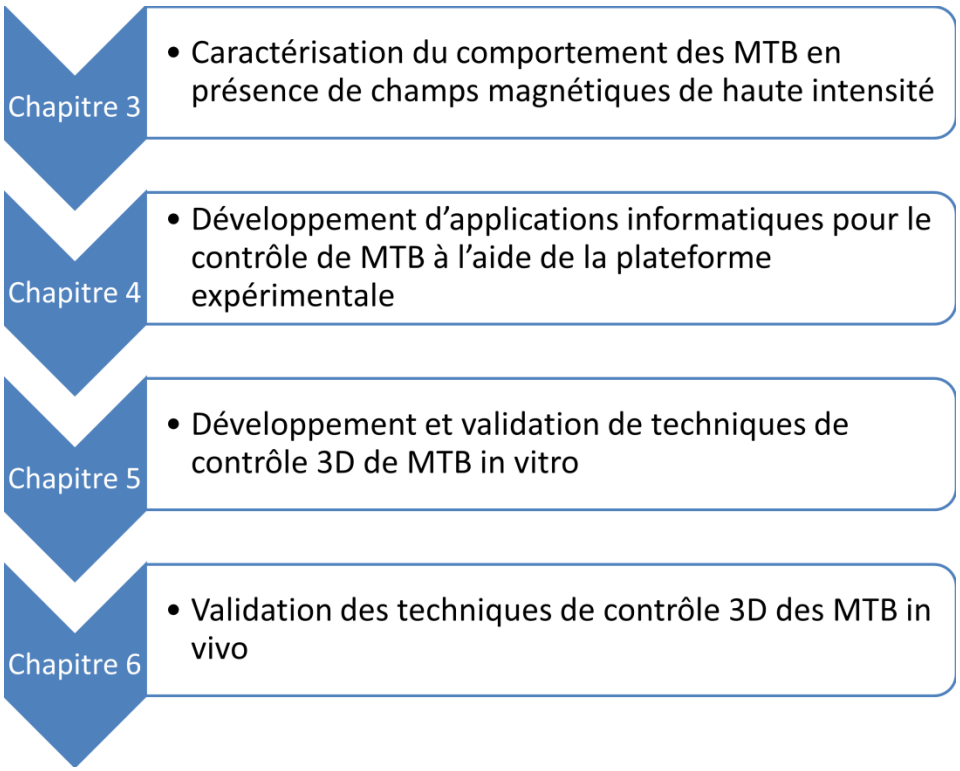


Figure 2-1: Plan de la méthodologie recherche ainsi que de la structure du mémoire.

Tout d'abord, le Chapitre 3 consiste en un article scientifique[1] et présente une analyse qui permet de caractériser et, par conséquent comprendre, le comportement des MTB en présence d'un champ magnétique de haute intensité. Cet article est présenté en langue anglaise tel qu'il a été soumis pour fins de publication. Cette analyse est nécessaire afin d'établir les limites physiques au niveau du contrôle de ces microorganismes. Ce chapitre permet également d'élucider le principe physique responsable du changement de direction de migration des MTB en présence d'un champ magnétique de haute intensité. La compréhension de ces limites ainsi que la réaction

[1] Article soumis le 18 mars 2013 au journal « Physical Biology ».

des MTB en présence de champs magnétiques est essentielle avant d'aborder le développement de la plateforme de contrôle des MTB, dont fait état le chapitre suivant. Mon rôle dans cette partie de recherche consistait à exécuter les tâches suivantes:

1. élucider les bases théoriques sur lequel l'explication du phénomène présenté est basée,
2. établir le protocole expérimental,
3. effectuer les manipulations,
4. compiler, analyser et présenter les résultats et
5. rédiger l'article scientifique.

Le Chapitre 4 est dédié à la description des logiciels de simulation et de contrôle qui ont été développés pour contrôler le déplacement de MTB à distance par l'intermédiaire de champs magnétiques. La conception et développement de ces logiciels font partie de mes contributions à ce projet de recherche.

Un premier logiciel permettant de caractériser le champ magnétique généré par la plateforme expérimentale est présenté. Ce logiciel permet également de simuler le déplacement des MTB dans ce champ magnétique pour constater leur comportement. Un second logiciel permettant de contrôler la plateforme expérimentale de guidage de MTB est également décrit. Ce logiciel est conçu pour que l'usager puisse guider les MTB de façon expérimentale dans un environnement tridimensionnel à l'aide de champs magnétiques. Il est aussi question des techniques de contrôle de MTB dans un environnement tridimensionnel. Celles-ci sont testées dans le chapitre suivant.

Le Chapitre 5 est un article scientifique[2] qui décrit les résultats obtenus lors des tests du contrôle tridimensionnel in vitro des MTB, à l'aide des méthodes de contrôle mises de l'avant au chapitre précédent. Une discussion sur les avantages et inconvénients de chacune des techniques de contrôle de cette plateforme pour permettre à un futur utilisateur de faire un choix judicieux de la technique de guidage à retenir. Cet article est aussi présenté en langue anglaise tel qu'il a été soumis pour fins de publication. Mon rôle dans l'élaboration de cet article scientifique consistait à exécuter les tâches suivantes:

---

[2] Article soumis le 19 mars 2013 au journal « International Journal of Robotics Research ».

1. élaborer les principes théoriques permettant de générer des agrégats de MTB,
2. développer des techniques de contrôle (séquences magnétiques),
3. établir le protocole expérimental,
4. effectuer les manipulations,
5. compiler, analyser et présenter les résultats,
6. rédiger l'article scientifique.

Le Chapitre 6 souligne les résultats obtenus lors de tests in vivo dont le but était de valider notre capacité de contrôler ces MTB au sein d'un tissu animal à l'aide des techniques de contrôle tridimensionnelle testées dans des milieux artificiels dont il était question au chapitre précédent. Au cours de ces expériences, mon rôle consistait à m'assurer du fonctionnement du volet lié au guidage magnétique des MTB. Mes tâches consistaient donc à :

1. effectuer l'installation de la plateforme expérimentale,
2. calibrer le générateur de champs magnétiques,
3. m'assurer du positionnement adéquat de l'animal à l'intérieur de la plateforme,
4. sélectionner et appliquer les séquences magnétiques requises pour les expériences à l'aide des logiciels décrits précédemment,
5. comptabiliser et analyser les résultats obtenus,
6. rédiger les rapports qui présentent les résultats des expériences.

Finalement, le Chapitre 7 se voit une discussion qui aborde chacun des aspects de ce mémoire. Nous parlons du potentiel de ce projet de recherche en faisant valoir les avantages et inconvénients sur le plan médical. Des recommandations sont aussi formulées au Chapitre 8 entourant de futurs travaux.

Tel que mentionné précédemment, le chapitre suivant fait état d'un article scientifique soumis pour publication qui examine le comportement de bactéries magnétotactiques en présence de champs magnétiques de haute intensité. Cette analyse est importante pour bien comprendre les limites de contrôle des MTB.

CHAPITRE 3 PERPETUAL NORTH/SOUTH POLARITY REVERSAL IN MAGNETOTACTIC BACTERIA *MAGNETOCOCCUS MARINUS* EXPOSED TO HIGH STATIC MAGNETIC FIELDS

D de Lanauze,[1] O Felfoul,[1] M S Tabatabaei Shafiei,[1] S Martel,[1] D A Bazylinski[2] and M Mohammadi[1]

[1] NanoRobotics Laboratory, Department of Computer and Software Engineering and Institute of Biomedical Engineering, École Polytechnique de Montréal, Montreal, Quebec, Canada

[2] School of Life Sciences University of Nevada, Las Vegas 4505 South Maryland Parkway Las Vegas, NV 89154-4004

3.1 Introduction

Magnetotactic bacteria (MTB) [28] are prokaryotic microorganisms that synthesize membrane-bounded magnetic nanoparticles within their cytoplasm [41]. These particles, known as magnetosomes, are aligned in a chain-like fashion inside the cell usually positioned along the long axis of the cell. This chain provides the cell with a permanent magnetic dipole moment causing the cell to experience a torque tending to align the cell along magnetic field lines, like a compass needle, in a magnetic field resulting in its magnetotactic behavior (Figure 3-1 A) [42]. Magnetotaxis allows the cell to navigate efficiently to locate and maintain an optimal position in vertical chemical (e.g., oxygen) gradients in its natural environment using the earth's geomagnetic field lines [29, 43].

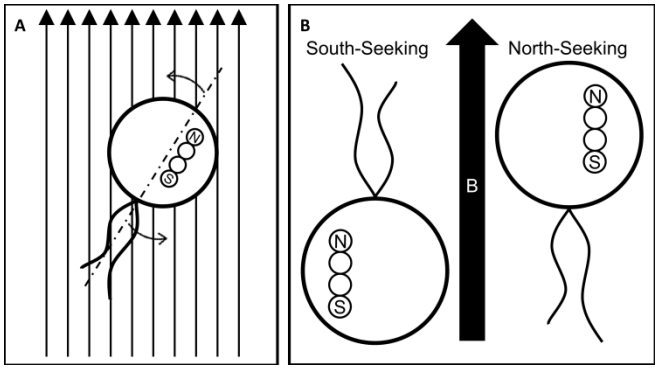


Figure 3-1: (*A*) Magnetic torque exerted on the magnetosome chain of cells of the polar magnetotactic bacterium *Magnetococcus marinus* strain MC-1 in a magnetic field. (*B*) Representation of the swimming direction relative to the magnetic field for north-seeking (NS) and south-seeking (SS) cells.

MTB have been categorized into two groups based on their magnetotactic behavior: polar and axial MTB [36]. Axial MTB align along geomagnetic field lines and swim both parallel and antiparallel along these lines, while polar MTB swim persistently in only one direction, the polarity defined as the preferred swimming direction under oxic conditions (north- or south-seeking; NS or SS). The overall swimming direction of the polar MTB *Magnetococcus marinus* is influenced by magnetotaxis in conjunction with chemotaxis (e.g., aerotaxis) and appears to be controlled by a two-component aerotactic sensory mechanism [36]. Depending on the oxygen concentration, cells of *M. marinus* swim parallel or antiparallel to earth's magnetic field. The direction in which the bacteria navigate is determined by the sense of flagellar rotation which, in turn, is controlled by oxygen concentration and perhaps redox conditions. Under oxic conditions the bacterium swims parallel to earth's magnetic field in order to reach a zone with optimum oxygen concentration (the oxic-anoxic interface or OAI). In the anoxic zone the sense of flagellar rotation reverses causing the bacterium to swim antiparallel to the earth's magnetic field in order to reach the OAI [44]. Polar MTB that swim towards the magnetic north pole (or towards the south pole of a magnet) under oxic conditions are defined as NS, and those migrating in the opposite direction under the same conditions are SS. (Figure 3-1 B) Studies indicate that the polarity of the MTB is highly correlated with the geographical origin of the sample [43]. MTB in water and mud samples collected in the northern hemisphere generally behave in a NS manner and those in southern hemisphere samples mainly as SS although there are exceptions [33]. Previous observations established a relation between the vertical component of the geomagnetic field at the earth's surface and the ratio of SS versus NS MTB in that environment.

Experiments involving pulsed magnetic fields have demonstrated that the polarity of their magnetic nanochains and thus the cell itself can be reversed when a high magnetic pulse antiparallel to the swimming direction of the bacteria is applied [45-47]. Since the swimming direction of the bacteria is highly coherent with the orientation of its internal magnetosome chain [30], it is possible to consider that the applied magnetic field pulse acts on the magnetosome chain by reversing its magnetization if this pulsed field is strong enough to overcome the coercive field of the chain.

In this study, we observed that live cells of *Magnetococcus marinus* change their polarity from NS to SS and vice versa, in a constant high magnetic field when encountering a physical boundary, in this case an air-water interface, in their swimming trajectory. This observation is of

great interest since many microrobotic applications using MTB as microrobots are currently being developed. Examples of such applications are targeted drug delivery systems using computer controlled MTB as microbiocarriers [14] and micro-actuators in microfluidic systems [48]. The development of these types of systems requires understanding the behavior of MTB at different magnetic field strengths. The purpose of this paper is to describe our observations in detail and to support our contention that the change in polarity of cells of *M. marinus* is due to a reversal of the magnetization of the magnetosome chain within the cells using a mathematical model.

3.2 Materials and Methods

3.2.1 Cell culture and light and electron microscopy

Cells of *Magnetococcus marinus* strain MC-1 were grown as previously described [34] in liquid culture in 100 mL serum bottles under microaerobic conditions. To mainly extract the NS MTB population of this culture, MTB were magnetically-separated at room temperature by positioning the south pole of small electromagnet directly underneath a petri dish containing a sample of the culture. By proceeding this way, only the NS MTB gathered over the tip of the electromagnet, allowing us to remove the remaining part of the culture and resuspend the remaining NS MTB in phosphate buffer saline (PBS 1X) for experiments.

Light microscopy observations were carried out using a Zeiss (Carl Zeiss Canada Ltd., Toronto, Canada) ImagerZ1 microscope equipped with a Zeiss AxioCam MRm camera for image acquisition, two rare earth magnets (Indigo Instruments, Waterloo, Canada), a Lake Shore (Lake Shore Cryotronics, Inc., Westerville, OH, USA) Model 450 gaussmeter, and a Physik Instrumente (PI (Physic Instrumente) L.P., Auburn, MA, USA) computer controlled stage. The gaussmeter's transverse probe (Lake Shore probe model MNT-4E04-VH) was positioned under the optical objective of the microscope to calibrate the setup and quantify the magnetic field at the point of observation. By positioning the magnet at variable distances from the sample, we were able to generate various magnetic fields ranging from a few to several hundred gauss. A drop of cell suspension was then applied on a microscope slide and covered with glass supported by two 140 µm thick glass spacers located on each side of the sample drop. Predefined magnetic

fields (100, 175, 295, 570 gauss) were sequentially applied to the samples and images of cells of MTB changing their swimming direction when encountering the drop's edge were acquired.

Sample preparation for transmission electron microscopy (TEM) imaging consisted of placing carbon-coated grids in 0.5 mL suspension of magnetically selected cells of *M. marinus* (following previously described technique) which were allowed to sit without agitation for 12 hours to allow cells to settle onto the grid. The grids were then washed with deionized water, allowed to dry and then viewed with a JEOL Model JEM-2100F electron microscope (JEOL USA, Inc., Peabody, MA, USA) at an acceleration voltage of 200 kV.

3.2.2 Magnetic resonance imaging (MRI)

Magnetic resonance imaging (MRI) experiments were carried out using a 1.5 T Siemens Magnetom Sonata clinical MRI system (Siemens, Malvern, PA, USA). Cells of *M. marinus* containing full magnetosomes chains were placed inside the 1.5 T (15,000 gauss) field and retrieved at different time intervals to observe effects of a magnetic field above 570 gauss.

3.3 Results and Discussion

Cultured cells of *Magnetococcus marinus* strain MC-1 [34, 49], used as a model polar MTB in our experiments, are mainly NS (approximately 80%). When a drop of a bacterial suspension of cells is placed on a microscope slide, it is possible to control the migration direction of the cells by moving a magnet around the drop while keeping the magnet's south magnetic pole facing the sample. The chain aligns along the magnetic field because of the magnetic torque exerted on the chain when there is an angle between the magnetic dipole of the chain and the magnetic field. By leaving the magnet in one position for a period of a few seconds, cells accumulate at the edge of the sample drop that is closest to the south pole of the magnet. What is interesting is that by moving the magnet closer to the drop, thereby increasing the strength of the magnetic field to which the sample is exposed while maintaining the orientation of the field, a portion of the cells migrate away from the original accumulation point. This is remarkable since, unlike the experiments described above, there was no change in the orientation of the magnetic field. The application of a strong static magnetic field on a bacterial suspension of *M. marinus* using either a permanent magnet or an electromagnet thus caused a perpetual back and forth swimming motion of the MTB from one side of a sample drop to the other, in other words, the polarity of

the cells MTB changed continuously (Movie S1 in the Supporting Material). A similar result was observed when cells encountered an obstacle that blocked the cells' swimming trajectory.

To support our contention that the change in polarity of cells of *M. marinus* is due to a reversal of the magnetization of the magnetosome chain within the cells, we analyzed the ratio of bacterial cells that displayed a reversal in swimming direction in two populations of *M. marinus*: one having well formed, complete magnetosome chains and the second having shorter/incomplete magnetosome chains. TEM images of these two populations are presented in Figure 3-2. The first population (Figure 3-2 D-F) consisted of cells collected after six days of cultivation under near to anoxic growth conditions. The magnetosome chains of this group were considered to be incomplete or immature since six days of cultivation proved as an insufficient amount of time for cells to produce complete, well developed magnetosome chains. The second population of *M. marinus*, shown in Figure 3-2 A-C, contained well developed, mature magnetosome chains and was allowed to grow for a 12-13 day period under strongly microaerobic growth conditions. In order to characterize the polarity reversals described in this paper, cells of both populations of M. *marinus* were exposed to magnetic fields of different strengths to identify the range of field values giving rise to a polarity reversal.

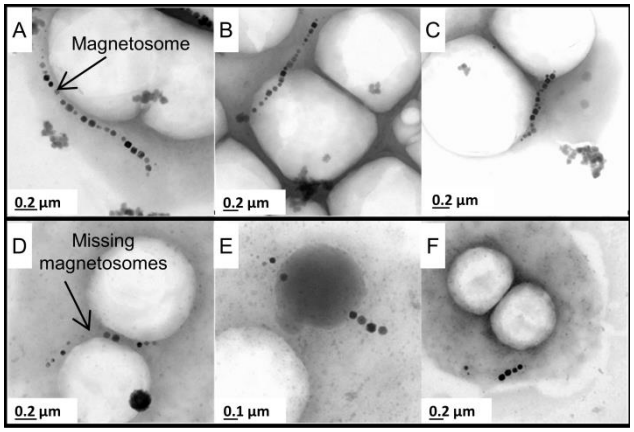


Figure 3-2: Transmission electron microscopy (TEM) images of cells from the two populations of *M. marinus* used in this study. (*A-C*) TEM images of cells harvested later in growth with complete magnetosome chains. (*D-F*) TEM images of cells harvested early in growth with shorter/incomplete magnetosome chains.

Different mathematical models, such as the chain of spheres model [50] and the Stoner Wolfhart [51] model, have been used to explain the magnetization reversal process that takes place in

nanosized magnetic particles and chains. These models allow us to better understand the process related to magnetization reversal. By understanding this process, it is possible to calculate the theoretical energy required to flip the magnetization vector of a single or chain of magnetic particles, and therefore calculate the theoretical coercive field required to do so. The coercive field is the minimal magnetic field value required to reverse the magnetization of a magnetic particle or chain [52]. The chain of spheres model is the most widely accepted model by the scientific community as it describes a remagnetization process known as the fanning mechanism which minimizes the energy barrier which must be overcome for the remagnetization process to take place in a chain of magnetic spheres.

Although the swimming direction of MTB can clearly be modified by changing the orientation of the magnetic field [32], the change in swimming direction as a result of a change in polarity described here is not the result of a change in the magnetic field orientation. This particular phenomenon can be explained through the magnetization reversal process that takes place within the magnetosome chain when the cells reorient as they collide with a boundary and are temporarily exposed to a strong magnetic field (>100 gauss) antiparallel to their magnetization orientation.

When a bacterium collides with an obstacle along their swimming track, for example the air-water interface at the edge of a water droplet, the bacterium becomes reoriented randomly. This results in a portion of the cells to be oriented in the opposite direction of their initial swimming direction at least for a period of time, and therefore in an energetically unfavorable position since a certain component of the field is antiparallel to the magnetization of the chain. Two options are available for the chain to regain a stable orientation in the magnetic field. The chain can cause the cell, due to the magnetic torque acting on it, to reorient itself within the magnetic field and the cell maintains its original polarity; or the direction of magnetization of each magnetic particle within the chain can reverse leading to cells with the opposite polarity. The outcome will vary depending on whether the amplitude of the antiparallel component of the magnetic field is higher or lower than the coercive field of the chain.

This model is based on the chain of spheres model which represents the magnetosome chain as a chain of single domain magnetic spheres. This is plausible for cells of *M. marinus* since the radius of magnetosomes measured using transmission electron microscopy (TEM) had an average

value of 34 nm (68 nm in diameter), which falls within the limits of single domain particles for magnetite (Fe_3O_4) [53-55]. This model considers the total energy of the chain as the sum of the magnetostatic energy (E_{ms}) of the chain and the field energy (E_f). The magnetostatic energy and field energy of the chain is calculated as follows [50]:

$$\begin{aligned} E &= E_{ms} + E_f = \\ &\sum_{i \neq j}^{n} \frac{\mu_i \mu_j}{r_{ij}^{3}} \left[\cos(\theta_i - \theta_j) - 3\cos(\theta_i)\cos(\theta_j) \right] \\ &+ \sum_{i}^{n} \mu_i H \cos(\theta_i) \end{aligned} \tag{3.1}$$

Where μ is the magnetic moment of the particle, r_{ij} is the distance separating the centers of the particles i and j, θ is the angle between the field and the magnetization vector of the particles, and H is the magnetic field.

From this model, we can calculate the theoretical coercive field, which is the required field to overcome the energy barrier (activation energy) and reverse the chain's magnetization. The coercive field of a given chain is calculated using the following equation[50]:

$$H_{c,n} = \frac{\pi I_s}{6}\left(6K_n - 4L_n\right) \tag{3.2}$$

Where K_n and L_n represent mathematical summations taking into account the length of the chain and are defined in [50], and I_s is the saturation magnetization. Since the magnetosomes of MC-1 MTB are composed of magnetite, I_s is evaluated to be 478 emu/cm^3 [56, 57].

As seen in Figure 3-3, this model indicates that longer chains of magnetic particles require a stronger magnetic field to cause a reversal of the magnetization of the chain when exposed to a field that is oriented antiparallel to the magnetization direction of the chain. While the crystal and shape anisotropy of the elongated particles in the chain are not considered in this mathematical model, it was chosen for its simplicity to illustrate the mathematical basis behind the observations presented in this work. If we were to consider the real size and shape distribution of the particles in the chain, the theoretical coercive field value calculated would be higher than the one given by the model chosen here. However, the coercive field offset between two chains of different length

would remain relatively the same. In other words, longer magnetosome chains require a stronger magnetic field to change polarity of the cells from NS to SS and vice versa.

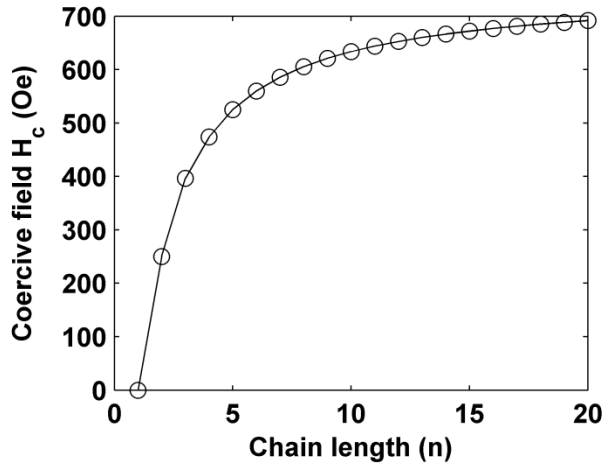


Figure 3-3: Theoretical coercive field (H_c) of magnetosome chains containing magnetite nanoparticles according to the chain of spheres model.

When the magnetic field intensity is higher than that of the earth (~0.5 gauss), oxygen concentration appears to have no more influence on the swimming direction. In this condition the bacterium lines up and swims parallel to $\vec{B}$ (magnetic field direction) and when the magnetic field is reversed, the bacterium performs a U-turn, lines up once again in the magnetic field and swims parallel to B. However, our experimental results show that when the intensity of the magnetic field is higher than that of the earth, the oxygen concentration still influences the bacterial swimming speed. This decrease in swimming speed is due to low oxygen concentration and can be viewed in Figure 3-4. In this figure, an anoxic region was created at the center of a cell suspension of *M. marinus* on a microscope slide. The anoxic region appeared after allowing cells of a non-magnetic mutant of *M. marinus* to consume the oxygen at the center of the sample. A magnetic field of approximately 20 gauss was then applied to the cells to direct magnetic cells towards this anoxic region. As is shown in the figure, cells continued to swim following the direction of the magnetic field even when inside the anoxic region. The only difference between the swimming behavior of the cells located inside and outside the anoxic region was the swimming speed. Thus, under anoxic conditions, the swimming speed of the cells was significantly reduced compared with to those in the oxic zone in which the bacteria appear to reach their maximum speed (Figure 3-4). Therefore when cells are subjected to a magnetic field

slightly higher than 0.5 gauss (the earth's magnetic field) the swimming direction is exclusively dependent on magnetotaxis although their swimming speed is still influenced by oxygen concentration. Thus, the temporary swimming direction reversal in a low oxygen concentration is a biological phenomenon due to the change in flagella rotation and can only be observed at low magnetic field values comparable to that of the earth. At magnetic fields higher than the earth's magnetic field, the oxygen concentration only influences the swimming speed, but not the swimming direction. This leads us to believe that the permanent swimming (polarity) reversal shown here can only be attributed to the effect of the magnetic field on the magnetization of the magnetosome chain within the cell. In other words, it is caused by a permanent physical change in the magnetosome chain and not because of the presence of an oxygen gradient.

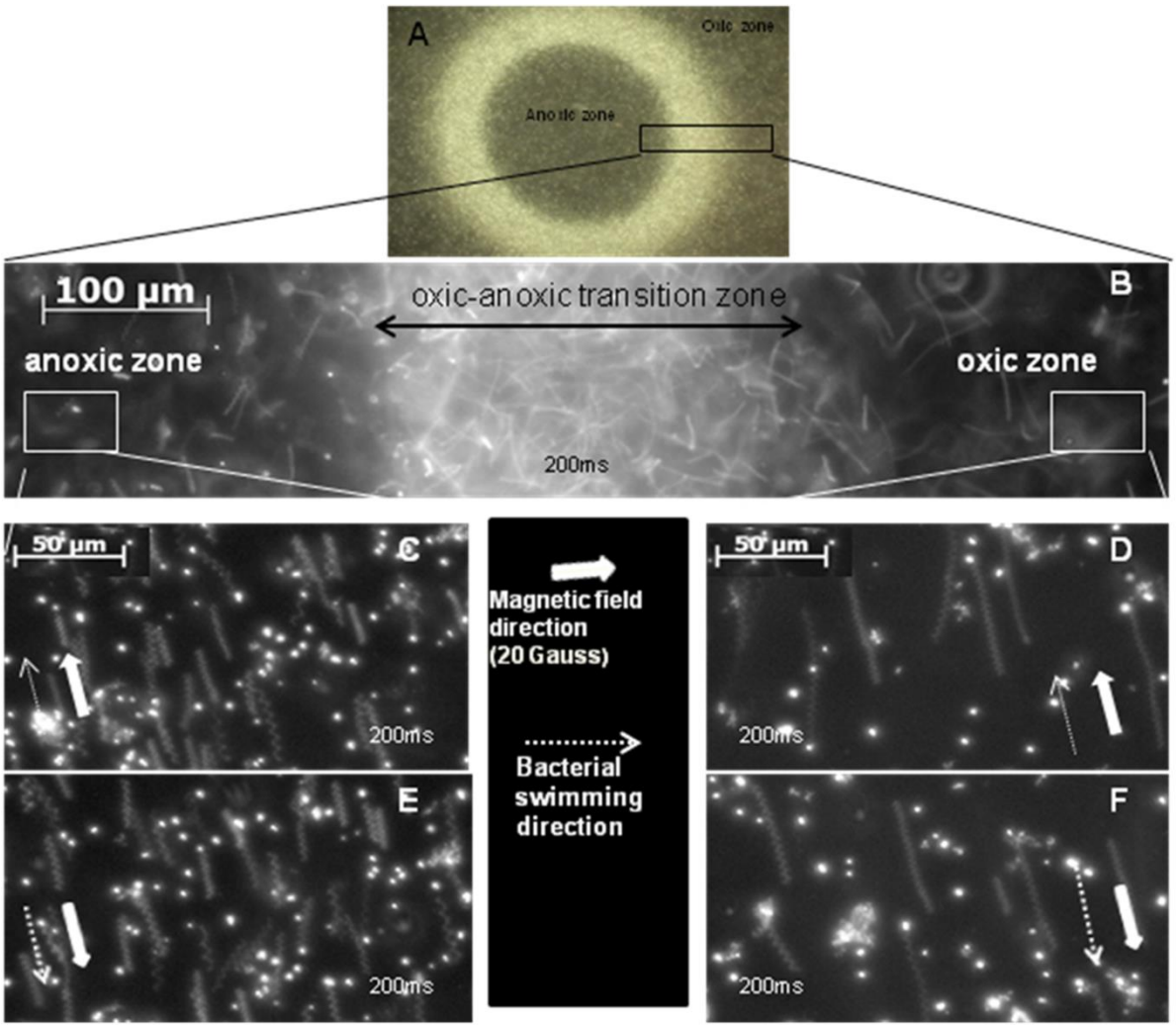


Figure 3-4: In a mixture of nonmagnetic and magnetic cells, the oxic and anoxic zones have been created by cells of the nonmagnetic mutant (*A*), the lines depicted in *C*, *D*, *E*, *F* show the swimming path of cells

during 200 ms. Oxygen influences the swimming speed of magnetic cells and therefore in the anoxic zones (*C* and *E*) the cells' swimming speed is considerably lower than that observed in the oxic zones (*D* and *F*). In oxic, anoxic zones and in a 20 gauss magnetic field, the swimming direction of cells is only influenced by the direction of the magnetic field.

The measured magnetic field required to reverse the polarity of cells of *M. marinus* showed the cells do not behave homogeneously. Cells appear to reverse their polarity in groups depending on the magnetic field values applied to the sample. Figure 3-5 shows the percentage of cells for both populations of cells containing complete and incomplete magnetosome chains that change polarity when exposed to different magnetic field strengths while encountering the edge of a water droplet. It also shows that the cells that contain incomplete magnetosome chains show a higher percentage of those that reverse polarity at lower fields compared to the cells containing complete magnetosome chains, as expected based on the theoretical model presented above. We also observed that cells that contained the longer, complete chains of magnetosomes showed a similar percentage of cells that reversed polarity throughout the range of applied field strengths. When moving the magnet as close as possible to the drop of cell suspension, almost all cells of both populations demonstrated a reversal in polarity when encountering the edge of the drop.

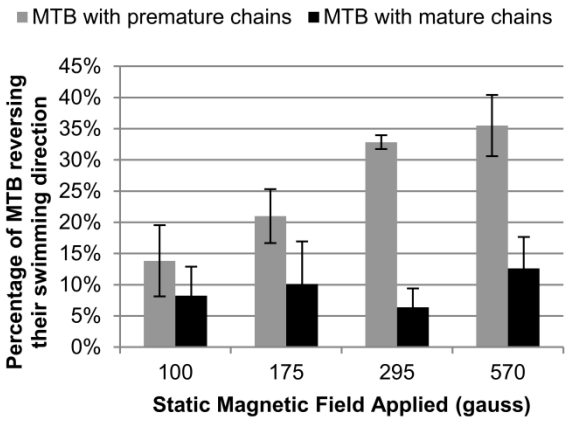


Figure 3-5: Ratio of cells of *M. marinus* that change polarity when encountering the air-water interface of the droplet when exposed to different magnetic field strengths.

Figure 3-6 shows the percentage of NS and SS cells of *M. marinus* that contain complete magnetosome chains placed in a 1.5 Tesla (15,000 gauss) field. We notice that in such a strong magnetic field, the population that started with approximately 80% NS and 20% SS cells almost instantaneously changed to 50%-50% NS vs. SS cells once placed inside the MRI bore.

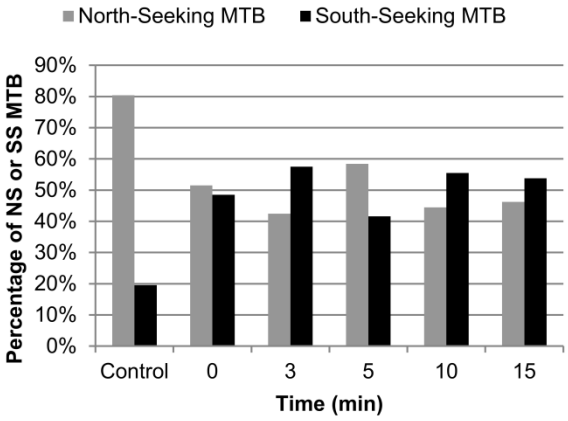


Figure 3-6: Ratio of NS and SS cells in samples of cell suspensions of *M. marinus* exposed to a 1.5 Tesla (15,000 gauss) MRI magnetic field.

TEM images were acquired in order to assess the differences in the magnetosome chains within each population of *M. marinus*. 100 cells were imaged from each population in order to quantify the size and number of magnetosomes in each population. Based on the chain of spheres model, the coercive field depends on the total energy of the chain (the sum of magnetostatic energy and field energy of the chain). From Eq. 3-2, we notice that the coercive field value of the chain depends on the magnetization of each particle (therefore its size and saturation magnetization) and their number. We began by measuring the number of particles within each chain in order to quantify the length of each chain. We then measured the diameter of each particle to quantify the amount of magnetic material. The results are summarized in Figure 3-7. Cells containing complete magnetosome chains displayed an average number of 15 magnetosomes per chain with a standard deviation of ±5, while cells that were collected earlier in growth that contained incomplete chains displayed an average of 8 magnetosomes with a standard deviation of ±3. This confirms that cells with complete magnetosome chains had a higher number of magnetosomes and thus a higher total magnetization of the chain which resulted in an increased coercive field. We also found that the radius of each particle in complete chains varied from 5 to 75 nm with an average value of 34 nm and a standard deviation of ±13, while those in the incomplete chains ranged from 5 to 55 nm with an average value of 27 nm and a standard deviation of ±8. This is represented by a shift to the left of the histogram chart representing cells with incomplete magnetosome chains, which is the result of the presence of the chain's smaller sized magnetosomes. In sum, the amount of magnetic material in the populations is an important factor that influences the coercive field of

the chain. These observations are coherent with the results presented in Figure 3-5 and therefore establish a strong correlation between the magnetosome chain and polarity reversal of cells when exposed to a strong static magnetic field while encountering a boundary.

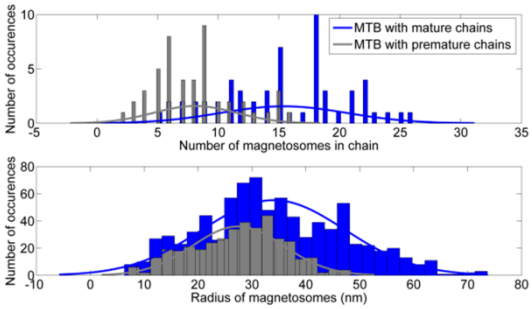


Figure 3-7: Statistical comparison of the two populations of *M. marinus* used in the experiments, one population containing complete magnetosome chains and the other, shorter incomplete chains. (*A*) Histogram of the number of magnetosomes in the chains for each population. (N=100) (*B*) Histogram of the radius of the magnetosomes in each population (N=100).

Based on the chain of spheres model, it is clear that the coercive field of incomplete magnetosome chains is less than that of complete chains. This statement is consistent with our observation that cells with incomplete magnetosome chains reverse their polarity when encountering a boundary while exposed to a high static magnetic field more than those with complete chains, since their coercive field has a smaller value. Therefore, when a bacterium reorients, the antiparallel component of the field in relation to the orientation of the magnetization of the chain doesn't need to be as high as for the mature group to coerce the magnetic chain. This is consistent with our hypothesis that the reversal in swimming direction of the MTB is due to a reversal of the magnetosome chain polarity. This relationship between the characteristics of the magnetosome chain and the field required to induce a swimming direction reversal on the MTB only confirms the fact that this phenomenon is the results of a physical phenomenon related to magnetism and not due to an oxygen gradient in the MTB's environment.

Understanding this behavior gives rise to a number of different applications [14]. For instance, microrobotic drug delivery systems [40] using computer guided MTB must consider this behavior first, to optimize the required magnetic field strengths used to guide MTB, and avoid unintentionally reversing the MTB swimming direction by remagnetizing them in the opposite

direction. Second, this behavior can be used to reverse the magnetization of an entire MTB population by going from a mainly NS to SS population.

In order to visualize both NS and SS cells of *M. marinus* in droplets simultaneously on a single microscope image (our field of view under the microscope is too narrow to allow us to visualize an entire sample droplet), two droplets of identical types of cells were placed adjacent on a single microscope slide. This is a valid technique since the cells in two droplets on the slide are the same and have the same characteristics, such as the same concentration of NS and SS cells. By exposing these two droplets to a common low strength magnetic field (~20 gauss), the initial amount of NS cells in each sample will accumulate on the left side of each drop while SS cells accumulate on the right side of each drop. The two drop edges presented in Figure 3-8 can therefore be considered as representing the distribution of NS and SS MTB in a single droplet. This initial state is presented in Figure 3-8 B, where cells are mainly NS since most of them (represented by thin white lines) are located on the left side of the right drop. After increasing the strength of the static magnetic field (~2,000 gauss) for a period of 10 sec without changing its orientation and immediately returning to a low strength field, initially NS cells on the right side of the drop in Figure 3-8 B are now located on the left side of the drop shown in Figure 3-8 D, showing that the cells have reversed polarity and migrated to the opposite side of the drop when becoming SS. We then created suspensions of cells that were mainly SS. The result was essentially the same confirming our ability to effectively reverse the magnetization of almost all the cells in a suspension.

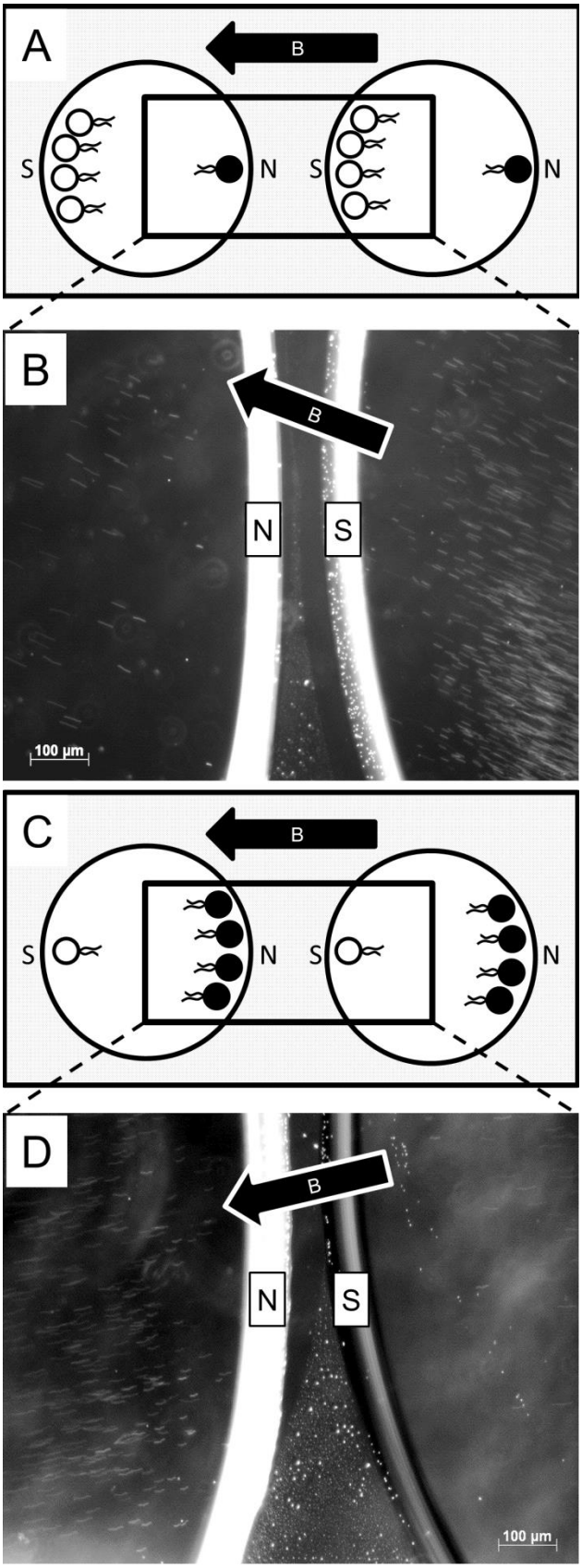

A
B
S
N
S
N
B
B
N
S
100 µm
C
B
S
N
S
N
D
B
N
S
100 µm

Figure 3-8: (*A*) Schematic representation of the two identical drops of a suspension of cells of *M. marinus* in their initial magnetized state (mainly NS) positioned on a single microscope glass slide. Both drops were exposed to a common low strength magnetic field (~20 gauss). NS cells are represented as white spheres and SS cells as black spheres. (*B*) Optical microscopy image of the two identical adjacent drops in their initial magnetized state (mainly NS). Cells appear as small white lines that represent their swimming trajectory since an exposure time of 200 ms was used to capture the image. The white dots appearing in the center of the image (between the two drops) have no relevance since they represent cells outside the two drops. (*C*) Schematic representation of the two identical drops of the suspension of *M. marinus* having been magnetized in the opposite direction of their initial magnetization state (now mainly SS) positioned on a single microscope glass slide. Both drops were exposed to a common low strength magnetic field of ~20 gauss. NS cells are represented as white spheres and SS cells as black spheres. (*D*) Optical microscopy image of the same drops as in B having been magnetized in the opposite direction of their initial magnetization state (mainly SS). This remagnetization was induced by increasing the strength of the magnetic field to approximately 2,000 gauss for a period of 10 sec without changing the orientation of the field. Again, the white dots appearing in the center of the image (between the two drops) have no relevance since they represent cells outside the two drops.

The ability to modify the polarity of a population of polar MTB is an important feature for microrobotic systems using these organisms. These systems only control MTB of a single polarity at a time, meaning that in a normal population of cells, only a portion of the cells are under control while the rest remain uncontrollable. Being able to homogenously magnetize an entire MTB population to obtain a mainly NS or SS population allows for an increased efficiency of the system by being able to control almost the entire population of a cell suspension and not only a part of it. We have designed a device to homogenously magnetize a population of polar MTB which is presented in Figure 3-9. Using four permanent magnets facing each other, a magnetic field layout can be generated where the field lines are oriented towards the center of the device, thus creating a magnetic field gradient in the direction of each magnet. The presence of this gradient is essential to cause the remagnetization of an entire population of MTB to a single NS polarity (the opposite polarity can also be generated by reversing the orientation of the magnets). The behavior of NS MTB in this device is the following: cells will align along the field lines and swim towards the center of the device where the strength of the magnetic field is weaker but strong enough to continually reorient and maintain the position of the cells at the center of the device. In the case of SS MTB, they will swim in the direction of the magnet by

aligning along the magnetic field lines but swimming antiparallel to them, therefore swimming in the direction of the magnetic gradient. When encountering the edge of the drop, the magnetic field strength is strong enough to remagnetize the magnetosome chain when the cells reorient during the collision with the edge of the drop (an obstacle). This polarity reversal results in these cells following the same path as NS cells, meaning that they will swim parallel to the field lines and gather in the center of the device. As a result, an entire population of MTB having a uniform polarity is obtained.

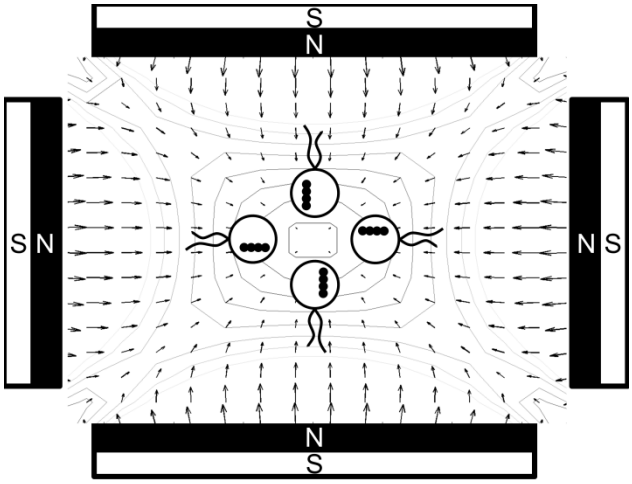


Figure 3-9: Setup of the device using permanent magnets generating a magnetic field layout used to create a population of *M. marinus* of a single NS polarity. Magnetic field intensity and orientation are represented using arrows. Contour lines represent positions where the magnetic field is constant.

3.4 Conclusions

The experiments presented in this study show a clear dependence between the structure of the magnetosome chain and the magnetic field required to cause a reversal in the polarity of the chain. Moreover, we have shown that it is possible to reverse the magnetization of the magnetosome chain in MTB and thus the cell, simply by applying a high static magnetic field when they come in contact with a boundary or obstacle in their swimming path.

The construction of a device capable of homogenously remagnetizing a whole population of polar MTB to a single polarity is also presented. Its application in microrobotic applications, such as computer controlled drug delivery systems based on MTB microrobots is highlighted. Many other potential applications might be possible as a result of understanding this behavior. Such

might be its use as a mixing mechanism, an actuator in microfluidic applications or even as a biological energy source by constraining the bacteria within a given region while they continually reverse their magnetization and generate a perpetual back and forth motion.

CHAPITRE 4 DÉVELOPPEMENT D'APPLICATIONS INFORMATIQUES POUR LE CONTRÔLE DE MTB DANS UN ENVIRONNEMENT TRIDIMENSIONNEL

Ce chapitre décrit le montage expérimental sur lequel se fonde ce projet de recherche ainsi que les logiciels informatiques développés pour contrôler des bactéries magnétotactiques de type *Magnetoccocus marinus* MC-1 à l'aide de champs magnétiques.

Le chapitre est subdivisé en trois parties. Nous décrivons d'abord la plateforme expérimentale utilisée dans le cadre du projet de recherche. Vient ensuite une description du logiciel de simulation conçu et utilisé pour représenter mathématiquement le comportement de la plateforme expérimentale ainsi que son effet sur le comportement des MTB. Nous décrivons finalement un second logiciel qui permet de contrôler l'ensemble de la plateforme expérimentale.

4.1 Contraintes de développement

La plateforme expérimentale développée et décrite dans cette section a pour but de contrôler des MTB à distance dans un environnement tridimensionnel par l'intermédiaire de champs magnétiques. À cette fin, une plateforme expérimentale capable de générer différentes géométries de champs magnétiques sur un certain volume est requise. En se référant au Chapitre 3, il est évident que certaines contraintes liées, entre autres au comportement des MTB, doivent être considérées lors du développement d'une telle plateforme. Ainsi, en se référant à la littérature et aux résultats obtenus au chapitre précédent, différents paramètres doivent être pris en compte. Ceux considérés pour le développement de cette plateforme sont :

1. L'intensité de l'induction magnétique,
2. Le temps de stabilisation requis lors de l'application d'un champ magnétique,
3. Le volume de travail dans lequel nous exerçons un contrôle sur les MTB.

L'étude décrite au Chapitre 3 nous permet tout d'abord d'établir les limites au niveau de l'intensité du champ magnétique à être utilisé dans cette plateforme. Elle démontre qu'il existe une limite maximum au niveau de l'intensité du champ magnétique à partir de laquelle les MTB sont susceptibles de renverser leur polarité et, par conséquent, leur sens de migration. Ce phénomène a été constaté à partir d'une induction magnétique aussi petite que 10 mT, qui définit

donc notre limite supérieure d'induction magnétique. D'autre part, en se référant à la littérature [28, 39], nous savons que les MTB réagissent à des champs magnétiques aussi faibles que 0,05 mT et s'alignent quasi-parallèlement avec le champ magnétique à partir d'une valeur de 0,6 mT. En considérant ces limites, nous avons donc établi qu'à l'intérieur du volume de contrôle dans la plateforme, l'intensité d'induction magnétique générée par la plateforme devait être d'un minimum de 1 mT et d'un maximum de 10 mT.

Notre seconde contrainte exigeait un contrôle aussi rapide que possible au niveau des changements de géométries des champs magnétiques générés à l'intérieur de cette plateforme. Ceci implique que les temps de stabilisation requis par la plateforme doivent être aussi courts que possibles. Nous devions donc nous référer à la littérature afin de déterminer la fréquence maximum à laquelle les MTB peuvent synchroniser leur changement d'orientation avec celui d'un champ magnétique variable dans le temps. Cette fréquence a été identifiée à approximativement 5 Hz[37]. Ainsi, une fréquence de variation de champ magnétique aussi élevée que possible, sans dépasser 5 Hz a été établie.

Finalement, l'espace de travail dans lequel nous envisagions contrôler les MTB devait être circonscrit par des bobines électriques afin de délimiter un espace tridimensionnel dans lequel une grande variété de géométries de champs magnétiques pouvait être générée. La conception de cette plateforme a été effectuée dans les travaux précédents ce mémoire [35].

Ces différentes contraintes sont donc considérées dans les étapes suivantes.

4.2 Description de la plateforme

Nous débutons par une description de la plateforme expérimentale utilisée lors des expériences. Ce montage comporte quatre composantes principales (Figure 4-1) :

1. une plateforme magnétique pour générer des champs magnétiques dans un espace tridimensionnel (Figure 4-1 D),
2. six sources de tension permettant d'alimenter cette plateforme magnétique (Figure 4-1 C),
3. un concentrateur USB pour relier les sources de tensions à un seul port USB de l'ordinateur de contrôle (Figure 4-1 B),

4. une interface informatique pour contrôler les sources de tensions et, par le fait même, le champ magnétique généré à l'intérieur de la plateforme (Figure 4-1 A).

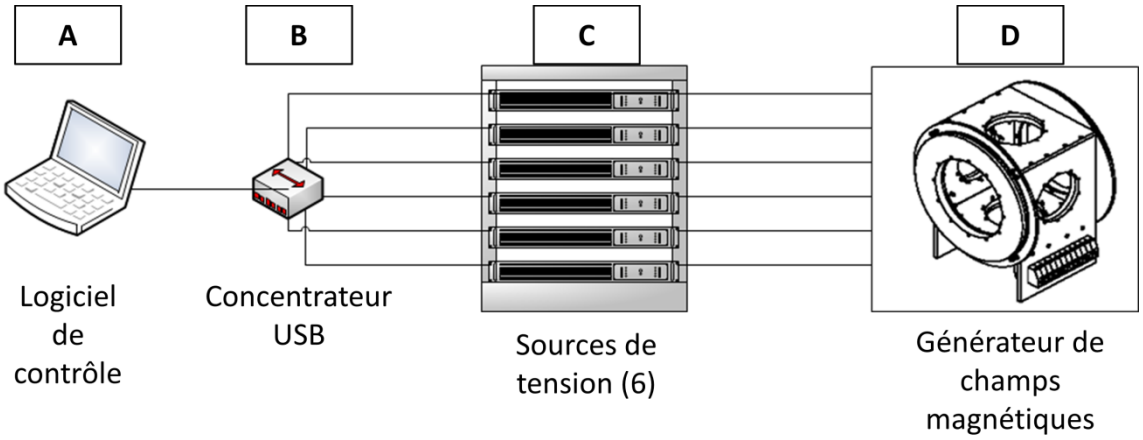


Figure 4-1: Schéma des composantes de la plateforme expérimentale utilisée pour contrôler le déplacement de MTB dans un environnement tridimensionnel. (*A*) Ordinateur permettant de contrôler les sources de tension. (*B*) Concentrateur USB permettant de combiner six connexion USB en une seule. (*C*) Les six sources de tension permettant de fournir les courants requis pour alimenter le générateur de champs magnétiques. (*D*) Le générateur de champs magnétiques.

La Figure 4-2 présente des photographies de certaines des composantes de la plateforme expérimentale prises lors du déroulement d'expériences sur des animaux. Ces expériences seront décrites en détails au Chapitre 6.

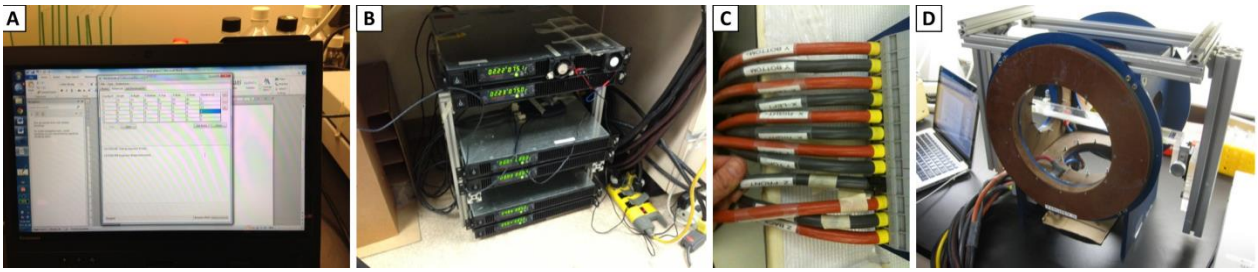


Figure 4-2: Photographies de la plateforme expérimentale. (*A*) L'écran d'ordinateur lors de l'exécution du logiciel de contrôle. (*B*) Les six sources de tension. (*C*) Les fils acheminant le courant provenant des sources de tension au générateur de champs magnétiques. (*D*) Le générateur de champs magnétiques.

4.2.1 Générateur de champs magnétiques

Le générateur de champs magnétiques de la figure Figure 4-2 D et a été développé au laboratoire de NanoRobotique dans le cadre du projet de recherche de doctorat du Dr. Ouajdi Felfoul [35].

Ce générateur consiste en trois paires de bobines électriques positionnées de façon orthogonale l'une par rapport à l'autre. Le schéma de la Figure 4-3 illustre de façon plus détaillée la conception de cette plateforme. La figure montre les dimensions générales de l'appareil afin de permettre au lecteur de mieux visualiser la plateforme.

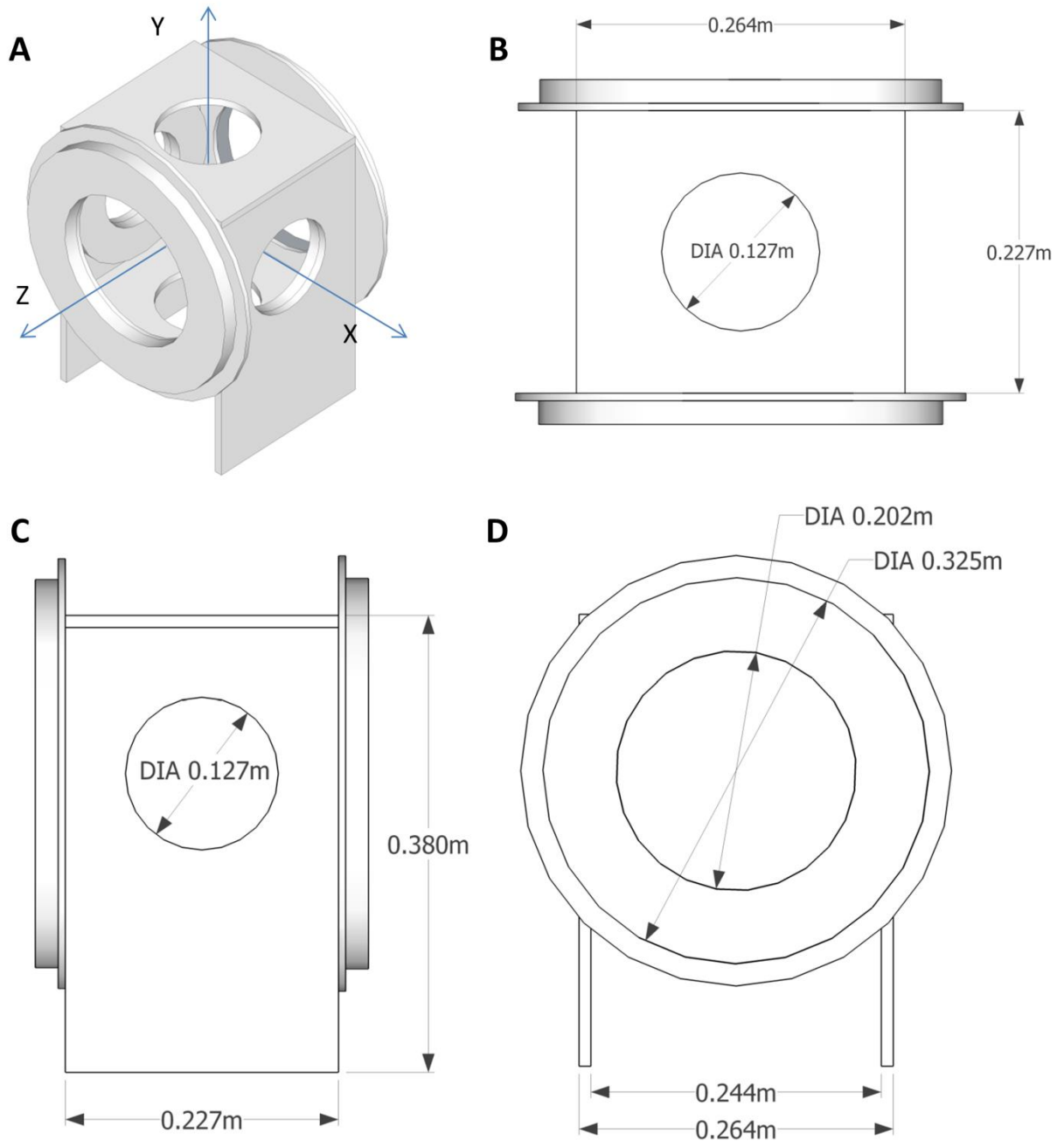


Figure 4-3: Schéma des caractéristiques générales du générateur de champs magnétiques. (*A*) Perspective tridimensionnelle. (*B*) Vue de dessus (selon l'axe des Y). (*C*) Vue de face (selon l'axe des X). (*D*) Vue de côté (selon l'axe des Z).

Comme nous pouvons le constater à la Figure 4-3, le positionnement des bobines électriques permet de circonscrire un espace cubique au centre du générateur, à l'intérieur duquel, il est possible de générer une multitude de géométries de champs magnétiques. En effet, selon

l'application ou non de courants électriques à chacune des diverses bobines, il est possible de générer à l'intérieur du générateur des champs magnétiques quasi uniformes en utilisant la configuration Helmholtz ou bien de générer une région ayant un champ magnétique nul en utilisant la configuration Maxwell [19]. Cet aspect est essentiel au contrôle à distance des MTB dont il sera question plus loin. Cette plateforme de petite taille a été conçue à titre de modèle réduit pour limiter les coûts de développement immédiats tout en permettant de mener nos recherches en procédant à des tests de contrôle tridimensionnel in vitro (Chapitre 5) et in vivo (Chapitre 6). Cette plateforme de taille réduite a été conçue pour fins d'expériences sur des animaux dans l'optique d'en construire une plus grande pouvant éventuellement accommoder un patient humain.

4.2.2 Caractérisation des bobines électriques du montage

Afin de pouvoir caractériser le champ magnétique généré par ce montage, nous devions connaître les caractéristiques précises de chaque bobine électrique. Le tableau suivant présente les diamètres internes, externes et le nombre de tours de fil de chaque enroulement, ainsi que l'espacement entre deux bobines d'une même paire. Ces caractéristiques sont nécessaires afin de calculer et caractériser le champ magnétique généré à l'intérieur de la plateforme.

Tableau 4-1: Tableau des paramètres de simulation requis pour les bobines électriques du générateur de champs magnétiques

	Axe		
	X	**Y**	**Z**
Diamètre intérieur (mm)	126	126	200
Diamètre extérieur (mm)	214	214	316
Nombre de tours de fil	25	25	32
Espacement moyen entre les bobines du même axe (mm)	234	234	250

Les renseignements décrits au Tableau 4-1 proviennent du fabricant Resonance Research Inc. tel qu'ils apparaissent dans le manuel de conception qui accompagnait l'appareil lors de sa livraison. Nous avons validé la véracité de ces caractéristiques pour s'assurer que les simulations informatiques basées sur celles-ci soient fidèles au système en place. Selon les spécifications du fabricant, ce générateur peut supporter un maximum de 100 A en courant continu dans chaque bobine électrique, et une tension électrique maximum de 10 V.

4.2.3 Sources de tension

Les sources de tension *Sorensen XG12-140* utilisées pour alimenter ce montage expérimental peuvent générer des courants pouvant atteindre 140 A et fonctionnent à basse tension sans excéder 12 V. Ce type de source se conforme donc aux exigences de notre générateur de champs magnétiques. Ces types de sources de tension sont contrôlables de façon analogique ou numérique via différents protocoles de communication. Les détails concernant les protocoles de communication disponibles sont couverts plus spécifiquement à la section 4.4.2.

4.3 Description du logiciel de simulation

Pour procéder à nos expériences et tester notre capacité de contrôler des MTB dans un environnement tridimensionnel à l'aide de la plateforme magnétique préalablement décrite, il a fallu développer des simulations permettant de caractériser le champ magnétique généré à l'intérieur de notre montage expérimental et de constater son effet sur le déplacement des MTB.

4.3.1 Équations mathématiques

Afin de caractériser le champ magnétique de notre plateforme, nous devions connaître l'intensité et l'orientation de l'induction magnétique générée à l'intérieur de l'espace cubique délimité par les bobines électriques de notre générateur. À cette fin, nous devions pouvoir calculer la contribution magnétique en un point précis dans l'espace d'une bobine électrique. Considérant qu'une bobine électrique n'est qu'un fil électrique enroulé, nous pouvions nous référer la loi de Biot-Savart qui permet de déterminer la contribution magnétique en point précis dans l'espace issue d'une section de fil transportant un courant électrique. Cette loi se traduit mathématiquement par l'équation suivante [52] :

$$d\vec{H} = \frac{I}{4\pi}\frac{d\vec{l} \times \hat{r}}{r^2} \tag{4.1}$$

où $\vec{H}$ correspond au champ magnétique en ampères par mètre, I correspond au courant électrique en ampères, $d\vec{l}$ est un vecteur dont la norme correspond à la longueur de la section de fil pris comme élément différentiel, $\hat{r}$ est le vecteur unitaire reliant l'élément différentiel du fil au point

où le champ magnétique est calculé, r est la distance entre l'élément différentiel du fil et le point où le champ magnétique est calculé.

Cette formule se prête bien à des situations relativement simples. Cependant, elle n'offre aucune solution analytique dans le cas où nous désirons calculer le champ magnétique généré par une bobine à un point situé ailleurs que sur son axe principal [52]. Nous devons alors nous référer à des approximations numériques faisant intervenir des intégrales elliptiques pour lesquelles des tables numériques précalculées existent.

Considérons un fil circulaire tel qu'on le voit sur la Figure 4-4.

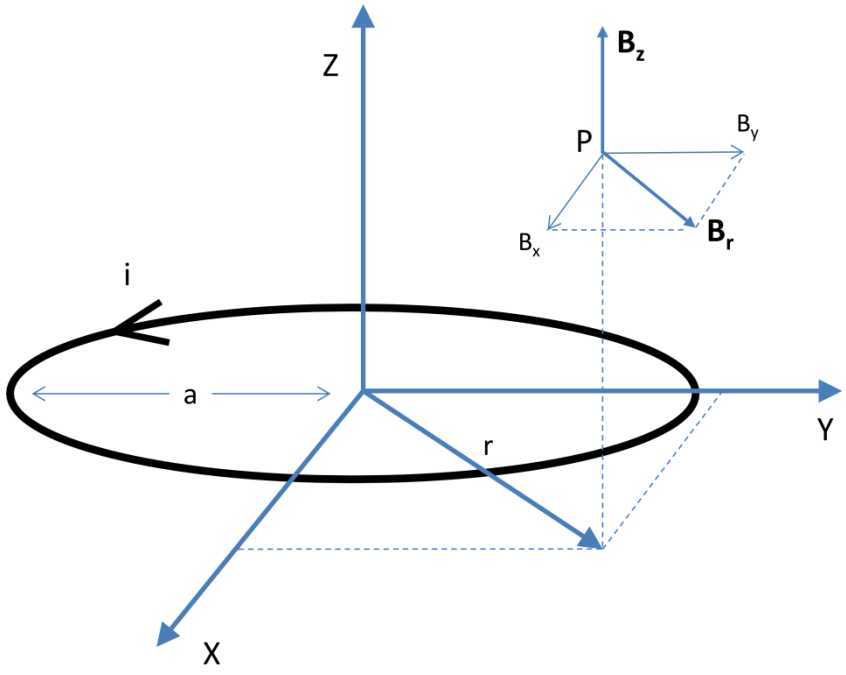


Figure 4-4: Schéma du système de coordonnées utilisé pour calculer le champ magnétique à un point dans l'espace pour un fil circulaire transportant un courant i.

Le champ magnétique généré par ce fil circulaire au point P dans l'espace peut être calculé à partir des expressions mathématiques suivantes [58]:

$$B_z = \frac{\mu_0 i}{2\pi a\sqrt{(1+\alpha)^2+\beta^2}}\left[E(k)\frac{1-\alpha^2-\beta^2}{(1+\alpha)^2+\beta^2-4\alpha}+K(k)\right] \qquad (4.2)$$

$$B_r = \frac{\mu_0 i z}{2\pi a r\sqrt{(1+\alpha)^2+\beta^2}}\left[E(k)\frac{1+\alpha^2+\beta^2}{(1+\alpha)^2+\beta^2-4\alpha} - K(k)\right] \tag{4.3}$$

$$\alpha = \frac{r}{a} \tag{4.4}$$

$$\beta = \frac{z}{a} \tag{4.5}$$

$$k = \sqrt{\frac{4\alpha}{(1+\alpha)^2+\beta^2}} \tag{4.6}$$

Où les termes E(k) et K(k) réfèrent respectivement aux intégrales elliptiques complètes du premier ordre et du second ordre, μ_0 correspond à la perméabilité de l'espace ($4\pi \times 10^{-7}$ Hm^{-1}), i est le courant en Ampères, z est la distance en mètres selon l'axe Z entre le point P et le point milieu de l'anneau de courant, a correspond au rayon en mètres de l'anneau de courant, et r est la distance radiale en mètres du point P par rapport à l'anneau de courant.

Ces équations nous permettent donc de déterminer le champ magnétique engendré par un courant électrique circulant dans un fil circulaire à n'importe quel endroit dans l'espace. Si l'on considère que les bobines électriques de la plateforme magnétique constituent une superposition de plusieurs fils circulaires semblables à celui présenté à la Figure 4-4, nous pouvons utiliser ces équations pour calculer le champ magnétique produit par chaque bobine électrique de la plateforme lorsqu'un courant y est appliqué. Les paramètres de chaque bobine électrique de la plateforme étant connus (Tableau 4-1), il est possible de calculer la contribution magnétique de chaque enroulement transportant un courant et, en utilisant le théorème de superposition des champs magnétiques, de déterminer le champ magnétique à n'importe quel point dans le montage expérimental.

L'interface et le code informatique permettant de simuler les champs magnétiques générés par notre montage expérimental ont été développés en utilisant le logiciel MATLAB (MathWorks). Ce langage de programmation a été retenu en fonction de sa fiabilité, sa simplicité d'utilisation et des nombreuses fonctions mathématiques qu'il contient.

Un aperçu de l'interface ayant été développée est présenté dans la Figure 4-5. Ce logiciel permet de calculer le champ magnétique généré par la plateforme lors de l'application de courants dans les différentes bobines électriques. Le champ magnétique que produisent ces simulations est illustré dans le graphique tridimensionnel de la Figure 4-5. Les flèches bleues réparties à intervalles réguliers simulent l'intensité et la direction de l'induction magnétique. La longueur de chacune d'entre elles est proportionnelle à l'intensité du champ magnétique. Cette visualisation facilite non seulement la compréhension du fonctionnement du générateur de champs magnétiques mais également les différentes géométries de champs magnétiques que ce montage permet. Il s'agit d'un outil essentiel pour l'expérimentation future et le développement de géométries de champs magnétiques permettant de contrôler les MTB. Sachant que la direction du mouvement des MTB s'allie à la direction du champ magnétique, nous pouvons considérer que la flèche qui représente le champ magnétique représente également la direction que prendront les MTB situées en ce point. Le code informatique du logiciel de simulation qui a été développé est présenté à l'annexe 1.

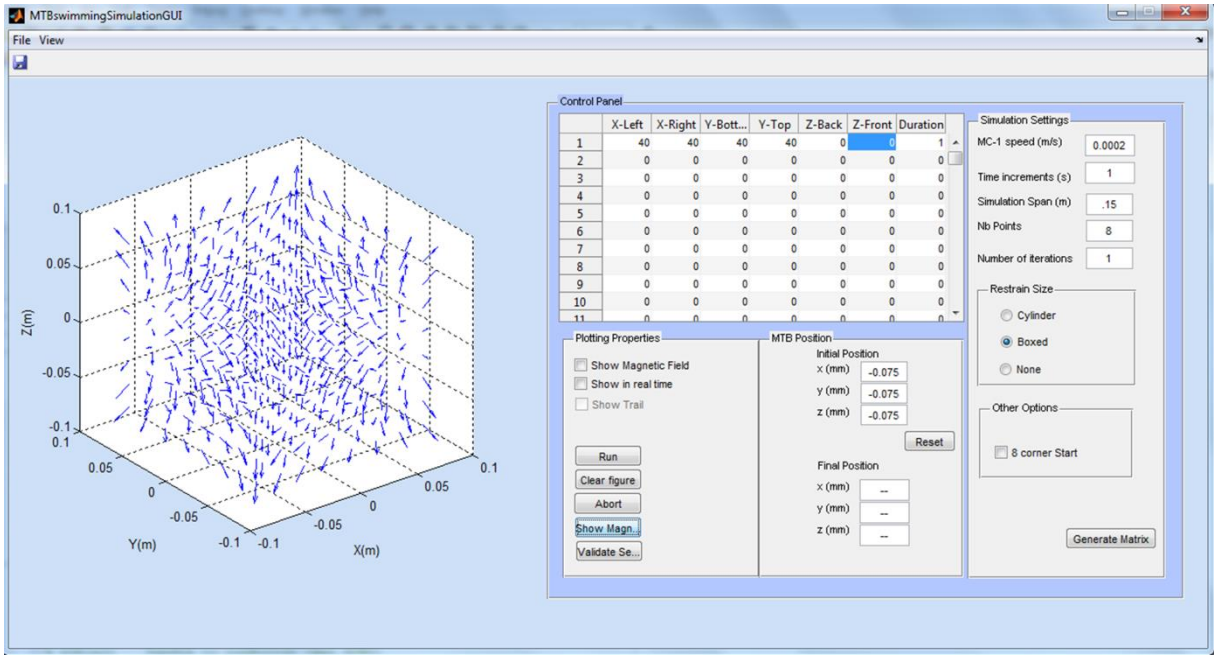


Figure 4-5: Capture de l'écran du logiciel de simulation développé pour simuler des champs magnétiques générés par la plateforme expérimentale. Un graphique tridimensionnel à gauche de l'interface présente le résultat de la simulation. Le panneau de configuration des paramètres de la simulation est présent du côté droit de l'interface.

La capture d'écran du logiciel de simulation (Figure 4-5) du côté gauche de l'interface montre un graphique tridimensionnel affichant les flèches de champs magnétiques dont il a précédemment été question. Du côté droit de l'interface, nous remarquons la multitude de fonctions à notre disposition pour varier les paramètres de la simulation. Le paramètre de simulation principal est le tableau spécifiant la liste de courants à appliquer dans chacune des bobines électriques afin de générer le champ magnétique souhaité à l'intérieur de la plateforme. Afin de faciliter la compréhension des travaux subséquents, nous identifierons par *configuration magnétique,* un champ magnétique à géométrie variable qui se définit selon l'intensité et la durée d'application des six courants pouvant être appliqués dans chacune des bobines électriques du montage expérimental.

Ayant décrit les techniques de simulation du champ magnétique de notre logiciel, procédons maintenant à l'étude du déplacement d'une bactérie magnétotactique sous l'influence de ces champs magnétiques.

4.3.2 Simulation du déplacement de MTB

Les MTB peuvent être considérées comme des micro-aimants autopropulsés se déplaçant dans la direction du champ magnétique. Connaissant leur vitesse moyenne de déplacement et considérant que ces micro-aimants s'alignent parfaitement avec le champ magnétique, nous pouvons prévoir leur déplacement en fonction du champ magnétique appliqué à l'endroit où elles se trouvent. Nous avons choisi de décomposer la vitesse d'une bactérie en trois vitesses distinctes qui tiennent compte de chaque axe de la plateforme en utilisant les équations suivantes :

$$v_x = V\frac{B_x}{B_{tot}} \tag{4.7}$$

$$v_y = V\frac{B_y}{B_{tot}} \tag{4.8}$$

$$v_z = V\frac{B_z}{B_{tot}} \tag{4.9}$$

où B_{tot} correspond à l'amplitude totale de l'induction magnétique (en Teslas) au point d'observation, V correspond à la vitesse moyenne de déplacement de ce type de MTB (200 µm/s

dans ce cas), v_x, v_y, v_z sont les vitesses de la bactérie selon chaque axe de la plateforme, et B_x, B_y, B_z sont les composantes selon chaque axe de la plateforme de l'induction magnétique totale en Teslas.

Grâce à ces équations, nous pouvons prédire le déplacement d'une bactérie à partir de sa position initiale, l'orientation du champ magnétique en ce point, et sa vitesse moyenne de déplacement.

En calculant mathématiquement le déplacement périodique prévu des MTB, le logiciel de simulation nous permet de visualiser le déplacement des MTB au fil du temps lorsqu'exposés à une configuration magnétique particulière.

Imaginons un volume contenant une distribution homogène de MTB. Afin d'agréger ces MTB en un point situé au centre de ce volume, il est nécessaire de générer un champ magnétique dont les lignes de champ sont toutes orientées vers un même point dans l'espace, soit au centre de ce volume. Cette solution nous mène à imaginer un champ magnétique avec une géométrie semblable à celle présentée à la Figure 4-6.

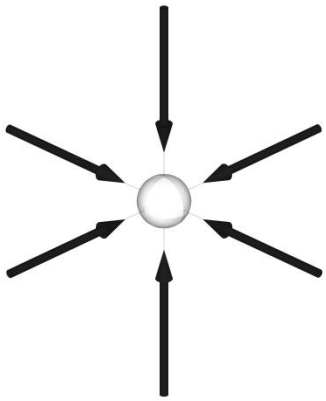


Figure 4-6: Représentation tridimensionnelle des lignes de champ magnétique d'un monopole magnétique. Les flèches dans ce schéma représentent les lignes de champs magnétiques. La sphère au centre représente un monopole magnétique vers lequel les lignes de champ convergent.

En termes physiques, ce type de situation se traduit par la possibilité de générer un monopole magnétique, ce qui irait à l'encontre d'une des équations de Maxwell qui stipule que la divergence de l'induction magnétique est toujours nulle (équation 4.10).

$$\nabla \cdot B = 0 \tag{4.10}$$

Il est donc impossible d'envisager l'utilisation d'un simple champ magnétique statique pour générer un agrégat de MTB dans un environnement tridimensionnel. Afin de contourner cette limitation, nous proposons donc d'ajouter une 4e dimension au problème en multiplexant temporellement différentes configurations magnétiques. L'utilisation de cette stratégie permet d'émuler l'existence d'un monopole magnétique dans un environnement tridimensionnel. Le multiplexage temporel cyclique de configurations magnétiques sera dorénavant identifié sous le nom de *séquence magnétique*. Celle-ci correspond donc à un ensemble de configurations magnétiques auxquelles s'associe un temps d'exposition. Un exemple de séquence magnétique composée de six configurations magnétiques apparaît au Tableau 4-2. Cette séquence consiste à appliquer, de façon séquentielle, un courant de 40 A dans chaque enroulement du montage expérimental pour une période de trois secondes. Une fois les six configurations magnétiques appliquées, le cycle recommence de nouveau avec la première configuration. Ce type de séquence magnétique peut être simulé à l'aide du logiciel en utilisant le tableau de l'interface permettant d'y spécifier diverses séquences magnétiques.

Tableau 4-2: Exemple de séquence magnétique composée de 6 configurations magnétiques

# de Configuration	**Courant dans chaque enroulement (A)**						**Temps d'exposition (s)**
	X^-	**X^+**	**Y^-**	**Y^+**	**Z^-**	**Z^+**	
1	40	0	0	0	0	0	3
2	0	40	0	0	0	0	3
3	0	0	40	0	0	0	3
4	0	0	0	40	0	0	3
5	0	0	0	0	40	0	3
6	0	0	0	0	0	40	3

Le tableau du logiciel de simulation permet d'insérer les données d'une séquence et de visualiser l'effet que provoque le multiplexage de ces configurations magnétiques sur le déplacement de MTB au fil du temps. Le nombre de séquences magnétiques pouvant être introduit dans le logiciel est infini. La sélection et l'analyse de l'effet de ces diverses séquences magnétiques sur le déplacement de MTB sera discutée dans le prochain chapitre.

Dans cette section, nous avons présenté le logiciel de simulation développé pour caractériser le champ magnétique de notre plateforme expérimentale et pour simuler l'effet de ces champs magnétiques sur le déplacement des MTB. Une approche permettant de potentiellement simuler l'existence d'un monopole magnétique nécessaire à l'agrégation de MTB dans un environnement tridimensionnel a également été discutée.

4.4 Description du logiciel de contrôle du montage expérimental

Afin de tester expérimentalement les séquences magnétiques développées à l'aide du logiciel de simulation, un programme informatique a été conçu pour contrôler les sources de tension du montage expérimental et les champs magnétiques appliqués à l'intérieur de la plateforme. Le but du programme est de pouvoir appliquer les séquences magnétiques testées à l'aide du logiciel de simulation en spécifiant, tout comme dans le logiciel de simulation, les courants à appliquer dans chaque bobine pour les périodes de temps requises.

4.4.1 Description du logiciel de contrôle

La Figure 4-7 présente l'interface du logiciel de contrôle du montage expérimental. Cette interface graphique a été construite en utilisant le langage XAML, alors que la gestion des événements est effectuée à l'aide du langage C#. Les classes principales du code informatique de ce logiciel sont présentées à l'annexe 2. Tout comme le logiciel de simulation, l'interface de ce logiciel comporte un tableau interactif pour spécifier la séquence magnétique devant être appliquée en identifiant les courants ainsi que les temps d'application de chaque configuration magnétique. De plus, les fichiers de séquences magnétiques sont compatibles avec les fichiers du logiciel de simulation précédemment décrit. Ainsi, l'utilisateur peut entreprendre des simulations et ensuite les transférer au logiciel de contrôle pour être testées sur des échantillons de MTB.

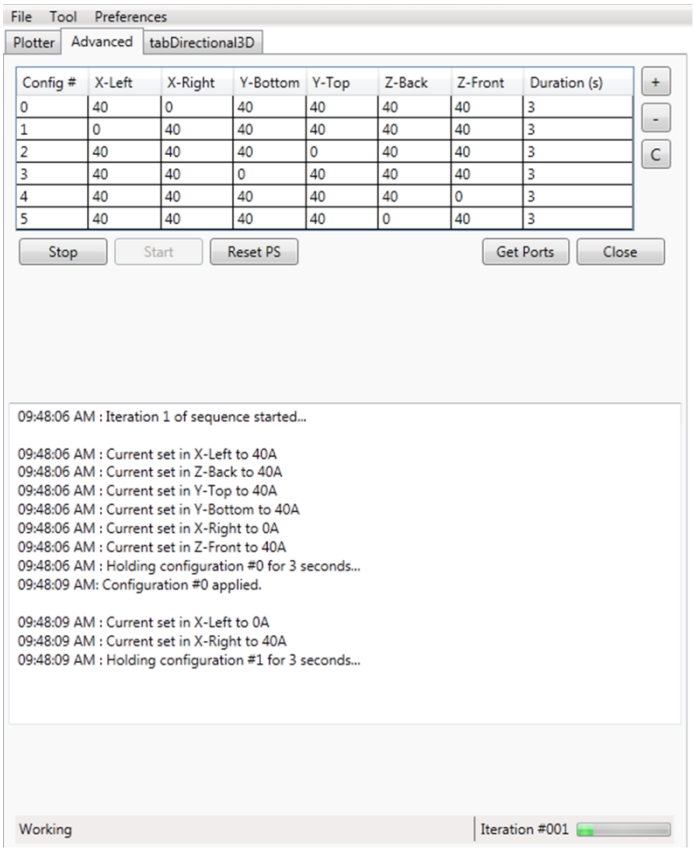


Figure 4-7: Capture de l'écran de l'interface du logiciel de contrôle de la plateforme expérimentale.

Dans la section supérieure de l'interface (Figure 4-7), nous retrouvons une grille de chiffres correspondant à celle présente dans le logiciel de simulation (Figure 4-5). Cette grille est le principal outil pour l'utilisateur. Elle lui permet de spécifier les courants de chaque configuration magnétique ainsi que son temps d'application lors de l'exécution cyclique de cette séquence. Par exemple, à la Figure 4-7, six configurations magnétiques, numérotées de zéro à cinq, seront chacune appliquées de façon séquentielle pendant trois secondes chacune. Une fois toutes appliquées, elles le seront à nouveau et ne seront interrompues que lorsque l'utilisateur appuiera sur le bouton d'arrêt.

La partie inférieure de l'interface permet à l'utilisateur de vérifier l'application des courants. Advenant le cas où une exception logicielle serait générée, l'utilisateur serait en mesure de constater le problème et d'agir en conséquence afin de corriger la situation.

Le fonctionnement informatique simplifié de ce logiciel est présenté à la Figure 4-8. Il utilise deux fils d'exécution afin de permettre l'envoi de commandes aux sources de tension à intervalles réguliers. Cette technique permet donc au logiciel d'exécuter la séquence sans interruption tout

en permettant à l'utilisateur de modifier la grille de séquence magnétique afin de préparer la prochaine séquence devant être appliquée. Le choix des séquences doit se faire judicieusement pour permettre aux MTB de se déplacer de la façon envisagée.

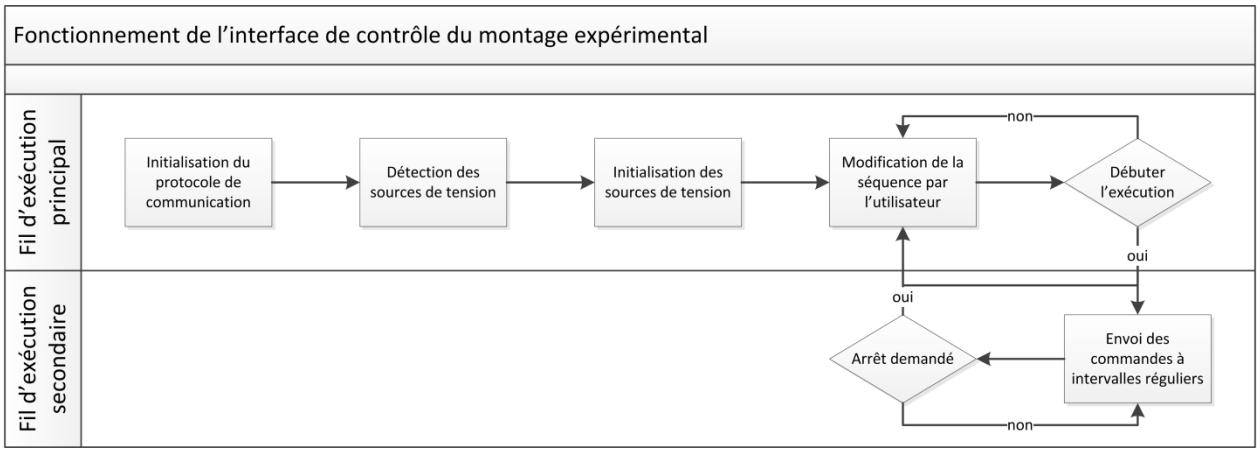


Figure 4-8: Diagramme du fonctionnement séquentiel de l'interface de contrôle du montage expérimental

4.4.2 Protocole de communication

Afin de permettre à l'utilisateur d'utiliser le logiciel informatique pour appliquer les courants dans les différentes bobines électriques du montage, nous devions assurer une communication entre l'ordinateur exécutant le logiciel et les sources de tension permettant de générer les courants électriques.

En termes de protocoles numériques de communication, la source de tension XG12-140 offre plusieurs possibilités: General Purpose Interface Bus (GPIB), RS-232, RS-485, USB, et Ethernet. Chacune de ces interfaces numériques comporte des avantages et des inconvénients. Les paramètres les plus importants à considérer dans ce type de développement résident dans les délais de communication entre l'interface logicielle et les sources de tension, ainsi que dans la facilité d'utilisation. Après avoir testé la communication GPIB, notre choix de protocole numérique de communication s'est arrêté sur la communication par port USB via un port de communication sériel virtuel. Ce type de communication a d'abord été choisi pour son accessibilité, puisque l'on peut trouver un port USB sur pratiquement n'importe quel ordinateur, mais aussi pour son développement avancé de protocole USB où les délais de communications demeurent pratiquement imperceptibles.

4.4.3 Mesure du temps d'envoi des commandes

Afin de valider le fonctionnement du logiciel de contrôle, nous avons procéder à des mesures expérimentales permettant de confirmer que le champ magnétique dans la plateforme reflétait bien la séquence introduite dans l'interface. Cette validation a été effectuée en comparant les temps d'exposition des configurations magnétiques d'une séquence introduite dans le logiciel à l'activité magnétique à l'intérieur de la plateforme.

Pour mesurer l'activité magnétique, une pince ampérométrique permettant de mesurer le champ magnétique généré par un courant circulant dans un fil a été placée sur les fils qui alimentent le générateur. Un seul fil de chacune des six paires de fils d'alimentation des bobines du montage a été placé dans cette sonde. Une séquence induisant un courant de 40 A dans chacune des bobines du montage a été appliquée, comme l'indique le Tableau 4-2. Nous avons ainsi obtenu des graphiques, tel que celui de la Figure 4-9, caractérisant la tension aux bornes de la sonde magnétique, qui représente l'intensité relative du courant présent dans chacune de ces bobines.

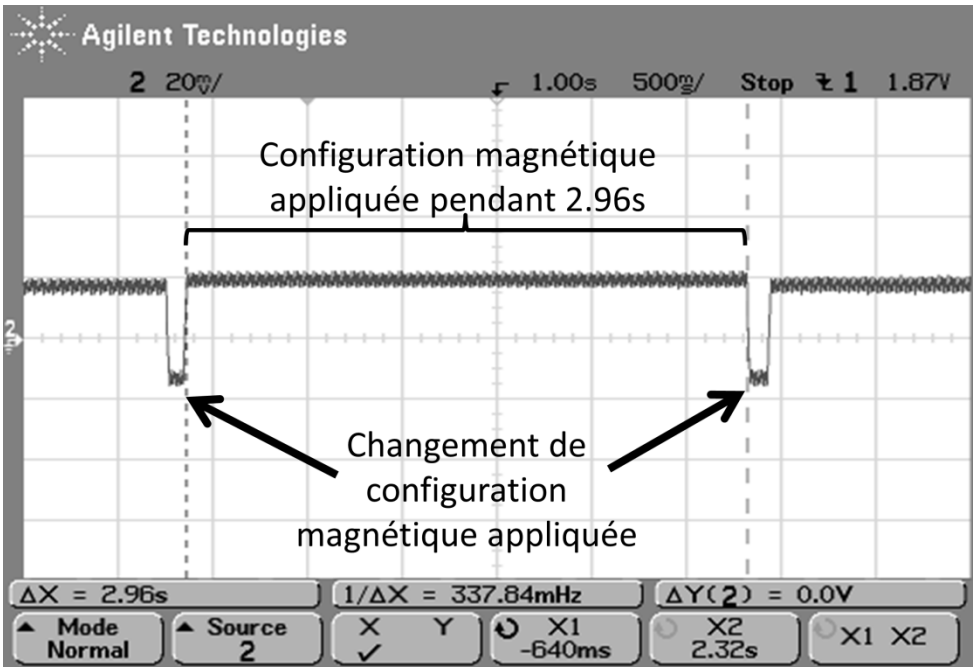


Figure 4-9: Mesure de l'activité magnétique à l'intérieur de la plateforme expérimentale lors de l'application de la séquence magnétique présentée au Tableau 4-2. Les creux du signal présenté correspondent aux moments où aucune activité magnétique n'est présente dans la plateforme, alors que les plateaux supérieurs indiquent une activité magnétique constante.

Dans la Figure 4-9, le signal correspond à l'activité magnétique à l'intérieur de la plateforme. Ainsi, un creux correspond à une période de temps où aucun courant n'est appliqué dans les bobines électriques. Un plateau correspond, d'autre part, à une période où un champ magnétique est appliqué et maintenu. À partir de ces mesures, nous avons constaté la présence de plateaux répétitifs d'une durée de 2.96 secondes signifiant que chaque configuration magnétique était appliquée pendant cette durée, alors que notre séquence spécifiait un temps d'application de trois secondes. La précision au niveau du temps d'application des courants reste donc à 40 ms près. Pour la phase expérimentale du projet cet écart a été jugé comme négligeable en considérant que les MTB ne synchronisent pas leur changement de direction avec des champs magnétiques variant à des fréquences supérieures à 5 Hz [37].

Nous avons de plus constaté une durée d'environ 100 ms entre chaque plateau. Cet écart provient du délai de communication entre l'interface logicielle et l'application des courants dans les bobines du montage. Ici encore, en considérant que les MTB ne synchronisent pas leur changement de direction à fréquence de changement excédant 5 Hz, nous avons considéré ce délai comme acceptable afin de poursuivre la validation de ces séquences sur des échantillons de MTB dont il sera question au prochain chapitre. Nous devons également prendre en considération le fait que le temps requis de stabilisation pour ce type de source de tension branchée à notre plateforme est d'environ 30 ms. Ces délais sont donc acceptables dans la poursuite nos tests de validation du contrôle tridimensionnel des MTB par champs magnétiques.

4.5 Limitations

Ce logiciel comporte évidemment quelques limitations. Tout d'abord, considérant les délais de communication présentés à la section 4.4.3, il est logique de constater qu'il existe une limitation au niveau de la fréquence d'envoi des commandes. Le logiciel a été testé en diminuant graduellement la période de chaque configuration d'une séquence appliquée. Nous avons été en mesure de diminuer le temps d'exposition de chaque configuration magnétique à un niveau aussi bas que 0,3 seconde. À partir de ce point, le logiciel est susceptible de générer des exceptions et, peut ainsi sauter l'application de certaines configurations dans une même séquence. Malgré tout, cette limitation en termes de fréquence, ne nuit pas au fonctionnement de la plateforme expérimentale puisque cette limite fréquentielle au niveau des changements des configurations ne

devrait jamais être atteinte, les MTB étant incapables de répondre correctement à un champ magnétique variant à une fréquence de plus de 5Hz.

4.6 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté la plateforme expérimentale permettant de contrôler des MTB dans un espace tridimensionnel composée :

- d'un logiciel de simulation permettant de caractériser le champ magnétique de la plateforme et son effet sur le déplacement de MTB,
- d'un logiciel de contrôle permettant de contrôler l'application de champs magnétiques de la plateforme,
- de six sources de tension permettant d'alimenter le générateur,
- d'un générateur de champ magnétique

Dans le prochain chapitre, nous exposerons différentes techniques permettant de contrôler des MTB à distance dans un environnement tridimensionnel à partir de la plateforme expérimentale que nous venons de décrire.

CHAPITRE 5 THREE-DIMENSIONAL REMOTE AGGREGATION AND STEERING OF MAGNETOTACTIC BACTERIA MICROROBOTS FOR DRUG DELIVERY APPLICATIONS

Dominic de Lanauze, Ouajdi Felfoul, Jean-Philippe Turcot, Mahmood Mohammadi, and Sylvain Martel

NanoRobotics Laboratory, Department of Computer and Software Engineering and Institute of Biomedical Engineering, École Polytechnique de Montréal (EPM), Campus of the Université de Montréal, P.O. Box 6079, Station Centre-ville, Montréal (Québec), Canada H3C 3A7

5.1 Introduction

The miniaturization of robotic systems to the microscale has encountered serious setbacks. Technological limitations have prevented scientists and engineers from developing self-powered actuated microscale robots [59-62]. Rather than focusing on the development of completely artificial microrobots, Magnetotactic Bacteria (MTB) [28, 42], described in detail below, are considered to be natural microrobots able to perform many tasks envisioned for futuristic artificial microrobots including but not limited to the micromanipulation or transport of micrometer-scale objects [39], coordinated microassembly of larger micro-objects [40], magnetic separation of material in liquid environments [63], magnetic resonance imaging contrast agents [7, 64], and targeted drug delivery to tumors [14]. While directional control of MTB is sufficient in certain applications, the ability to create, maintain, and control MTB aggregates is critical in many others.

For instance, in Martel's study [40], a small computer-controlled electromagnet was positioned directly underneath a microscopically observed sample. This allowed our research group to aggregate MTB and select the size of the aggregations to increase the displacement force from individual MTB to a level suitable to move relatively large micro-objects. As described in [14], when considering MTB as potential drug carriers, being able to aggregate a large number of drug-loaded MTB is critical for two reasons; to potentially achieve higher targeting efficacy and to deliver an adequate dose of therapeutics to a tumor. Therefore, our main concern in this article is to describe an efficient method to remotely aggregate MTB in 3D to take advantage of their inherent magnetotaxis [65].

MTB are microorganisms that synthesize membrane-bounded magnetic nanocrystals. These nanocrystals, known as magnetosomes [29, 42], align in the cell in a chain like fashion and enable the bacteria to respond to the presence of magnetic fields. This behaviour occurs when the bacterium reacts to the magnetic torque exerted on it when the surrounding magnetic field and the magnetic moment of the chain are not parallel. Such behavior can be compared to the way a compass needle orients itself in parallel to the surrounding magnetic field. This property allows the MTB to orient themselves in their natural environment by making use of the Earth's magnetic field to propel themselves using their flagella towards their preferred chemical environment, usually a low oxygen concentration region[36, 44]. We can take advantage of this characteristic to influence the MTB's swimming trajectory by varying the direction of the applied magnetic field by using a simple permanent magnet (Figure 5-1). Taking into consideration that the magnetic force exerted on a magnetic particle is proportional to the particle's volume, due to the small size and relatively weak magnetic moment of the nanoparticles in the magnetosome chain, no significant translational force is exerted on the chain in the presence of a magnetic gradient [63]. This aspect is therefore set aside for our experiments.

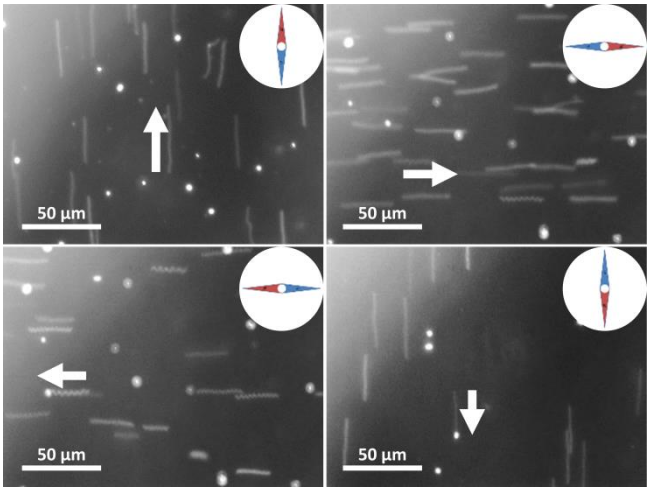


Figure 5-1: Microscopic images of MTB (white lines) responding to the presence of a 2 mT magnetic field induction oriented in different directions. The white dots in the background are immobilised bacteria on the surface of the microscope slide and should be ignored. The white arrows indicate the swimming direction of the MTB. The red tip of the compass needle appearing in each frame indicates the direction of the applied magnetic field. Images were acquired using a Zeiss Imager.Z1 optical microscope in dark field reflexion mode using an exposure time of 200 ms.

The MTB used as microrobots in these experiments are of the type known as *Magnetococcus Marinus MC-1* [34]. This specie of MTB has a spherical shape with an approximate diameter of 2 μm and is capable of reaching an average swimming speed of about 200 μm/s [14] by making use of its two bundles of flagella which act as propellers. These MTB can be considered as self-propelled nanomagnets that orient parallel to the surrounding magnetic field lines because of the magnetic torque exerted on their embedded chain of magnetosomes.

In order to make use of these MTB to perform microscale tasks, one must control the migration of the MTB whether individually or in a swarm (group of MTB). In this article we describe the techniques used to control MTB in order to produce 3D aggregates. Although 2D aggregations can be obtained relatively easily using a single electromagnet positioned close to the sample as demonstrated in [40] to build a microscale pyramid, the ability to remotely generate aggregations in a 3D volume proves to be more of a challenge.

Remotely generating 3D MTB aggregates is however better suited to our prospective future drug delivery applications since it enables us to better control and guide these micro-organisms through the intricacies of the human body. The ability to so proceed is essential not only for medical interventions to minimize the invasiveness of interventions but also to better respond to different micromanipulation and microassembly tasks.

5.2 Model, Experimental Setup and Simulations

Let us consider a liquid mixture containing homogenously suspended MTB. In order to aggregate the MTB contained in this solution, each one of these MTB would need to swim towards a common position in the solution (say, the center of the solution). Since the microorganisms behave magnetotactically, as shown in Figure 5-1, it is realistic to envision using a magnetic field to dictate the swimming trajectory of the MTB to produce such an aggregation. To do so would involve subjecting the MTB solution to a particular magnetic field geometry to orient each MTB in the solution towards a common position in the solution. Such a magnetic field geometry would require that all of its magnetic field lines be directed towards the aggregation point to force the MTB to swim towards it. Figure 5-2 exemplifies such a magnetic field.

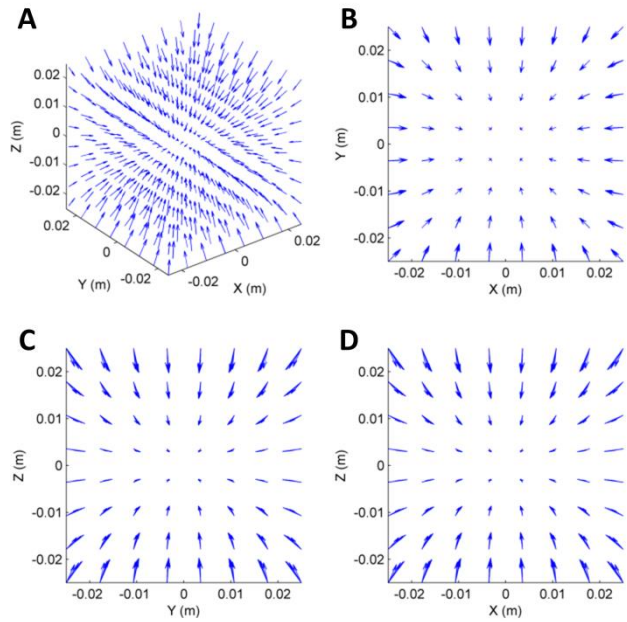


Figure 5-2: Three-dimensional vector plot of a theoretical magnetic field having all its magnetic field lines oriented towards a common point in space, giving rise to a magnetic monopole. The blue arrows represent the intensity and orientation of the magnetic induction at that point. *(A)* Three-dimensional perspective view of the magnetic field vectors. *(B)* X-Y view of the magnetic field vectors. (C) Y-Z view of the magnetic field vectors. (D) X-Z view of the magnetic field vectors.

This is physically impossible to accomplish using a single static magnetic field geometry since it would involve creating a magnetic monopole which would go against one of Maxwell's four equations for electromagnetism which states that the magnetic induction divergence in any point is zero (Equation 5.1).

$$\nabla \cdot B = 0 \tag{5.1}$$

This article describes special control techniques and a platform that overcome this limitation and aggregate MTB in a particular point in space. Mathematically, this implies producing a magnetic field geometry having a negative divergence, converging towards the desired aggregation position. This feat was accomplished in our laboratory by multiplexing different static magnetic field geometries over time creating what in essence is the addition of a 4th dimension. By proceeding in this way, we sequentially expose MTB to different magnetic field geometries for predefined periods of time in order to simulate the existence of a magnetic monopole.

The experimental setup designed and used for these experiments, referred to as the magnetotaxis platform consists of three orthogonal pairs of electric coils positioned in a Maxwell configuration (Figure 5-3).

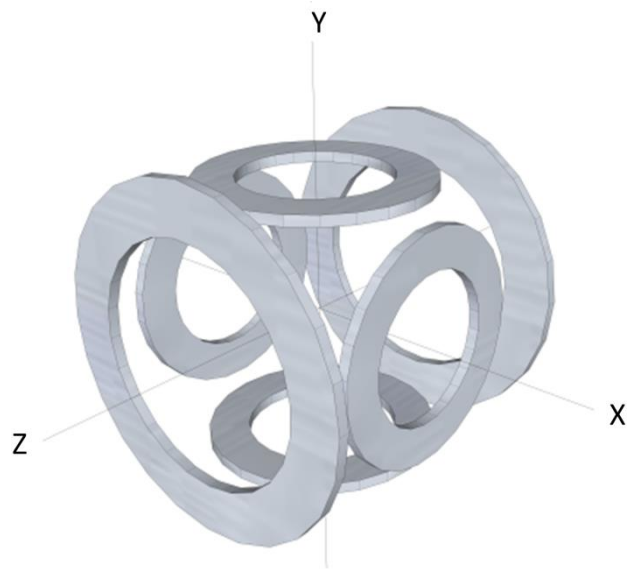


Figure 5-3 : Schematic representation of three orthogonal pairs of electric coils positioned in a Maxwell configuration that make-up the magnetotaxis platform used to generate different magnetic field geometries.

MATLAB (The Mathworks, Natick, Massachusetts) simulations of this platform were developed to precisely map out its magnetic field. At the outset, these simulations allow us to visualize the magnetic field's intensity and orientation induced inside the platform in a 3D window (Figure 5-4). Then, by considering the MTB as magnetic dipoles which align perfectly with the magnetic field lines, we are able to predict the movement of the MTB subjected to the magnetic field generated by the platform.

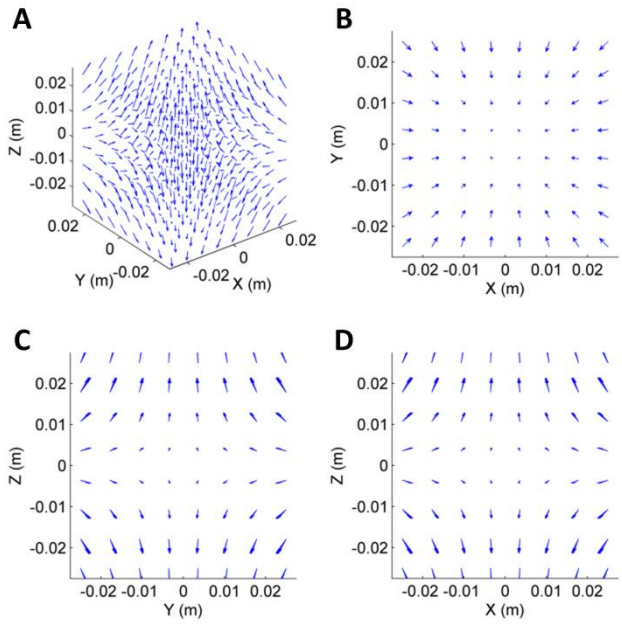


Figure 5-4: Example of the resulting simulated magnetic field geometry generated inside the 3D magnetotaxis platform when both coil pairs along the X and Y axis are each carrying 40 A. The blue arrows represent the intensity and orientation of the magnetic induction at that point. *(A)* Three-dimensional perspective view of the magnetic field vectors. *(B)* X-Y view of the magnetic field vectors. (C) Y-Z view of the magnetic field vectors. (D) X-Z view of the magnetic field vectors.

To calculate the magnetic field generated by the platform, each electromagnet was considered as superimposed current carrying circular wires similar to the one represented in Figure 5-5.

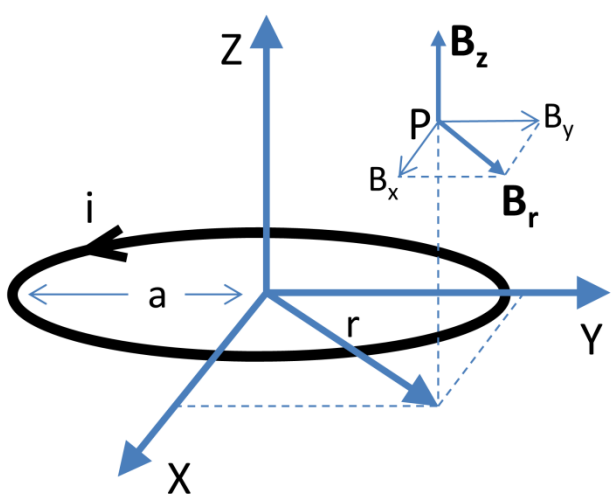


Figure 5-5: Coordinate system representation of a single current carrying circular wire used as a base element for the simulation of electric coils.

Using this circular wire as a base element, the following equations derived from the Bio-Savart equation were used to calculate the radial (B_r) and axial (B_z) magnetic field components at any point (P) in space.

$$B_z = \frac{\mu_0 I}{2\pi a\sqrt{(1+\alpha)^2+\beta^2}}\left[E(k)\frac{1-\alpha^2-\beta^2}{(1+\alpha)^2+\beta^2-4\alpha}+K(k)\right] \tag{5.2}$$

$$B_r = \frac{\mu_0 I z}{2\pi a r\sqrt{(1+\alpha)^2+\beta^2}}\left[E(k)\frac{1+\alpha^2+\beta^2}{(1+\alpha)^2+\beta^2-4\alpha}-K(k)\right] \tag{5.3}$$

$$\alpha = \frac{r}{a} \tag{5.4}$$

$$\beta = \frac{z}{a} \tag{5.5}$$

$$k = \sqrt{\frac{4\alpha}{(1+\alpha)^2+\beta^2}} \tag{5.6}$$

Where B_z is the axial magnetic field component in tesla generated by the circular wire, B_r is the radial magnetic field component in tesla generated by the circular wire, a is the radius in meters of the circular wire, r is the radial distance between the center of the circular wire and point P, z is the distance in meters along the Z axis between the center of the circular wire and point P, E(k) and K(k) are respectively the complete elliptic integrals of the first and second kind.

Using these equations, we calculated the contribution of each electric coil in the platform, summed them up and established the magnetic field at any point in the platform to which the MTB are exposed. Not only do these calculations allow us to visualize the magnetic field generated by the setup, but they also show the effects of multiplexing multiple magnetic field geometries over time on the swimming trajectory of MTB. Knowing that these MTB react to magnetic fields as low as 0.05 mT [28], any magnetic field having a higher value this threshold was considered to dictate the swimming orientation of the MTB. Since the intensity of the magnetic fields to which the MTB were exposed in the experiments was higher than this threshold, the intensity of the field was ignored for simulation purposes and, only the orientation of the magnetic field vector was considered to dictate the swimming direction of the bacteria.

Simulation software was developed to simulate the movement of MTB resulting from the application of sequential magnetic field geometries inside the platform. Velocity components of the MTB along each axis inside the platform were calculated using equation 5.7

$$v_{x,y,z} = V\frac{B_{x,y,z}}{B_{tot}} \tag{5.7}$$

where V represents the MTB swimming speed (200 µm/s), B_x, B_y and B_z represent the magnetic field components in tesla along each axis of the total magnetic field B_{tot}. A schematic representation of these values can be visualized in Figure 5-6.

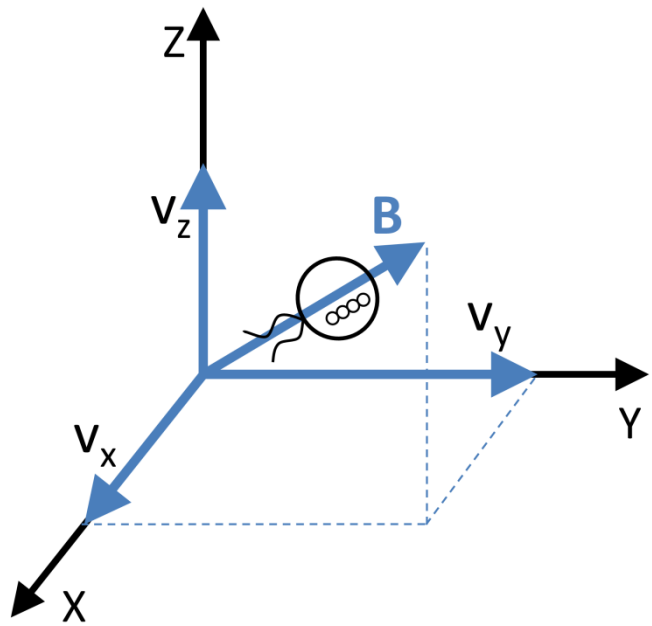


Figure 5-6: Graphical representation of the magnetic field components used in the simulations to calculate the speed and direction of the MTB swimming trajectory. A schematic bacterium is presented as following the magnetic field vector *B*.

Using this software, the position of a bacterium was periodically plotted over time following the applied time varying magnetic field. Such a time varying field consists of a list of magnetic field geometries (identified as configurations for our experiments), each associated with a time period during which they are applied and repeated sequentially in the platform. This list of magnetic field configurations is defined as a magnetic field sequence. Each magnetic field configuration composing the magnetic field sequence is defined as a set of currents to be applied to each coil of

the platform giving rise to a unique static magnetic field geometry. These magnetic field sequences are presented as time tables, such as the one appearing in Table 5-1.

The possibilities of magnetic field sequences that can be applied using our platform are infinite. For example, the magnetic field configuration appearing in Figure 5-4 can be generated inside the platform by activating 2 of the 3 electric coil pairs in the platform. When analyzing the generated magnetic field of this configuration, we notice that from the X-Y point of view all magnetic field lines are oriented towards the center of the platform (Figure 5-4 B) allowing an aggregation of MTB along this plane, while from the two other points of view (Figure 5-4 C-D), we notice a divergence of the MTB along the Z-axis. This static field therefore allows us to limit the divergence of the MTB along a single axis in the platform. By slightly modifying this magnetic field configuration and using it as a starting point, we were able to generate various magnetic field sequences cancelling out the diverging part of the static magnetic field. Doing so enabled us to generate a magnetic field sequence which integrated over time produces magnetic field lines pointing towards the center of our platform. A standard base current of 40 A was applied in each magnetic field configuration to ensure the presence of a minimal magnetic field of 1.5 mT at center of the platform when a single coil is activated. Numerous magnetic field sequences were simulated using our mathematical model. To determine if a sequence should be investigated further, a special algorithm was designed to signal the possible existence of convergence when this magnetic field sequence was applied to the MTB sample. Since the effect of the intensity of the magnetic field on the MTB behavior is not considered for our application, magnetic field vectors for each configuration in a sequence were normalized and summed to determine the average overall swimming motion of the MTB in the controlled volume at the center of the setup. Summing up the unitary magnetic field vectors of each magnetic field configuration in a sequence, weighted with their respective application time period, allowed us to simulate the application of the different magnetic field configurations over time. The graphical representation of the simulated result of the summation of these normalized vector fields for the magnetic field sequence presented in Table 5-1 is illustrated in Figure 5-7.

Table 5-1: Example of a magnetic field sequence tested for convergence using our convergence algorithm.

Configuration #	**Current (A) in each coil**						**Exposure time (s)**
	X^-	**X^+**	**Y^-**	**Y^+**	**Z^-**	**Z^+**	
1	40	40	40	40	40	0	3
2	40	40	40	40	0	40	3
3	40	40	40	0	40	40	3
4	40	40	0	40	40	40	3
5	40	0	40	40	40	40	3
6	0	40	40	40	40	40	3

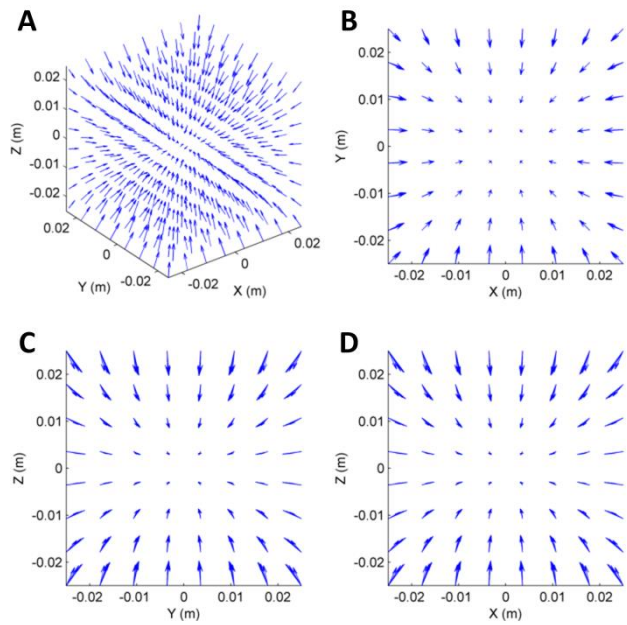


Figure 5-7: Three-dimensional vector field representation of the summed normalized magnetic field configurations of the magnetic field sequence presented in Table 5-1. This vector field covers a 125 cm^3 region centered in the middle of the magnetic field setup. The blue arrows represent the intensity and orientation of the magnetic induction at that point. *(A)* Three-dimensional perspective view of the magnetic field vectors. *(B)* X-Y view of the magnetic field vectors. (C) Y-Z view of the magnetic field vectors. (D) X-Z view of the magnetic field vectors.

The resulting vector field of Figure 5-7 represents the overall swimming direction of the MTB at the center of the magnetotaxis platform when exposed to the magnetic field sequence presented in Table 5-1. When looking at this vector field from the three different points of view (Figure 5-7 B,C,D), we notice that all the vectors are oriented towards the center of the graph therefore simulating the existence of a magnetic monopole. Therefore, multiplexing different magnetic

field configurations over time makes it possible to generate a virtual magnetic monopole at the center of our platform permitting to overcome the limit presented earlier (Equation 5.1) which states that the divergence of magnetic induction must be zero in all points. With the use of this algorithm, different magnetic field sequences were identified as potentially having the ability to provide a reliable control of MTB in a 3D environment. These sequences are basically the fruit of trial and error experiments since there are an infinite number of possible sequences. While this algorithm indicates if a vector field converges, it does not indicate how MTB will respond in the system. A simulation of the movement of MTB in response to these magnetic field sequences was therefore required. Figure 5-8 illustrates such a simulation by tracking the movement of eight MTB initially positioned in each corner of a cubic volume located at the center of our magnetotaxis platform when subjected to the magnetic field sequence given in Table 5-1.

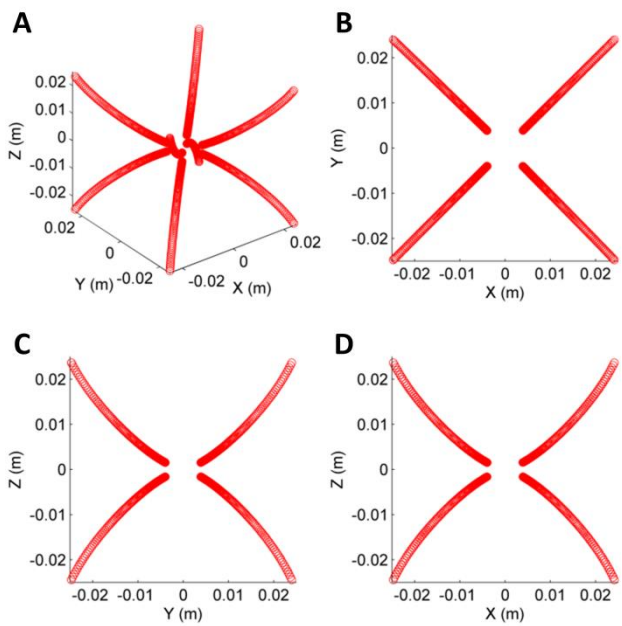


Figure 5-8: Graphical representation of the simulation of eight MTB converging towards the center of a 125 cm^3 volume located at the center of the experimental setup. Each bacterium is initially located in one corner of the represented volume and is identified by a multitude of red circles appearing as red lines. *(A)* Three-dimensional perspective view of the MTB movement simulation. *(B)* X-Y view of the simulation. (C) Y-Z view of the simulation. (D) X-Z view of the simulation.

This simulation result theoretically validates the feasibility of aggregating MTB in a designated area by exposing different magnetic field configurations on a MTB sample using our platform. Furthermore, it also establishes that exposing MTB to time-varying magnetic fields can generate

an overall average swimming migration towards the targeted point in space. This technique therefore allows us to generate aggregates of MTB in a three-dimensional environment.

These simulations helped us identify three sequences having convergence patterns such as the one appearing in Figure 5-7. Magnetic sequences 1, 2 and 3 are set out in Tables 5-2 to 5-4.

Table 5-2: Magnetic field sequence 1

Configuration #	**Current (A) in each coil**						**Exposure time (s)**
	X^-	**X^+**	**Y^-**	**Y^+**	**Z^-**	**Z^+**	
1	-40	0	0	0	0	0	T
2	0	-40	0	0	0	0	T
3	0	0	-40	0	0	0	T
4	0	0	0	-40	0	0	T
5	0	0	0	0	-40	0	T
6	0	0	0	0	0	-40	T

Table 5-3: Magnetic field sequence 2

Configuration #	**Current (A) in each coil**						**Exposure time (s)**
	X^-	**X^+**	**Y^-**	**Y^+**	**Z^-**	**Z^+**	
1	40	40	40	40	0	0	T
2	40	40	0	0	40	40	T
3	0	0	40	40	40	40	T

Table 5-4: Magnetic field sequence 3

Configuration #	**Current (A) in each coil**						**Exposure time (s)**
	X^-	**X^+**	**Y^-**	**Y^+**	**Z^-**	**Z^+**	
1	40	40	40	40	40	0	T
2	40	40	40	40	0	40	T
3	40	40	40	0	40	40	T
4	40	40	0	40	40	40	T
5	40	0	40	40	40	40	T
6	0	40	40	40	40	40	T

The variable T in these selected sequences represents an arbitrary time exposure period during which a magnetic field configuration is applied. This variable is used since the simulation results of these sequences demonstrated that an aggregation of MTB was possible based on different exposure times. Having covered the theoretical aspects which confirm the theoretical possibility of generating three-dimensional aggregates of MTB using time varying magnetic fields, let us now turn our attention to their experimental applications.

5.3 Materials and Methods

5.3.1 Magnetotaxis Platform

The setup used to produce the different magnetic field configurations (Figure 5-3) consisted of three orthogonal pairs of electromagnetic coils positioned in a Maxwell configuration. Each coil was powered by a computer controlled XG12-140 Sorensen (AMETEK, Berwyn, Pennsylvania) power source. Communication between the power supplies and the software interface was assured through USB cables simulating the existence of a serial com port (virtual com port). The graphical user interface software controlling the power supplies was developed using XAML and C# programming languages. This software allows us to apply a specific magnetic field sequence composed of different magnetic field configurations by specifying the current value in each electric coil and the time period during which the current must be applied.

5.3.2 MTB Preperation

Cells of *Magnetococcus marinus* strain MC-1 were grown as previously described [34] in liquid culture in 100 mL serum bottles under microaerobic conditions. MTB were magnetically-separated at room temperature by positioning a small electromagnet directly underneath a petri dish containing a sample of the culture. By proceeding this way, only the live MTB gathered over the tip of the electromagnet, allowing us to remove the remaining part of the culture and resuspend the remaining MTB in phosphate buffer saline (PBS 1X) for experiments.

5.3.3 Validation of MTB Aggregation

The choice of the three magnetic field sequences to be tested was based on the best simulated aggregation results obtained. These sequences are the ones presented in Tables 5-2 to 5-4. These three magnetic field sequences were first tested on MTB samples contained in a vertically oriented 5mL clear glass vial positioned at the center of the experimental platform. An exposure time of 3 seconds (T=3s) was used for each magnetic field configuration in the sequences. Each sequence was left to run for 25 minutes after which pictures of the aggregation result were acquired from the side of the vial. Pictures of the MTB aggregation of samples placed in a petri dish were also acquired to visualize an equivalent cross sectional area of the aggregation result in

the vertical vial of each sequence. This was performed to better visualize the aggregation pattern generated by each magnetic field sequence.

In order to quantify the aggregation capacity of each magnetic field sequence tested, 1.2 mL of MTB solution was placed in a 30 mm diameter petri dish (FALCON, Mississauga, Ontario, Canada) and positioned at the center of our magnetic field setup. Each sample of MTB was prepared with an approximate initial concentration of $8*10^5$ MTB/mL and was subjected to one of the three magnetic field sequence for a total period of 25 minutes. Videos of the aggregation of MTB were acquired using an Aven MiniVue Digital Color Camera (AVEN, Ann Arbor, Michigan) equipped with a 10x magnification objective lens able to capture a surface area of approximately 375 square micrometers. The acquired videos were then processed using a MATLAB algorithm to evaluate the number MTB at each moment (in each frame) of the videos. This algorithm extracted each frame of the acquired videos and performed graphical enhancements on each image to count the number of MTB in each frame. Images were first converted to gray scale images. Contrast was then enhanced such that 1% of the data was saturated at maximum and minimum intensities. A morphological erosion and dilation using a large disk shaped structural element was then performed to remove noise resulting from non-uniform lighting in the setup by subtracting the result of this operation from the image. The number of MTB was then counted using disk shaped structural element top hat filtering slightly larger than the actual size of the MC-1 MTB (2μm) to compensate for the off focus effect when looking at a thick sample of MTB through a microscope. The signal resulting from this analysis was then considered to represent the concentration of the sample. The resulting curves representing the number of MTB counted by the software were then plotted against time. Since the number of MTB counted using this technique doesn’t necessarily represent the exact number of MTB on the video frames, only the increase in number of MTB was plotted in the result graphs. This increase in concentration of MTB in the samples is defined as the concentration increase ratio. This concentration increase ratio was then calibrated using reference solutions of known MTB concentration to determine the final concentration of the samples observed in the experiments.

5.3.4 Validation of MTB Swarm Control

Taking into consideration the numerous potential applications based on the use of MTB as microrobots, the ability to generate aggregates of microorganisms using time varying magnetic fields is insufficient. Not only must we be able to generate MTB aggregates, but we must also be able to move this aggregate in order to allow these micro-organisms to act as microrobots and allow them to accomplish the envisioned microscale robotic tasks. Therefore, tests were conducted in order to validate our ability not only to generate MTB aggregates but also maintain and move the aggregation position.

Our technique to control the position of aggregation consists of using current ratio variations between the electric coils of each pair in the magnetotaxis platform. When using two electric coils positioned in a Maxwell configuration each carrying equal but opposite currents, it is possible to generate a MTB aggregation plane at the center of these two coils. By changing the current ratio between these coils, one can shift this aggregation plane based on equation 5.8,

$$\frac{I_1}{I_2} = \sqrt[3]{\frac{r^2 + \left(z + \frac{d}{2}\right)^2}{r^2 + \left(z - \frac{d}{2}\right)^2}} \tag{5.8}$$

where r is the radius of each electromagnet in meters, z is the position in meters of the aggregation plane from the center point between the two electromagnets, and d is the distance in meters separating the two electromagnets. A demonstration of this plane aggregation between the two electric coils and the resulting shift of the aggregation position is presented in Figure 5-9.

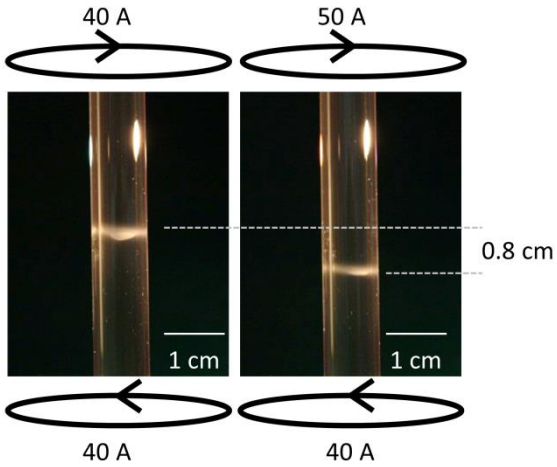


Figure 5-9: Pictures of two 5mL MTB filled vial placed vertically at the center of the experimental platform. Planar MTB aggregations in each vial (visible as white lines) were generated by activating a single pair of electric coils. The dotted lines in the picture demonstrate our ability to shift the aggregation of MTB by varying the current ratio in the pair of electric coils.

This current ratio variation technique was applied to the magnetic field sequences presented in this article. By changing the current ratios between the electric coils of each pair in the setup for each magnetic field configuration in a sequence, we are able to change the theoretical MTB aggregation position. This technique was first evaluated using our simulation software. As it appears in Figure 5-10, a decrease in the current ratio between the electric coils positioned on the X axis (I_{x-}:I_{x+}) for sequence 3 (Table 5-4) induces a shift in the aggregation position in the axis' positive direction. By switching the current ratio from 40:40 to 45:40, we can observe an approximate 1.2 cm shift of the MTB aggregation position in the positive direction of the X axis in the simulation results presented in Figure 5-10. The resulting sequence used for this simulation is the sequence presented in Table 5-5.

Table 5-5: Parameters of the magnetic field sequence 3 with a modified current ratio for the electric coils along the X axis leading to theoretical 1.2 cm shift in the MTB aggregation position along the X axis' positive direction in the experimental setup.

Configuration #	**Current (A) in each coil**						**Exposure time (s)**
	X^-	**X^+**	**Y^-**	**Y^+**	**Z^-**	**Z^+**	
1	45	40	40	40	40	0	3
2	45	40	40	40	0	40	3
3	45	40	40	0	40	40	3
4	45	40	0	40	40	40	3
5	40	0	40	40	40	40	3
6	0	40	40	40	40	40	3

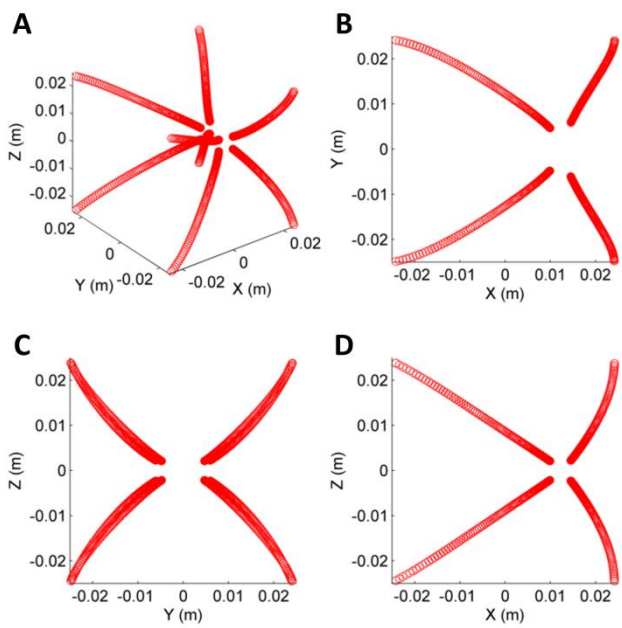


Figure 5-10: Graphical representation of the simulation result of the MTB aggregation shift along the X axis due to a decrease from 40:40 to 45:40 in the current ratio between the electric coils on this axis of the experimental setup. This simulation presents the movement of eight MTB (red circles) initially located in each corner of the 125 cm^3 volume presented. The resulting sequence from this current ratio variation leading to the simulation result presented in this figure is presented in Table 5-5. *(A)* Three-dimensional perspective view of the MTB movement simulation. *(B)* X-Y view of the simulation. (C) Y-Z view of the simulation. (D) X-Z view of the simulation.

Using this current ratio variation technique, we can theoretically control the movement of the MTB aggregation position within our platform and therefore in a three-dimensional environment.

In order to experimentally validate our ability to control the movement of a MTB aggregation using this technique, experiments were performed by placing 1.4 mL of suspended MTB in a petri dish positioned at the center of our experimental setup. The MTB aggregate was generated and then was moved using the magnetic sequence 3 following a cross shape pattern based on our simulation results.

5.3.5 3D Aggregation

To demonstrate our ability to experimentally generate, move and maintain a 3D MTB aggregate within a volume, a 15 mL MTB solution contained in a clear glass vial was positioned at the center of the platform. The magnetic field sequence 3 (Table 5-4) was applied to give rise to a MTB aggregate at the center of the vial. Once the MTB aggregate was made visible, using the previously described current ratio variation technique, we varied the current ratios in the electric coils so to make the MTB aggregate follow a rectangular trajectory within the solution. Images of the resulting MTB aggregate movement were acquired from the side of the vial.

Finally, to insure that our previous experiment was not due to chance, a three-dimensional maze representing a chaotic network of capillaries was designed and built in order to assess our ability to remotely control a MTB aggregate within a complex environment. Since the success or failure assessment of an experiment in this study relied on what could be seen with the naked eye, this maze had to be built using a clear material. Since the MTB used in these experiments demonstrated good behavior when in contact with glass, hollow glass tubes were used to build the maze. The maze was designed using a multitude of interconnected hollow glass cylindrical tubes having an inside diameter of approximately 2 mm. This 3D glass maze was first imaged using a Siemens Magnetom 1.5T MRI after having been filled with a gadolinium-based MRI contrast agent solution (Gadoteridol, ProHance). The resulting images were then reconstructed using MATLAB to generate a three-dimensional representation of the inside volume of the setup's capillaries to help us calibrate the magnetic field sequence used to generate and control the MTB aggregate within this maze. This reconstruction of the 3D model is presented in Figure 5-11.

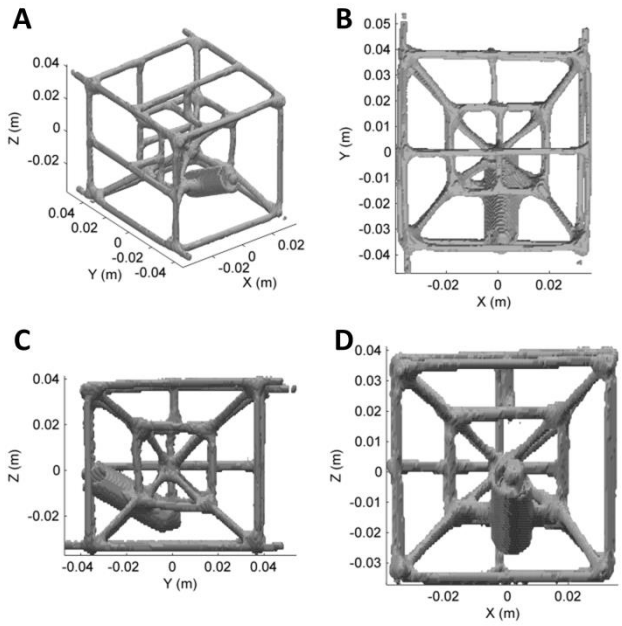


Figure 5-11: 3D MATLAB reconstruction of MRI images of the 3D glass maze injected with a gadolinium-based contrast agent solution. *(A)* Three-dimensional perspective view of the 3D maze. *(B)* X-Y view of the maze. (C) Y-Z view of the maze. (D) X-Z view of the maze.

5.4 Results and Discussion

The results of our first experiments to remotely generate MTB aggregates using the magnetic field sequences 1 to 3 are presented in Figure 5-12.

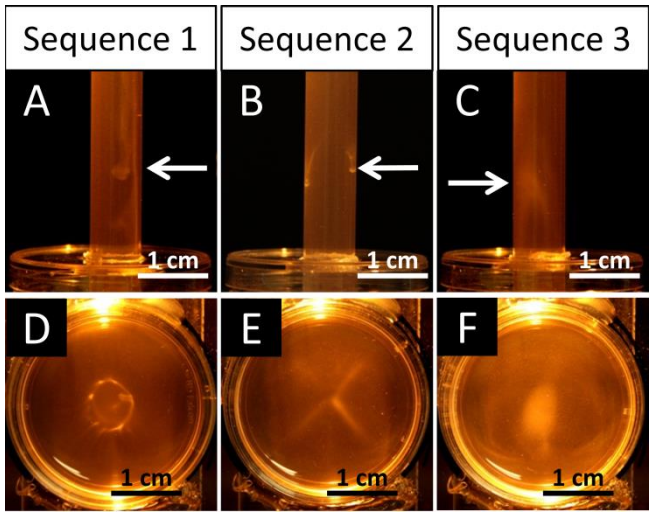


Figure 5-12 : Pictures of MTB aggregation results using each of the three magnetic field sequences presented in tables 5-2 to 5-4. (A-C) MTB aggregation result in a 5mL MTB filled vial placed vertically at

the center of the experimental setup for sequences 1, 2, and 3 respectively. The white arrows point to the resulting MTB aggregation. (D-F) MTB aggregation result in MTB filled 30 mm diameter petri dish placed horizontally in the experimental setup for sequences 1, 2, and 3 respectively.

These images indicate that the resulting MTB aggregation of sequence 1 (Figure 5-12 A) and sequence 3 (Figure 5-12 C) generate an MTB aggregate in suspension in the medium centered in the vertical vial. Figure 5-12 A and 5-12 C therefore confirm our ability to generate MTB aggregates within a volume using each of the magnetic field sequences 1 and 3. On the other hand, sequence 2 (Figure 5-12 B) also generated MTB aggregates, but this time two distinct aggregates were generated along the sides of the cylindrical vial. This result does not allow us to state that MTB aggregation using this magnetic field sequence is possible since the sides of the vials acted as boundaries to limit the migration of the MTB. Nonetheless, since the MTB aggregates were vertically centered in the vial, we can state that a MTB aggregation still took place along the vertical axis of the experimental setup using sequence 2.

The experiment results presented in panels D to F were obtained using the same conditions as in panel A to C respectively, with the exception that the samples were placed in petri dishes and images were acquired from the top of the platform rather than from the side. The resulting pictures give an equivalent cross sectional picture of the aggregations in the vertical vials. Sequences 1 and 3 both demonstrated, as anticipated, a good capacity of aggregation along the horizontal plane by creating a dense disk shaped aggregation at the center of the petri dish (Figure 5-12 D and Figure 5-12 F). This, along with the results shown in panel A and C of Figure 5-12, confirms our hypothesis of being able to generate MTB aggregates along the three axes, and therefore experimentally confirms our ability to generate 3D aggregates using time varying magnetic fields. As for sequence 2, we notice an aggregation pattern in the shape of a cross. The lines of the cross coincide with the diagonals of the experimental platform. By referring to the simulations, we are able to understand this behavior. Simulations representing the evolution of MTB confined within a virtual petri dish were performed using the same magnetic field sequence. The result of this simulation, presented in Figure 5-13, shows 28 MTB initially positioned along the extremities of the petri dish periodically plotted to visualize their migration trajectory over a 25 minute period.

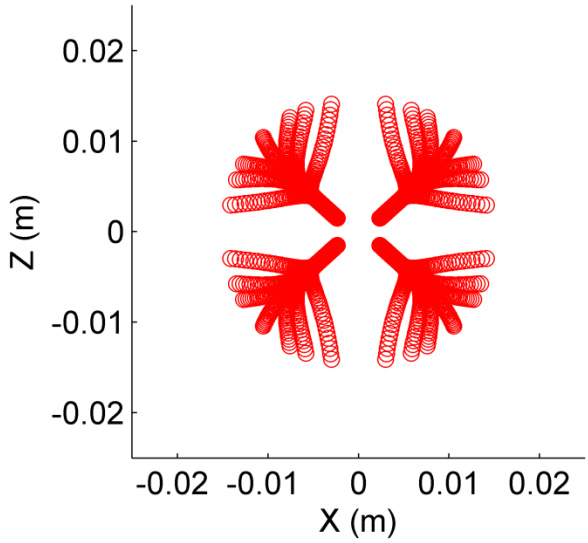


Figure 5-13: Plot of the simulated migration of 28 MTB initially positioned along the extremity of a virtual 30 mm diameter petri dish positioned at the center of the experimental setup using sequence 2 with an exposure time of 3 seconds for a total period of 25 minutes.

In this simulation result, each of these 28 MTB initially dispersed along the extremity of the petri dish deviate under the influence of the time varying magnetic field (sequence 2) towards the closest diagonal of the experimental setup and from there migrate towards the center of the petri. This explains the visible pattern presented in Figure 5-12 E since all of the MTB gather along the diagonals to slowly migrate towards the center of the petri dish. This is unique to this magnetic field sequence and supports the aggregation shape seen in the vertical vial in panel B of Figure 5-12 since the MTB aggregation does not take place precisely at the center of the petri dish and therefore finds itself along the rounded sides of the vertical vial.

The concentration increase ratio results of the MTB aggregation videos acquired using the methods previously described are presented in Figure 5-14. These curves plot the evolution of the relative MTB concentration at the center of the sample positioned in the petri dish at the center of the experimental setup.

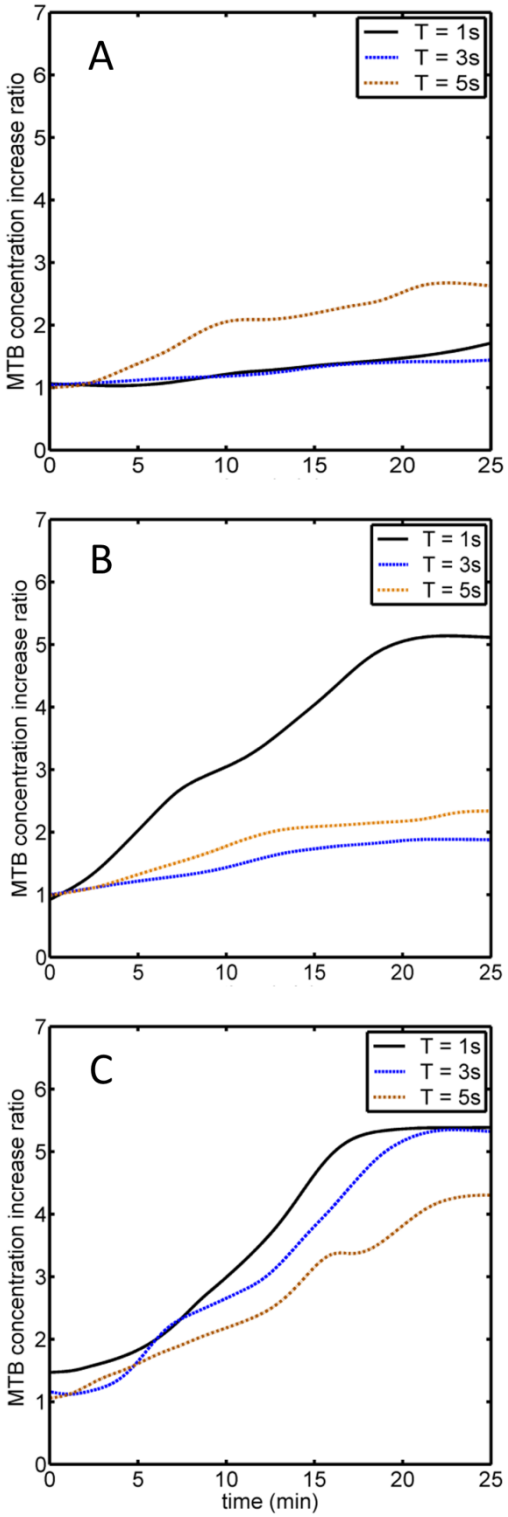


Figure 5-14: Graphs of relative MTB concentration at the targeted area (middle of sample) for three different magnetic field sequences applied on a 1.2 mL MTB sample contained in a petri dish. (A) MTB

concentration increase for sequence 1. (B) MTB concentration increase for sequence 2. (C) MTB concentration increase for sequence 3.

The vertical axes of the graphs in Figure 5-14 indicate the concentration increase ratio which refers to the number of MTB present in the field of view of the video relative to the initial number of MTB in the frame. This number represents the increase in concentration of the observed sample over time. Our first consideration when examining these curves is the end concentration of MTB that can be produced by each of these sequences at the target area. Based on our results we noticed that for a common period of 25 minutes sequences 2 and 3 were able to increase the concentration of MTB at the center of the petri dish by 5 to 6 times while sequence 1 only increased it by 2 to 3 times. This confirms that sequence 2 and 3 were more effective in terms of generating concentrated MTB aggregates at the center of the petri dish when compared to sequence 1.

The concentration increase ratio was also measured when varying the exposure time (T) of each sequence. MTB aggregation was measured using T-values of 1, 3 and 5 seconds. These results are plotted in the graphs of Figure 5-14. For sequence 1, we notice a slight increase in the slope of the concentration curve having a T-value of 5 seconds. As for sequence 2, we notice a significant increase when subjected to a T-value of 1 second. In fact, the concentration increase ratio jumps from approximately 2 for exposure times of 3 and 5 seconds to approximately 5 for an exposure time of 1 second. Unfortunately, this concentration increase cannot be attributed entirely to the decrease in exposure time. The shape of the aggregate generated by the sequence must also be considered. By referring to Figure 5-12 E, we notice that the cross shaped aggregation seems to be less concentrated at the center of the petri dish and much more concentrated along the cross shaped lines of the aggregate. Therefore, the increase in concentration observed in Figure 5-14 B may result from the shift in the aggregation shape giving rise to an increase in concentration at the center of the petri. The same could also be said of the two other curves in the graphic representation. Having such an aggregation shape, it is possible that the concentrated area of MTB was not represented in the videos since the aggregation in the petri was not necessarily located directly at the point of observation under the microscope in the center of the petri.

Sequence 3 seemed to demonstrate the most reliability in terms of results and allowed us to produce an aggregate at the center of the petri dish with approximately 5 times the initial concentration of MTB. Furthermore this sequence indicates a slight increase in the slope of

concentration when passing from a high T-value sequence to a smaller T-value sequence. Therefore, the results of the overall effect of the variation of the exposure time indicate that a decrease in T-value increases the speed of MTB aggregation in a sample.

Figure 5-15 presents pictures of the experiment results demonstrating our ability to move a MTB aggregate within a petri dish following a cross shaped pattern. Panels A and F in the figure show the initial and final position of the MTB aggregate located at the center of the petri dish, while panels B to E show our ability to move and maintain the aggregate at the extremities of the petri dish along the horizontal axes of the platform.

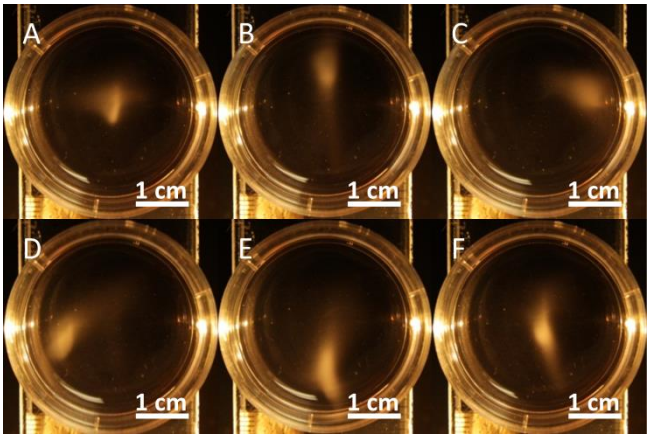


Figure 5-15: Pictures of the movement of an MTB aggregate along a predetermined cross shaped path within a petri dish positioned at the center of the platform. The MTB aggregate was generated using the magnetic field sequence 3 with an exposure time of 3 seconds. The movement of this MTB aggregate was generated using the current ratio variation technique. *(A)* Initial position of the MTB aggregate. *(B)* Movement of the aggregate towards the upper part of the petri dish. *(C)* Movement of the aggregate towards the right side of the petri dish. *(D)* Movement of the aggregate towards the left side of the petri dish. *(E)* Movement of the aggregate towards the bottom part of the petri dish. *(F)* Final position of the aggregate at the center of the petri dish.

The results appearing in Figure 5-15 confirm our ability to make use of current ratio variations within each electric coil pair in a magnetic field sequence to offset the position of the MTB aggregation within a petri dish. This is of great importance since it can now be transposed over to a three-dimensional volume.

Using the magnetic field sequence 3 (Table 5-4) and the current ratio variation control technique, we managed to generate and manoeuver a MTB aggregate within a clear glass vial of MTB

suspension as shown in Figure 5-16. It is important to understand that the aggregate shown in these images was not located on the side of the vial, but was in suspension in the solution.

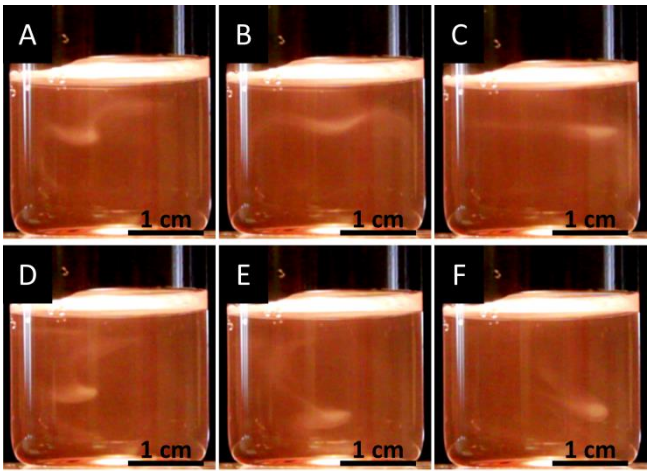


Figure 5-16: Pictures showing a rectangular pattern of displacement of a MC-1 MTB aggregate (dense white blur) in a vial containing 15 mL volume of MTB solution. *(A)* MTB aggregate position when focusing the magnetic field sequence on the upper left part of the solution. *(B)* MTB aggregate position when focusing the magnetic field sequence on the upper middle part of the solution. *(C)* MTB aggregate position when focusing the magnetic field sequence on the upper right part of the solution. *(D)* MTB aggregate position when focusing the magnetic field sequence on the bottom left part of the solution. *(E)* MTB aggregate position when focusing the magnetic field sequence on the bottom middle part of the solution. *(F)* MTB aggregate position when focusing the magnetic field sequence on the bottom right part of the solution.

The current ratio variations applied in the magnetic field sequence 3 were first validated using our simulation software to identify the currents to be applied in each coil to obtain the correct position of aggregation. Exposure times of each magnetic field configuration of the sequence had to be slightly modified to take into consideration the relative higher density of the MTB aggregate generated in the solution to avoid bioconvection effects [66], which cause the MTB aggregate to sediment at the bottom of the solution. This phenomenon was avoided by slightly increasing the exposure time of the magnetic field configuration 3 of sequence 3.

Finally, using sequence 3 and the current ratio variation technique as was done in the previous experiment, we were able to successfully navigate a MTB aggregate within a chaotic network of capillaries. The results of this experiment are summarized in Figure 5-17. In this experiment, we successfully managed to remotely navigate a 3D MTB aggregate following a square pattern

outlined by the capillaries in the center of this three-dimensional maze. Once again, using our simulation software, we identified the appropriate current offsets to be applied in each electric coil pair of the setup to direct the MTB aggregate in the proper positions to follow the square trajectory envisioned.

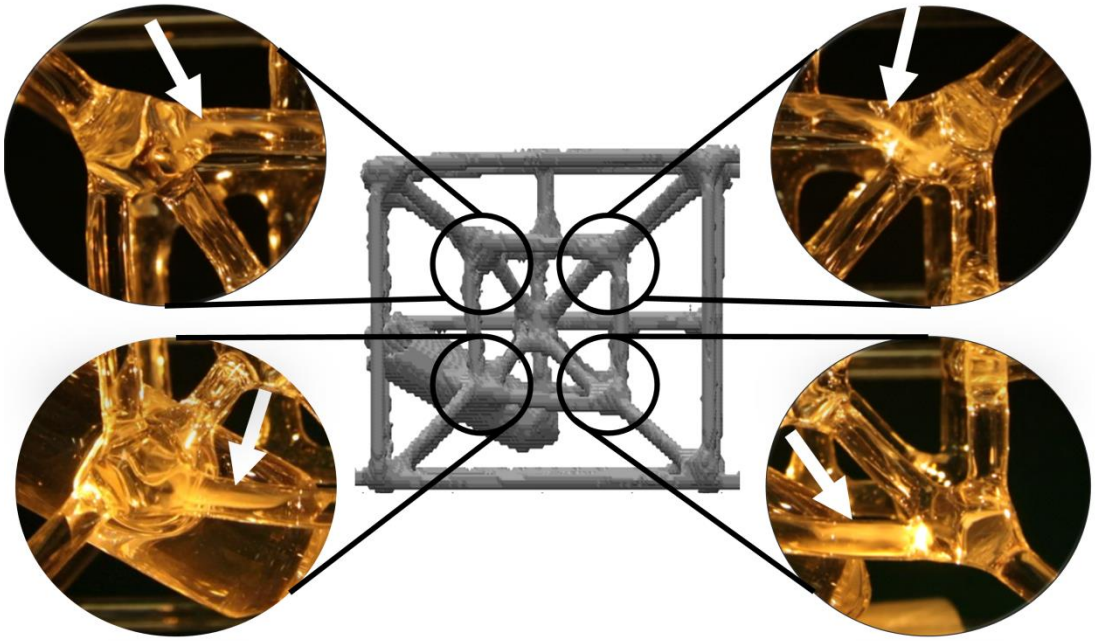


Figure 5-17: 3D navigation of an MTB aggregate inside a chaotic network of interconnected hollow glass tubes. The MTB aggregate appears as a dense white spot identified by white arrows in the images.

The result of this experiment allows us to confirm our ability to use microorganisms as a group of microrobots and navigate within complex environments, too small for most of today's artificial robots to reach. While this artificial network of capillaries cannot be compared the network of capillaries within the human vasculature, it however allows us to state that the techniques described in this article enable us to precisely and remotely control MTB aggregates within a 3D volume. This capacity to control MTB aggregates without the need of having a device positioned up close to the sample can lead to a variety of applications associated to microfabrication, lab on chip microfluidics circuits and hopefully to the targeted drug delivery field for cancer treatment.

5.5 Conclusion

In this article we have demonstrated our ability to remotely generate and steer two-dimensional and three-dimensional aggregates of live MC-1 MTB within a volume of MTB cell suspension.

This was achieved based on a mathematical model and the use of simulations which allowed us to predict the movement of these MTB guided by a time varying magnetic field generated by our magnetotaxis platform. Three different time varying magnetic field sequences were tested on MTB samples to demonstrate their aggregational capacity on MTB. Finally, the ability to move the generated MTB aggregate using our control technique was also presented and successfully tested using a complex network of capillaries resembling a 3D glass maze.

These fundamental steps are the essential building blocks to carry on our research leading to the use of MTB as microbiocarriers for targeted drug delivery applications which will hopefully soon permit local delivery of therapeutic drugs to a patient. The method presented can also be enhanced particularly in complex environments such as those encountered in targeted cancer therapies. For instance, additional techniques such as various magnetic field modulation modes taking into account the characteristics of the angiogenesis network as well as the motion behaviors of the bacteria when encountering various types of obstacles could be superimposed on such fundamental magnetic field sequences to further enhance targeting efficacy in cancer therapy. The number of different applications that can derive from this three-dimensional MTB control are almost unlimited.

CHAPITRE 6 VALIDATION DU CONTRÔLE TRIDIMENSIONNEL DES MTB *IN VIVO*

Dans les chapitres précédents, nous avons démontré notre capacité de contrôler des MTB à l'aide de séquences de champs magnétiques en les dirigeant vers un endroit précis pour former un agrégat de MTB dans un environnement tridimensionnel. Ces tests ont été effectués dans des milieux artificiels pour valider notre capacité de contrôler efficacement des MTB à l'aide de champs magnétiques avant de poursuivre avec des tests in vivo où nous devons tenir compte de l'influence de nombreux facteurs pouvant facilement altérer les résultats attendus. Ce chapitre décrit les expériences in vivo complétées afin de transposer les techniques de contrôles décrites précédemment dans un organisme vivant.

L'ensemble des expériences décrites ont été effectuées en accord avec les normes établies dans le protocole d'utilisation des animaux dans le cadre du projet CQDM (numéro de référence: 6045).

6.1 Introduction

Considérant que l'environnement tumoral est un modèle pratiquement impossible à reproduire artificiellement, nous devions procéder à des expériences in vivo sur un modèle animal afin de valider que les techniques de contrôle de MTB présentées dans le chapitre précédent sont applicables dans un organisme vivant.

Les expériences suivantes visent à vérifier si:

1. les MTB peuvent se déplacer librement dans un tissu animal,
2. ce déplacement est influencé par la présence d'un champ magnétique,
3. l'utilisation d'une séquence magnétique simulant la présence d'un « pôle magnétique », dont il est question dans le chapitre précédent, permettrait d'augmenter la concentration relative de MTB à l'endroit ciblé dans le tissu animal.

Une fois ces objectifs identifiés, nous devions sélectionner un modèle animal pour pouvoir exécuter nos expériences. Considérant son omniprésence dans le domaine de la recherche sur le cancer, notre choix s'est arrêté sur la souris. En effet, dans ce domaine de recherche, les souris sont couramment utilisées afin de simuler l'environnement biologique humain dans le but

d'étudier les caractéristiques de divers types de cancer ou de développer de nouvelles techniques de traitements. Idéalement, nous aurions espéré pouvoir valider les objectifs mentionnés précédemment dans un tissu tumoral humain implanté dans la souris. Malheureusement, au moment où ces expériences se sont déroulées, ce type de modèle tumoral n'était pas disponible. Nous avons donc dû sélectionner le tissu même de la souris pour procéder aux expériences. Notre choix s'est arrêté sur la rate. À titre informatif, cet organe localisé dans la région abdominale sur flanc gauche de la souris (voir Figure 6-1) agit comme filtre pour le système sanguin de l'animal.

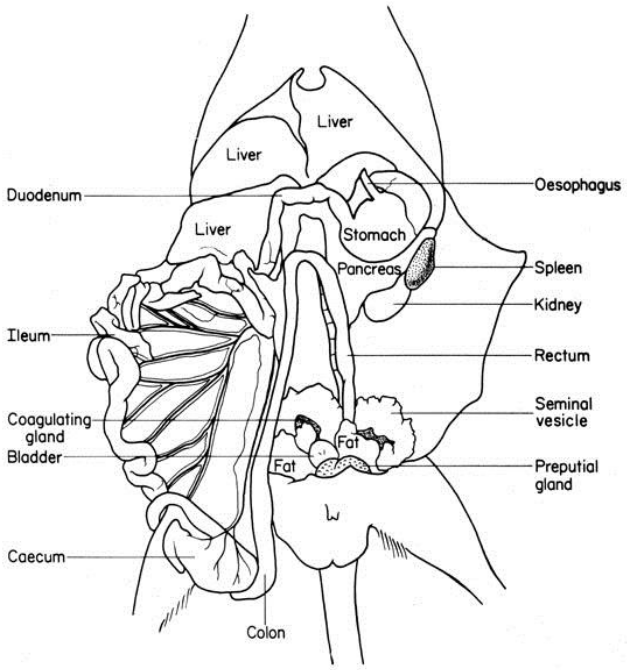


Figure 6-1 : Anatomie générale de la souris [67]. La rate (en anglais « spleen ») est visible sur le flanc gauche de la souris à la droite de l'image.

En vertu de sa qualité de filtre, cet organe hautement vascularisé se compare quelque peu à un environnement tumoral, qui est également caractérisé comme très vascularisé dû à l'angiogenèse occasionnée par la présence de cellules cancéreuses. Il s'en rapproche d'autant dû au fait qu'il est dépourvu de vaisseaux lymphatiques [68-70], comme c'est le cas pour une tumeur qui se caractérise par un système lymphatique peu efficace [8].

Afin d'atteindre nos objectifs, nous avons procédé à trois expériences distinctes en injectant des MTB dans l'organisme de la souris et les avons guidées magnétiquement dans l'animal en

utilisant notre plateforme expérimentale décrite au Chapitre 4 dans le but de valider le fonctionnement de nos techniques de guidage de MTB.

6.2 Matériel et méthodes

Dans cette section, nous détaillons les méthodes utilisées lors des expériences pour atteindre les objectifs identifiés en début de chapitre, soit de vérifier notre capacité d'influencer le déplacement de MTB dans un tissu animal à l'aide de champs magnétiques.

Nous couvrirons d'abord la technique de préparation des MTB injectées dans les souris et nous détaillerons les deux différentes techniques d'injection utilisées. Nous couvrirons ensuite les trois expériences distinctes, chacune cherchant à valider un des objectifs mentionnés précédemment. Finalement, nous détaillerons les séquences magnétiques retenues dans le cadre de chacune de ces trois expériences et nous complèterons en expliquant la méthode d'analyse employée pour évaluer les résultats obtenus.

6.2.1 Préparation des MTB

Chaque injection a été préparée à partir d'une quantité initiale de 50 mL de MTB en suspension dans leur milieu de culture à une concentration approximative d'environ 10^7 MTB/mL. Les MTB de cette solution ont ensuite été magnétiquement concentrées afin de maximiser le nombre de bactéries injectées. Cette technique de concentration consiste à déposer une certaine quantité de MTB en suspension dans une pétrie positionnée directement au-dessus d'un électroaimant. En sélectionnant la polarité appropriée de l'électroaimant, nous constatons qu'une agrégation de MTB de type NS apparaît au centre de la pétrie après quelques minutes. Le milieu de culture entourant l'agrégat est ensuite retiré délicatement afin de conserver uniquement les MTB situées au centre de la pétrie. Ces MTB sont ensuite remises en suspension dans du tampon phosphate salin (PBS 1X). Ce processus a été répété trois fois pour obtenir une concentration approximative finale de 10^8 MTB/mL en suspension dans du PBS 1X. Avant de procéder à l'injection, un échantillon homogène de cette solution finale a été récolté afin de quantifier la concentration exacte et quantité injectée dans chaque souris.

6.2.2 Injection des MTB

Quinze minutes avant l'injection, chaque souris a été anesthésiée en administrant 10µL de solution anesthésique de façon intrapéritonéale pour chaque gramme du poids total de l'animal. La solution anesthésique était composée 100 mg/kg de ketamine et 10 mg/kg de xylazine. Le site d'injection a été désinfecté avec de l'alcool (70%) avant l'injection.

Au cours des expériences, deux techniques différentes d'injection ont été utilisées pour introduire les MTB dans l'organisme de la souris. La première consistait à injecter la solution concentrée de MTB directement dans le tissu de la rate de la souris tel qu'illustré à la Figure 6-2. Cette technique d'injection permet d'introduire des MTB directement dans le tissu d'intérêt et de quantifier leur déplacement dans ce tissu en limitant leur dispersion ailleurs dans l'organisme. Afin de pouvoir injecter directement dans la rate, une incision sur le flanc gauche de la souris a été effectuée pour exposer la rate. Considérant la forme allongée de la rate, l'injection dans le tissu a été effectuée à l'une des extrémités de l'organe pour limiter la dispersion aléatoire des MTB dans le tissu. Le site exact d'injection est présenté dans la Figure 6-2 B. Ce site correspond à la partie la plus large de la rate et a été sélectionné puisqu'il est éloigné des vaisseaux sanguins irrigant l'organe situés sur le côté de la partie étroite.

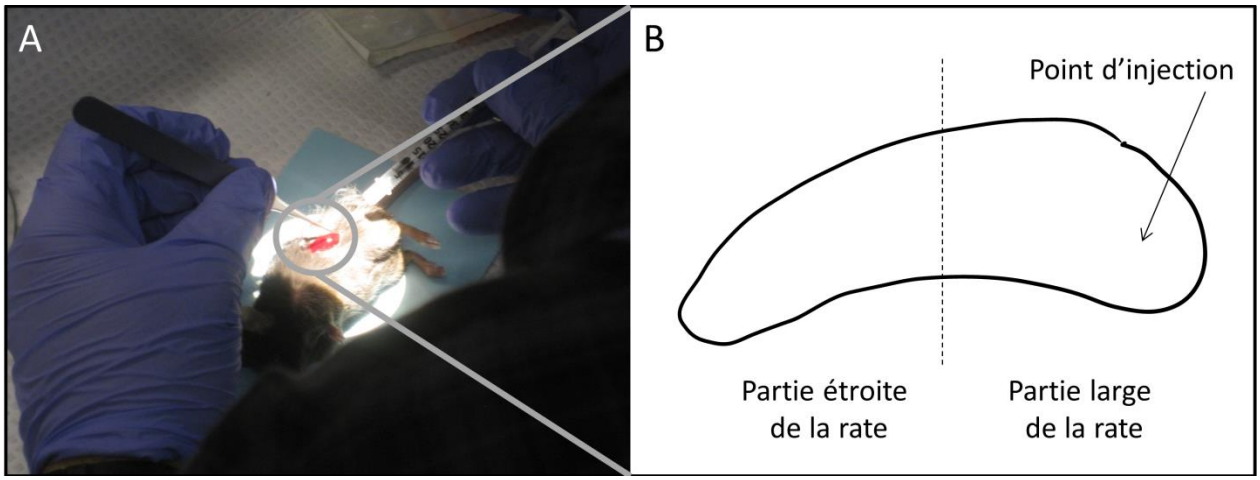


Figure 6-2: Illustration de la technique d'injection directe dans la rate d'une souris. *(A)* Photographie d'une injection de MTB dans la rate d'une souris. *(B)* Schéma de la rate identifiant le point d'injection dans l'organe. La ligne pointillée délimite le côté injecté de l'organe du côté opposé.

La seconde technique utilisée consistait à injecter la solution de MTB dans la veine caudale de la souris (veine située dans la queue). Cette veine qui mène directement à la veine cave inférieure

du système circulatoire de la souris assure l'acheminement direct des MTB au cœur pour une distribution rapide à travers l'organisme. Un schéma qui représente la distribution des vaisseaux sanguins principaux de la partie inférieure d'une souris de laboratoire est présenté à la Figure 6-3.

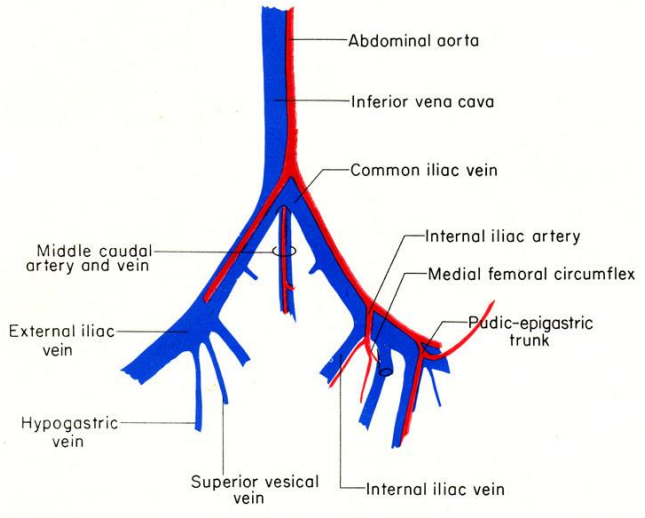


Figure 6-3: Schéma représentant la partie inférieure du réseau sanguin de la souris [67]. La veine caudale y est représentée (en anglais « caudal vein »).

Cette technique est beaucoup moins invasive que la précédente comme elle ne nécessite aucune incision dans le corps de l'animal. Ce type d'injection pourrait s'avérer très utile pour de futures applications puisqu'elle permet théoriquement d'atteindre n'importe quelle région de l'organisme via le réseau vasculaire de l'animal. Cependant, la quantification de la distribution des MTB à travers le corps entier de la souris s'avère beaucoup plus difficile comme seulement une petite quantité de MTB entre en contact avec l'organe d'intérêt, le reste étant dispersé ailleurs à travers l'organisme. Chacune de ces techniques d'injection a donc été testée pour constater les effets engendrés par l'introduction des MTB dans l'organisme.

6.2.3 Plan expérimental

Dans cette section, nous présentons la description des trois expériences menées. Chacune de ces expériences vise à accomplir un des objectifs de ce chapitre. Pour effectuer ces expériences, nous avons choisi un total de 24 souris consanguines de type C57Bl/6.

6.2.3.1 Expérience 1

Le but de la première expérience consistait à compléter nos deux premiers objectifs soit, vérifier que les MTB peuvent se déplacer librement dans un tissu animal (1er objectif) et vérifier que la distribution des MTB injectées directement dans un organe varie de façon significative lors de la présence d'un champ magnétique (2e objectif). À cette fin, 10 souris ont été dédiées à cette expérience. Une d'elles a été considérée comme témoin négatif, ne recevant ni injection de MTB ni exposition au champ magnétique. Les neuf autres ont reçu une injection de 10 µL de PBS 1X contenant des MTB à une concentration approximative de 10^8 MTB/mL directement dans la rate.

Parmi les neuf souris injectées, six d'entre elles ont été exposées à un champ magnétique suite à l'injection. Trois d'entre elles ont été exposées à ce champ pour une période de cinq minutes et, les trois autres pour une période de 15 minutes. Chaque groupe de trois souris a été identifié et numéroté afin de classifier les résultats obtenus. La classification des groupes apparaît au Tableau 6-1.

Tableau 6-1: Tableau de répartition des souris par groupe selon les critères de l'expérience 1

Groupe	**1-1**	**1-2**	**1-3**	**1-4**
Injection	Oui	Oui	Oui	Non
Exposition au champ magnétique	Non	Oui	Oui	Non
Temps d'exposition (min)	-	5	15	-
Nombre total de souris	3	3	3	1

La souris identifiée comme témoin négatif servait uniquement à calibrer notre méthode de détection décrite plus loin.

6.2.3.2 Expérience 2

Le but de la deuxième expérience était d'atteindre le troisième objectif, cherchant à vérifier que la distribution de MTB introduites par injection dans un tissu animal peut être centrée en un endroit précis du tissu sous l'influence d'un champ magnétique simulant la présence d'un pôle magnétique à l'endroit visé (3e objectif). Sept souris ont été dédiées à cette expérience. Une d'elles a été considérée comme témoin négatif ne recevant ni injection de MTB ni exposition au

champ magnétique. Les six autres ont toutes reçu une injection de 10 µL de PBS 1X contenant des MTB à une concentration approximative de 10^8 MTB/mL directement dans la rate.

Trois des six souris injectées ont été exposées à un champ magnétique pendant 15 minutes suite à l'injection. Les trois autres n'ont pas été exposées à un champ magnétique. Chaque groupe de trois a été identifié et numéroté afin de classifier les résultats obtenus. La classification des groupes apparaît au Tableau 6-2.

Tableau 6-2: Tableau de répartition des souris par groupe selon les critères de l'expérience 2

Groupe	**2-1**	**2-2**	**2-3**
Injection	Oui	Oui	Non
Exposition au champ magnétique	Non	Oui	Non
Temps d'exposition (min)	-	15	-
Nombre total de souris	3	3	1

6.2.3.3 Expérience 3

La troisième expérience cherchait à valider notre troisième objectif en utilisant une technique d'injection différente. Sept souris ont été dédiées à cette expérience. Une d'entre elles a été considérée comme témoin négatif ne recevant ni injection de MTB ni exposition au champ magnétique. Les six autres souris ont reçu une injection de 100 µL de PBS 1X contenant des MTB à une concentration approximative de 10^8 MTB/mL dans la veine caudale.

Trois des six souris injectées ont été exposées à un champ magnétique pendant 15 minutes suite à l'injection et les trois autres n'ont subi ni injection ni exposition à un champ magnétique. Chaque groupe a été identifié et numéroté afin de classifier les résultats obtenus. La classification des groupes apparaît au Tableau 6-3.

Tableau 6-3: Tableau de répartition des souris par groupe selon les critères de l'expérience 3

Groupe	**3-1**	**3-2**	**3-3**
Injection	Oui	Oui	Non
Exposition au champ magnétique	Non	Oui	Non
Temps d'exposition (min)	-	15	-
Nombre total de souris	3	3	1

6.2.4 Champs magnétiques

Les expériences ont été menées à l'aide de la plateforme expérimentale décrite au Chapitre 4. Le choix des séquences magnétiques utilisées pour diriger les MTB dans l'organisme de la souris s'est fait en considérant:

- La trajectoire désirée que devraient suivre les MTB.
- L'environnement dans lequel se trouvent les MTB.
- L'efficacité des séquences magnétiques à générer des agrégats de MTB dont il est question au Chapitre 5.

Différentes séquences magnétiques ont été considérées pour procéder aux trois expériences. Les trois séquences retenues sont décrites ci-dessous.

6.2.4.1 Séquence magnétique liée à l'expérience 1

La première expérience vise à valider nos deux premiers objectifs. La mise en cause de l'effet du champ magnétique sur le déplacement des MTB dans un tissu animal exigeait une séquence magnétique générant un champ relativement uniforme. En effet, afin de déterminer si la présence d'un champ magnétique influence véritablement le mouvement des MTB dans un tissu animal, nous devions nous assurer d'appliquer un champ magnétique ayant des caractéristiques précises. Ces caractéristiques nécessitaient que le champ magnétique généré au centre de la plateforme ait une direction uniforme au niveau de sa direction et une valeur supérieure à 1.5 mT pour nous assurer que les MTB dans le tissu soient toutes dirigées dans un même sens. La séquence développée pour cette application est présentée au Tableau 6-4 et a été simulée à l'aide du logiciel de simulation présenté et décrit au Chapitre 4.

Tableau 6-4: Séquence magnétique utilisée à l'intérieur de la plateforme expérimentale pour l'expérience 1

# de Configuration	**Courant dans chaque enroulement (A)**						**Temps d'exposition (s)**
	X^-	**X^+**	**Y^-**	**Y^+**	**Z^-**	**Z^+**	
1	40	0	40	40	40	40	5
2	0	40	40	40	40	40	1

Afin de représenter graphiquement le champ magnétique produit par cette séquence au fil du temps, nous avons utilisé la technique de validation décrite au Chapitre 5. Les champs vectoriels représentant le champ magnétique produit à l'intérieur de la plateforme à différents points dans l'espace pour chaque configuration ont d'abord été normalisés et ensuite additionnés de façon pondérée en fonction de leur temps d'exposition respectifs. Le résultat de la somme pondérée des vecteurs normalisés pour cette séquence apparaissent à la Figure 6-4. Comme la figure en fait état, cette séquence magnétique permet de diriger les MTB, contenues dans un volume de 125 cm^3, au centre du montage dans le sens positif de l'axe des X tout en convergeant légèrement vers ce même axe. Considérant que la rate de la souris ne fait qu'environ 1,5 cm de long, ce volume de contrôle nous a permis, lors de l'expérience, de nous assurer que le champ magnétique couvrait bien l'ensemble de la rate avec la géométrie voulue.

Malgré que le déplacement ait pu s'obtenir de façon statique en utilisant uniquement la configuration 1, nous avons choisi d'alterner ces deux configurations. En les appliquant séquentiellement, nous avons pu induire un mouvement de va et vient pour permettre aux MTB d'osciller dans les deux directions leur permettant finalement de se diriger dans la direction positive de l'axe des X. Cette stratégie avait pour objet de vérifier l'effet de l'influence du champ magnétique sur les MTB pour les déloger d'obstacles rencontrés lors de leur parcours et prévenir qu'elles demeurent bloquées dans le tissu. L'application de la seconde configuration de cette séquence magnétique correspond simplement à inverser la géométrie du champ magnétique. La durée plus prononcée de la première configuration ne fait qu'accentuer la distance parcourue dans cette direction. Ainsi, nous espérions que cette configuration permette aux MTB d'effectuer des changements de direction périodiques de courte durée (1 seconde) pour contourner les obstacles rencontrés dans le tissu. Au cours de l'expérience, cette séquence a été répétée sur chaque souris pour le temps de ciblage préétabli pour chaque animal.

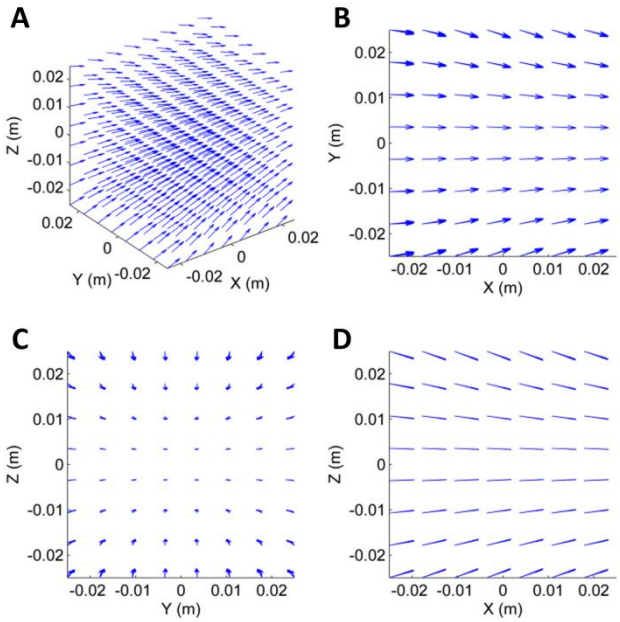


Figure 6-4: Graphiques illustrant le résultat de simulation de la séquence magnétique appliquée dans l'expérience 1. Les vecteurs bleus représentent la somme des champs magnétiques normalisés en ce point pour chaque configuration constituant la séquence. *(A)* Point de vue en perspective de l'ensemble du volume analysé situé au centre de la plateforme expérimentale. *(B)* Point de vue selon le plan X-Y de l'ensemble du volume représenté. (C) Point de vue selon le plan Y-Z de l'ensemble du volume représenté. (D) Point de vue selon le plan X-Z de l'ensemble du volume représenté.

Lors de l'expérience, l'animal anesthésié a été positionné dans la plateforme expérimentale de façon à orienter la partie longitudinale de la rate selon l'axe des X du montage. La portion injectée de la rate était positionnée du côté négatif de l'axe, alors que la partie opposée était positionnée vers le côté positif. Ainsi, lorsqu'exposées à la séquence magnétique, les bactéries situées au point d'injection devaient suivre l'axe des X du montage et migrer du point d'injection vers la portion opposée de l'organe.

6.2.4.2 Séquence magnétique liée à l'expérience 2

La deuxième expérience servait à valider notre troisième objectif. Elle mettait en cause notre capacité d'influencer la distribution des MTB injectées dans un tissu animal. Pour y arriver, nous avons appliqué une séquence magnétique simulant la présence d'un pôle magnétique. Cette séquence avait pour objet d'orienter l'ensemble des MTB vers un point précis dans la rate. La

séquence mise de l'avant pour cette application est présentée au Tableau 6-5 et a été simulée à l'aide du logiciel de simulation décrit au Chapitre 4. De hautes intensités de courant ont été utilisées pour cette expérience afin de s'assurer que le « pôle magnétique » d'agrégation des MTB soit suffisamment petit pour cibler précisément la partie étroite de la rate.

Tableau 6-5: Séquence magnétique utilisée à l'intérieur de la plateforme expérimentale pour l'expérience 2

# de Configuration	**Courant dans chaque enroulement (A)**						**Temps d'exposition (s)**
	X^-	**X^+**	**Y^-**	**Y^+**	**Z^-**	**Z^+**	
1	75	75	0	0	85	85	∞

Le champ magnétique produit à différents points dans l'espace à l'intérieur de la plateforme a été calculé à l'aide du logiciel de simulation. Le résultat de cette simulation est présenté à la Figure 6-5. Dans cette figure, nous constatons que les vecteurs représentant le champ magnétique généré par cette séquence pointent tous vers le point central de la plateforme lorsqu'observé depuis le plan X-Z (Figure 6-5 D). Cependant, lorsqu'on l'observe depuis les plan X-Y et Y-Z (Figure 6-5 B-C), nous constatons une divergence le long de l'axe des Y. Cette séquence constituée d'une seule configuration magnétique a été sélectionnée pour cette expérience en considérant le fait que l'injection des MTB dans le tissu de la rate était effectuée de façon directe et que la rate de la souris allait être positionné selon le plan X-Z. Les MTB injectées étaient donc confinées à l'intérieur même de l'organe et la divergence de cette configuration le long de l'axe des Y a donc été considérée comme négligeable.

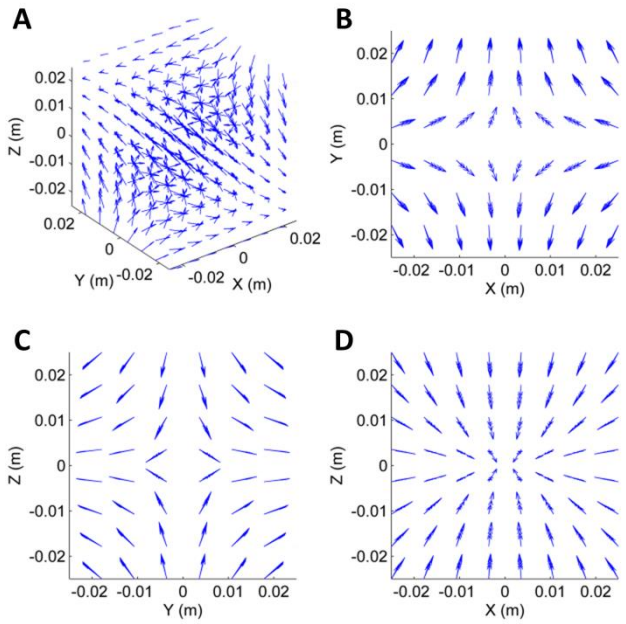


Figure 6-5: Graphiques illustrant le résultat de simulation de la séquence magnétique appliquée dans l'expérience 2. Les vecteurs bleus représentent le champ magnétique à ce point dans la plateforme. *(A)* Point de vue en perspective de l'ensemble du volume analysé situé au centre de la plateforme expérimentale. *(B)* Point de vue selon le plan X-Y de l'ensemble du volume représenté. *(C)* Point de vue selon le plan Y-Z de l'ensemble du volume représenté. *(D)* Point de vue selon le plan X-Z de l'ensemble du volume représenté.

Lors de l'expérience, l'animal anesthésié a été positionné dans la plateforme expérimentale de façon à orienter la rate dans le plan X-Z de la plateforme. Le côté opposé au point d'injection de la rate a été positionnée au centre de la plateforme coïncidant ainsi avec le point de convergence du champ magnétique selon le plan X-Z. En positionnant la rate ainsi, les bactéries provenant du point d'injection devaient, lorsqu'exposées à la séquence magnétique, se diriger vers le point de convergence du champ magnétique et, par le fait même, vers le centre du côté opposé au point d'injection de la rate.

6.2.4.3 Séquence magnétique liée à l'expérience 3

La troisième expérience visait à valider à nouveau notre troisième hypothèse, cette fois par voie d'injection intraveineuse. Dans ce cas, notre séquence magnétique devait pouvoir orienter l'ensemble des MTB distribuées à travers l'organisme entier de la souris vers un point précis dans la rate. La séquence développée pour cette application est présentée au Tableau 6-6 et a été

simulée à l'aide du logiciel de simulation. Cette séquence s'inspire de la séquence 2 présentée au Chapitre 5. Elle a été retenue comme étant la plus simple et efficace pour fins d'agrégation de MTB. Malgré le fait qu'elle ne générait pas un agrégat uniforme au centre de la plateforme, la séquence permettait de générer une agrégation rapide de MTB en limitant le nombre de configurations requises. Elle a dû être légèrement modifiée pour tenir compte du fait que la souris soit positionnée de façon couchée dans le plan X-Z à l'intérieur de la plateforme. La configuration 2 de cette séquence a donc été priorisée pour permettre d'agréger les MTB dans le plan X-Z en y attribuant un temps d'exposition de 5 secondes plutôt que 2.5 secondes. De plus, mentionnons que les courants appliqués dans cette séquence étaient plus élevés que ceux indiqués à la séquence 2 du Chapitre 5. Ces courants élevés nous permettaient d'augmenter la précision de notre point d'agrégation en induisant un gradient magnétique plus élevé au centre de la plateforme.

Tableau 6-6: Séquence magnétique utilisée à l'intérieur de la plateforme expérimentale pour l'expérience 3

# de Configuration	**Courant dans chaque enroulement (A)**						**Temps d'exposition (s)**
	X^-	**X^+**	**Y^-**	**Y^+**	**Z^-**	**Z^+**	
1	75	75	75	75	0	0	2.5
2	75	75	0	0	85	85	5
3	0	0	75	75	85	85	2.5

La représentation graphique du champ magnétique produit au fil du temps par cette séquence repose sur la technique de validation présentée au Chapitre 5. Les champs vectoriels représentant le champ magnétique produit à l'intérieur de la plateforme à différents points dans l'espace de chaque configuration ont d'abord été normalisés et ensuite additionnés de façon pondérée en fonction de leur temps d'exposition respectifs. Le résultat de cette somme pondérée des vecteurs normalisés pour cette séquence apparaît à la Figure 6-6.

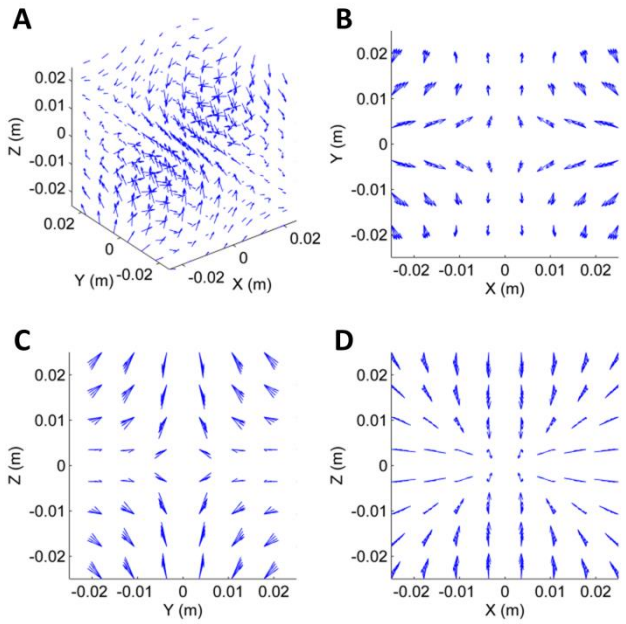


Figure 6-6: Graphiques représentant le résultat de simulation de la séquence magnétique appliquée dans l'expérience 3. Les vecteurs bleus représentent la somme des champs magnétiques normalisés en ce point de chaque configuration constituant la séquence. *(A)* Point de vue en perspective de l'ensemble du volume analysé situé au centre de la plateforme expérimentale. *(B)* Point de vue selon le plan X-Y de l'ensemble du volume représenté. *(C)* Point de vue selon le plan Y-Z de l'ensemble du volume représenté. *(D)* Point de vue selon le plan X-Z de l'ensemble du volume représenté.

Lors de l'expérience, l'animal anesthésié a été déposé dans la plateforme expérimentale selon le plan X-Z en prenant soin de positionner le centre de la rate au centre de la plateforme. Ce faisant, les bactéries provenant des vaisseaux sanguins en périphérie de la rate seraient dirigées, lorsqu'exposées à la séquence magnétique, vers le point de convergence du champ magnétique et, donc, vers le centre de la rate.

6.2.5 Analyse des organes

L'analyse des tissus récupérés de chaque souris a été conduite selon une méthode développée au laboratoire de NanoRobotique. Suite aux manipulations effectuées sur chaque souris, les organes d'intérêt ont immédiatement été prélevés de l'animal et placés dans un tube contenant 5 mL de PBS 1X. Dans le cas des souris ayant reçu une injection directe dans la rate, la portion de la rate ayant reçu l'injection a été séparée de la portion opposée de l'organe en le coupant tel qu'indiqué par la ligne pointillée schématisée dans la Figure 6-2 B. Le contenu de chacun de ces tubes a

ensuite été homogénéisé à l'aide d'un homogéniseur de type Polytron PT6100 avec un embout de type PT-DA 3012/2 tournant à 7000 révolutions par minutes pour une période de 45 secondes. Cette technique nous a permis d'obtenir une solution homogène composée de PBS 1X et le tissu prélevé contenant possiblement des MTB.

Pour quantifier les MTB dans chaque échantillon homogénéisé, une goutte d'environ 1 µL a été prélevée et placée sur une lame de microscope. L'échantillon a ensuite été observé sous un microscope de type Zeiss Imager Z1 à l'aide d'un objectif permettant un grossissement de 500 fois. Cette procédure nous a permis d'identifier le nombre total de MTB présents. Afin de nous assurer que les MTB observées sous microscope étaient bel et bien des bactéries et non un artéfact dans l'image, un champ magnétique alternatif était utilisé pour vérifier que l'objet observé effectuait une rotation lorsque le champ magnétique était renversé, tel que devrait le faire une bactérie. Nous devons souligner que certaines bactéries conservent leur motilité et sont ainsi reconnues pour réagir selon l'orientation du champ magnétique. En extrapolant le compte total de MTB dans l'échantillon sous observation au volume total de 5 mL de la solution homogénéisée, nous étions en mesure de déterminer le nombre approximatif de MTB contenu dans cette portion de l'organe. Le ratio entre le nombre de MTB détectées dans l'échantillon et le nombre total de MTB injectées initialement a ensuite été calculé et exprimé en pourcentage.

6.3 Résultats

Dans cette section, nous exposons l'ensemble des résultats obtenus pour les expériences décrites précédemment. Nous exposerons les résultats de chaque expérience de façon indépendante.

6.3.1 Expérience 1

Les résultats de l'expérience 1 sont présentés à la Figure 6-7. Ce graphique met en relief le pourcentage de MTB observées dans chaque partie des souris analysées par rapport à présence de MTB contenues dans le volume d'injection. Cette méthode de présentation des résultats permet d'éliminer le facteur de variabilité lié à la quantité de MTB injectées d'une souris à l'autre. Les résultats rapportés dans ce graphique concernent les trois groupes présentés dans le Tableau 6-1. Pour chacun de ces groupes, nous avons analysé les deux portions de la rate ainsi que le sang de l'animal. Cette quantification nous permet ainsi de constater la répartition de MTB dans les régions d'intérêts des souris.

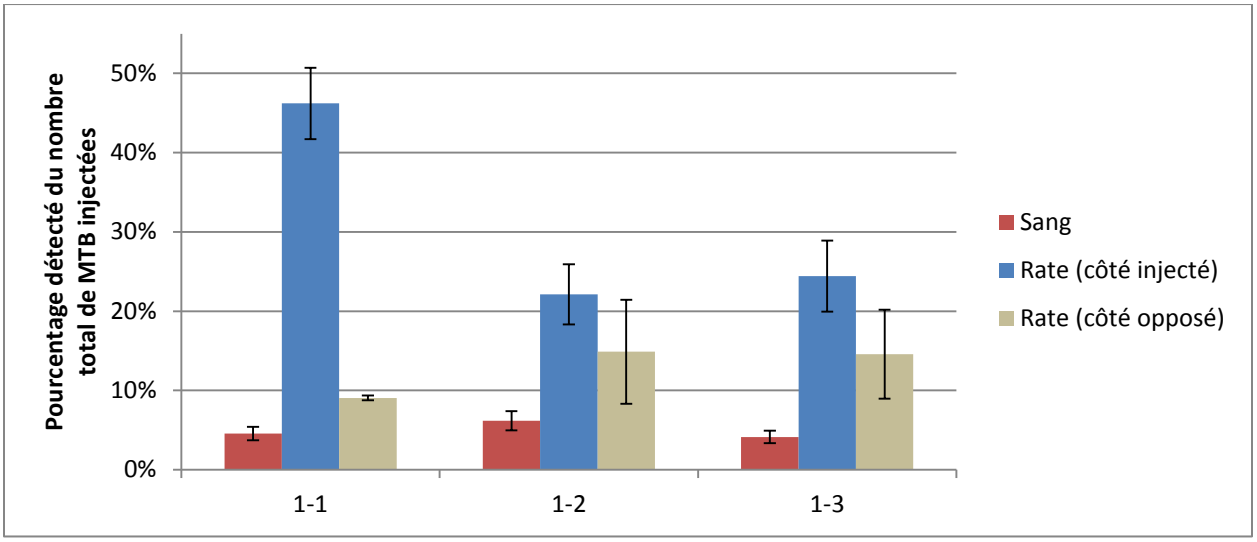


Figure 6-7: Graphique des pourcentages de MTB détectées dans le sang et les deux côtés de la rate par rapport à la quantité initialement injectée dans la rate de la souris dans le cadre de l'expérience 1 pour les trois groupes expérimentaux.

En observant ces résultats, nous constatons tout d'abord qu'en pourcentage, pour l'ensemble des MTB détectées, le total des trois colonnes de chaque groupe expérimental ne dépasse jamais 60%. Nous constatons ensuite un écart important entre le pourcentage de MTB détectées dans la portion injectée des rates des souris du groupe 1-1 et celles des deux autres groupes. Cet écart est de 24% par rapport au groupe 1-2 et de 22% par rapport au groupe 1-3. Nous constatons également que le pourcentage de MTB détectées dans les côtés opposés à l'injection des rates des groupes expérimentaux 1-2 et 1-3 est légèrement plus élevé en comparaison avec le groupe 1-1, avec un écart commun de 6%. Finalement, la proportion de MTB détectées dans le sang est restée relativement constante à travers les différents groupes expérimentaux avec une valeur moyenne d'environ 5%.

6.3.2 Expérience 2

Les résultats de l'expérience 2 découlant de l'analyse complétée apparaissent à la Figure 6-8. Le graphique identifie le pourcentage de MTB détectées dans chaque partie des souris analysées (sang et rate) par rapport à la présence totale de MTB lors de l'injection, ici encore pour chacun des groupes expérimentaux de l'expérience 2. L'analyse concerne les trois groupes présentés dans le Tableau 6-2. Pour chacun de ces groupes, nous avons analysé les deux portions de la rate

ainsi que le sang de l'animal. Cette quantification nous permet ainsi de constater la répartition de MTB dans les régions d'intérêts des souris.

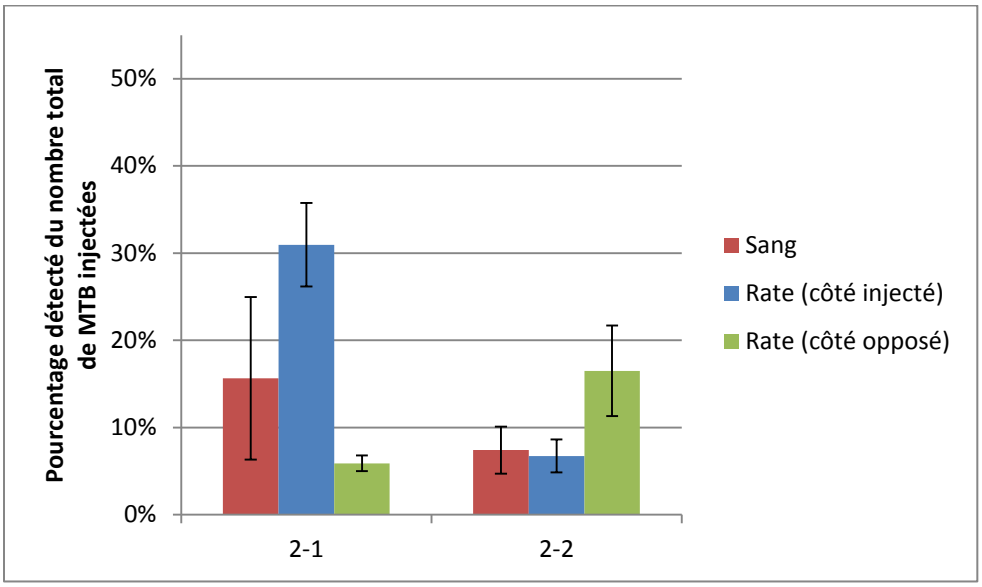


Figure 6-8 : Graphique des pourcentages de MTB détectées dans le sang et les deux côtés de la rate par rapport à la quantité de MTB initialement injectées dans la rate de la souris dans le cadre de l'expérience 2 pour les deux groupes expérimentaux.

Dans le graphique des résultats de l'expérience 2, nous constatons initialement que le pourcentage total des trois colonnes pour le premier groupe expérimental (2-1) est approximativement 53%, alors qu'il n'est que de 31% pour le groupe 2-2. Nous constatons ensuite un écart important de 24% entre le pourcentage de MTB détectées dans la portion injectée des rates des souris du groupe 2-1 (31%) et de celles du groupe 2-2 (7%). Nous constatons également que le pourcentage de MTB détectées dans les côtés opposés à l'injection des rates du groupe 2-2 est en moyenne de 16,5%, ce qui est 11% plus élevé que le pourcentage du groupe 2-1. En ce qui a trait au sang, nous ne pouvons considérer de différence entre les deux groupes expérimentaux.

6.3.3 Expérience 3

Les résultats de l'expérience 3 découlant de l'analyse complétée sont présentés à la Figure 6-9. Le graphique identifie le pourcentage de MTB détectées dans chaque partie des souris analysées (rate, sang) par rapport à la présence totale de MTB lors de l'injection, ici encore pour chacun des groupes expérimentaux de l'expérience 3. L'analyse a été complétée en fonction des trois

groupes présentés dans le Tableau 6-3. Pour chacun d'eux, nous avons analysés la rate en entier ainsi que le sang de l'animal. Cette quantification nous permet ainsi de constater la répartition de MTB dans les régions d'intérêts des souris. Il est à noter qu'uniquement deux des trois souris du groupe expérimental 3-1 ont été comptabilisées dans ces résultats puisque l'injection utilisée lors d'une des répétitions de l'expérience était beaucoup plus concentrée que les autres, modifiant ainsi les conditions expérimentales.

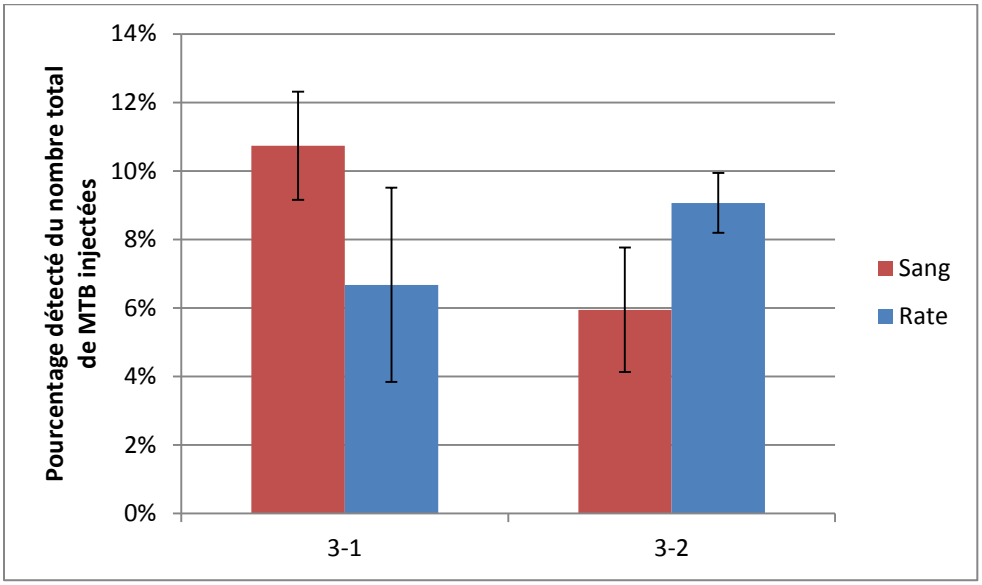


Figure 6-9 : Graphique des pourcentages de MTB détectées dans le sang et la rate entière par rapport à la quantité de MTB initialement injectées dans la rate de la souris dans le cadre de l'expérience 3 pour les deux groupes expérimentaux.

Dans le graphique des résultats de l'expérience 3, nous constatons que le pourcentage total des deux colonnes pour chaque groupe expérimental est inférieur à 20%. Un écart de 5% apparaît également entre le pourcentage de MTB détectées dans le sang du groupe expérimental 3-1 (11%) par rapport au groupe 3-2 (6%). Finalement, nous ne pouvons conclure qu'il y existe une différence entre la quantité de MTB détectées dans les rates de chacun de ces groupes puisque les écarts types de ces deux groupes se chevauchent.

6.4 Discussion et conclusion

Les résultats de l'expérience 1 nous permettent d'affirmer que l'application d'un champ magnétique influence la migration des MTB. En effet, la comparaison des pourcentages relevés pour les souris du groupe 1-1, injectées sans ciblage magnétique, à ceux des groupes 1-2 et 1-3,

révèle une diminution importante du nombre de MTB détectées dans la portion de la rate injectée avec ciblage magnétique (groupe 1-2 et 1-3). Cette diminution moyenne de 23 % dans les groupes 1-2 et 1-3 permet donc de valider nos 2 premiers objectifs. Le premier référait à la capacité des MTB de se déplacer librement dans un tissu animal. Celui-ci est validé puisque nous observons que les MTB, sous l'effet d'un champ magnétique, quittent leur position initiale qu'est le site d'injection. De plus, comme ce phénomène se produit uniquement lors de la présence d'un champ magnétique, tel qu'est le cas pour les groupes 1-2 et 1-3, nous pouvons également valider notre second objectif qui veut que la distribution de MTB dans un organe à la suite d'une injection varie de façon significative lors de la présence d'un champ magnétique puisque la diminution de MTB au site d'injection est liée à la présence d'un champ magnétique. Évidemment, des essais supplémentaires s'imposent afin de confirmer hors de tout doute la crédibilité des résultats. Malgré tout, les résultats obtenus sont suffisamment convaincants pour nous inciter à poursuivre nos tests en utilisant les expériences 2 et 3.

En observant les résultats de l'expérience 2, la diminution du nombre total de MTB détectées suite à l'application d'un champ magnétique est apparente. En effet, nous avons détecté un pourcentage total de MTB de 53% pour le groupe 2-1, et un total de seulement 31% pour le groupe 2-2. Cette diminution importante est principalement liée à la diminution du nombre de MTB présentes au lieu d'injection de la rate. Ceci concorde avec les résultats de l'expérience 1 et renforce l'argument que la présence d'un champ magnétique provoque le déplacement des MTB injectées. Nous remarquons ensuite une augmentation importante du nombre de MTB présentes dans la partie magnétiquement ciblée de la rate. Ainsi, ces deux constatations nous permettent de conclure, qu'une portion des MTB initialement situées dans la partie injectée de la rate se soit déplacée sous l'effet de l'attraction du « pôle magnétique » pour se retrouver dans la partie opposée de la rate. Ces résultats nous permettent donc de conclure que l'effet d'un champ magnétique joue un rôle dans la dispersion de MTB à l'intérieur d'un tissu animal, en l'occurrence dans la rate d'une souris. Par conséquent, ces résultats valident notre troisième objectif.

L'expérience 3 visait la validation de notre troisième objectif de façon différente, soit en procédant cette fois par voie d'une injection intraveineuse. Rappelons que le rôle de la séquence magnétique est de permettre de déplacer l'ensemble des MTB, dispersées dans l'organisme de la souris, vers un point prédéterminé qui est celui de la rate. Dans l'optique de vision à long terme et

d'applications médicales concrètes, le but ultime d'un tel exercice est de pouvoir transposer l'usage et le maniement de MTB dans le corps humain. Le succès d'une telle application offrirait une alternative moins invasive que l'incision, et la convalescence qu'elle commande, en permettant d'atteindre un grand nombre de régions internes du corps humain. En empruntant les routes du système cardiovasculaire, les MTB agiraient comme transporteurs dirigés par des champs magnétiques pour acheminer des médicaments aux zones affligées.

Les résultats de l'expérience exposés à la Figure 6-9 nous poussent à reconnaître que des efforts additionnels de recherche s'imposent. En effet, la séquence magnétique n'a provoqué qu'une augmentation mineure (≈2,4%) des MTB dans l'organe ciblé (la rate). Cette augmentation mineure nous empêche donc de statuer sur l'efficacité de cette technique.

De façon générale, la quantité totale de MTB détectées et représentées sur les graphiques de résultats n'atteint pas 100 %. Ce pourcentage varie entre 30% et 60% dans le cas des expériences 1 et 2, et entre 15% et 17.4% dans le cas de l'expérience 3. Plusieurs facteurs peuvent expliquer cette lacune au niveau de la détection.

D'abord, il est possible que la quantité de solution qui contient les MTB (10 µL pour les expériences 1 et 2 et 100 µL pour l'expérience 3, à une concentration de 10^8 MTB/mL) n'ait pas entièrement atteint l'intérieur du spécimen lorsqu'injectée. En effet, lors de l'insertion de la seringue dans le tissu ou la veine de la souris, la pression requise pour pousser le fluide de la seringue fait en sorte qu'une partie du fluide s'échappe vers d'autres parties du spécimen et n'atteigne pas entièrement le lieu désiré.

Un second facteur explicatif, particulièrement dans les expériences 1 et 2, concerne la dispersion des MTB dans le système systémique de la souris. En effet, dans le graphique de la Figure 6-8, une quantité non négligeable de bactéries se sont retrouvées dans le système sanguin et possiblement dans d'autres organes de la souris.

Enfin, dans l'expérience 3, uniquement une petite quantité de MTB injectées entre en contact avec le réseau vasculaire environnant de la rate, alors que le reste est diffusé à travers l'organisme entier de la souris.

En conclusion, les résultats obtenus avec expériences 1 et 2 sont encourageants. En effet, ils confirment qu'il est possible de déplacer des bactéries de type MTB vers un endroit précis dans

un tissu animal sous l'effet d'un champ magnétique. En contrepartie, des expériences supplémentaires sont requises afin de pouvoir statuer sur la possibilité d'utiliser une injection intraveineuse avec cette méthode de ciblage.

CHAPITRE 7 DISCUSSION GÉNÉRALE

Ce chapitre se veut une réflexion sur la matière présentée tant au niveau des expériences que des développements. Nous procédons d'abord à une récapitulation des résultats obtenus. Nous poursuivrons en soulignant le succès du projet sur le plan médical en commentant la contribution potentielle des résultats obtenus. Nous terminerons en abordant les limites du projet.

7.1 Sommaire des travaux

Cette recherche avait comme but de poursuivre les travaux entrepris par les membres du laboratoire de NanoRobotique de l'École Polytechnique de Montréal qui visent à trouver un moyen peu invasif, efficace et peu coûteux d'utiliser un microtransporteur ayant la capacité de naviguer dans le système vasculaire humain pour assurer le transport actif d'agents thérapeutiques anticancéreux directement aux cellules cancéreuses en épargnant le plus possible les cellules saines d'un patient.

À cette fin, un parcours de l'ensemble des technologies actuellement disponibles en microrobotique a été fait afin de constater que peu de choix s'offrait à nous pour entreprendre nos expériences. Seules des recherches provenant du laboratoire de NanoRobotique confirmaient la possibilité d'utiliser et de contrôler des microrobots à distance en deux dimensions sous l'influence de champs magnétiques.

Ces microrobots naturels sont des bactéries identifiées sous le nom MTB de type *Magnetococcus Marinus* MC-1, mesurant 2 µm de diamètre, qui se propulsent par elles-mêmes et qui sont dotées d'un comportement magnétotactique, donc influençable par champs magnétique.

Ce mémoire décrit des techniques novatrices, à ce jour exempte de la littérature couverte, qui permettent d'en faire usage en les contrôlant à distance en trois dimensions par l'intermédiaire de champs magnétiques générés par la plateforme expérimentale munie d'un générateur de champs magnétiques actionnée par un logiciel informatique spécialement conçu dans le cadre de ce projet de recherche.

Un premier chapitre dédié à la caractérisation du comportement de ces bactéries nous a permis d'établir les limites physiques auxquelles sont assujetties les techniques de contrôle. Tel que décrit au Chapitre 3, l'utilisation d'une induction magnétique supérieure à 10 mT peut entraîner

un changement de polarité au niveau de la chaîne de magnétosomes contenues dans ce type de MTB lorsque celles-ci rencontrent un obstacle dans leur trajectoire.

La connaissance de ces limites et du comportement de ces bactéries en présence d'un champ magnétique nous a ensuite permis de développer des applications logicielles pour analyser vectoriellement les champs magnétiques générés par la plateforme et prédire le comportement de ces bactéries lorsqu'exposées à différentes séquences magnétiques, tel que présenté au Chapitre 4. Des simulations effectuées en appliquant différentes séquences magnétiques ont confirmé la possibilité théorique de générer des agrégats de MTB dans un environnement tridimensionnel. Une description de la configuration de la plateforme expérimentale ainsi que de l'application informatique permettant de générer les séquences magnétiques sur des échantillons de MTB ont également été présentées dans ce même chapitre.

Les séquences magnétiques correspondant aux exigences ont ensuite été testées expérimentalement au Chapitre 5 en utilisant cette plateforme magnétique afin de valider notre capacité de générer des agrégats de MTB à distance dans un environnement tridimensionnel. Les résultats positifs obtenus ont confirmé ce que nous considérons être une première dans le domaine. En effet, au meilleur de notre connaissance, aucune mention littéraire ne fait état de la capacité de générer et de diriger des agrégats de MTB dans un environnement tridimensionnel, autre que celle mise de l'avant dans ce travail.

Finalement, plusieurs essais ont été conduits à l'intérieur d'animaux vivants. Lors de ces expériences, décrites au Chapitre 6, des MTB ont été introduites et dirigées de façon contrôlée en trois dimensions à l'intérieur du tissu animal par l'usage de champs magnétiques inspirés des séquences magnétiques validées expérimentalement au Chapitre 5. Les résultats convaincants de ces expériences pratiques ont validé notre capacité de diriger ces micros transporteurs à l'intérieur d'un tissu humain.

En se référant aux expériences et résultats présentés au cours de ce mémoire, nous sommes en mesure d'évaluer quelle pourrait être la contribution potentielle au domaine médicale ainsi que les limites de l'application d'une telle technologie. Ces deux aspects sont analysés dans les deux prochaines sections.

7.2 Contribution au domaine médical

La capacité d'introduire et de contrôler le cheminement de microrobots à l'intérieur d'un système biologique, ou d'un tissu, est un atout non négligeable qui pourrait complémenter voire même améliorer les techniques courantes d'administration de médicaments dans un patient. Dans le cas d'un cancer par exemple, il est possible de considérer que la greffe d'une charge thérapeutique au microtransporteur permettrait non seulement de le guider à l'intérieur de la vasculature humaine ou d'un tissu en particulier, mais d'également livrer le médicament à un endroit ciblé. Cette capacité pourrait potentiellement permettre d'améliorer l'efficacité des médicaments anticancéreux en les ciblant à l'endroit désiré et en réduisant la perturbation des régions saines. En effet, comme il en a été question dans notre revue de la littérature, l'environnement tumoral possède des caractéristiques qui nuisent à la diffusion des agents thérapeutiques anti-cancéreux. Par rapport à un tissu sain, une région atteinte souffre d'une pression interstitielle plus élevée, de régions hypoxiques mal vascularisées, d'un réseau chaotique de capillaires, etc. Doté d'un agent thérapeutique, le microtransporteur bénéficie d'un mode de propulsion qui lui permettrait de surmonter l'environnement hostile dans lequel il navigue pour atteindre le tissu tumoral et livrer le médicament. Ce moyen protège, par le fait même, les tissus sains en limitant la diffusion aléatoire des agents thérapeutiques à travers l'organisme. Il en découle donc que les applications envisageables liées à l'utilisation éventuelle de ces microorganismes au niveau médical sont nombreuses et pourraient contribuer au mieux-être des patients en dirigeant plus effectivement les médicaments.

Nous portons à votre attention qu'au cours de notre recherche nous avons également construit un prototype d'instrument médical, dont il n'a pas été question jusqu'à présent dans ce mémoire. En effet, la production d'un tel instrument se voulait un moyen d'opérer un transfert technologique pour poursuivre des tests cliniques basés sur la technique de livraison de médicament développée dans ce projet. Un rapport sommaire de l'instrument médical en question apparaît à l'annexe 3 et a été développé en collaboration avec les professionnels de la santé de l'hôpital général juif de Montréal. Les détails concernant la conception de cet instrument ne sont pas décrits dans ce mémoire pour limiter la longueur de ce mémoire.

7.3 Limitations

Ce système de livraison active de médicament vers un site tumoral semble très prometteur, mais il s'accompagne de certaines limites.

Tout d'abord, les microorganismes dont il est question ne mesurent que 2 µm de diamètre et peuvent atteindre une vitesse moyenne d'environ 200µm/s en se propulsant par eux-mêmes. Ils possèdent une bonne motilité dans des environnements peu turbulents, mais peuvent facilement se désorienter en présence de courants ou de turbulence à l'intérieur d'un fluide. Dans le cas du réseau vasculaire humain, le débit sanguin est un élément très important. En considérant le débit de sang dans ce réseau, nous constatons que la seule région du système sanguin humain qui se prête favorablement au contrôle des bactéries est celui des capillaires. C'est en effet, le seul endroit où le débit sanguin est inférieur à 1 mm/s.

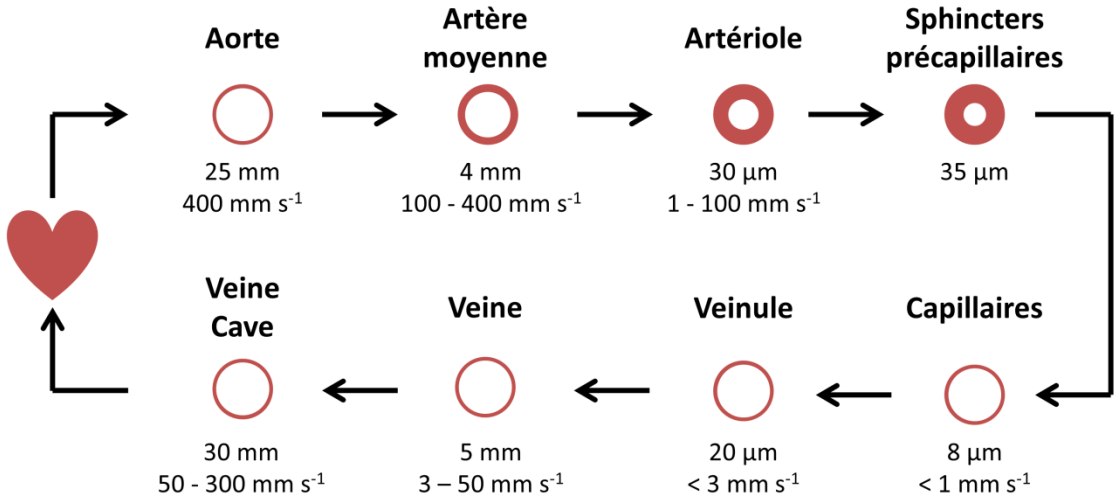


Figure 7-1: Figure qui présente les caractéristiques de taille et de débit sanguin dans divers vaisseaux sanguins du corps humain. Image adaptée de [71]. Le débit sanguin moyen ainsi que le diamètre des vaisseaux sanguins sont identifiés.

La seconde limitation concerne la réaction immunitaire du patient face à la présence des microorganismes administrés. En effet, un des rôles du système immunitaire du patient est de réagir pour éliminer tout corps étranger rencontré. Malgré que des études préliminaires sur des souris démontrent une réaction immunitaire minime, le risque d'une réaction plus agressive demeure présent dans le cas du système immunitaire humain.

Une troisième lacune importante liée à cette technique consiste en l'absence de rétroaction au cours du processus de ciblage des bactéries. À ce jour cette absence nous contraint d'utiliser ce système en boucle ouverte ce qui signifie que la réussite du guidage ne peut se vérifier qu'une fois le protocole de ciblage terminé soit, après avoir traité le patient. Elle est d'autant plus significative qu'elle ne laisse place à aucune marge d'erreur ce qui implique que les bactéries magnétotactiques chargées de médicaments peuvent atteindre un endroit différent. Deux conséquences majeures découleraient d'une telle cette situation. D'abord, le tissu cible n'est pas atteint et aucun traitement n'a lieu à cet endroit. De plus, la dose de médicaments injectée se retrouvera ailleurs dans le corps du patient pouvant provoquer des dommages importants à des tissus sains. Cette dernière conséquence est d'autant plus importante puisqu'elle risque d'empirer la condition du patient plutôt que de l'améliorer.

CHAPITRE 8 RECOMMANDATIONS

Ayant parcouru le potentiel et les limites de cette technologie, passons maintenant aux étapes à franchir pour placer ce projet à l'avant plan et concrétiser la vision qu'il incarne. Dans cette section, nous parcourrons les étapes importantes à poursuivre dans le but de pouvoir envisager le transfert de cette technologie vers une application clinique.

8.1.1 « Registration » : Étalonnage de la plateforme magnétique

Au cours de cette maîtrise, l'ensemble des résultats relevés sont soit le fruit d'observations directes (sous microscope ou non), soit d'observations très invasives, tel que l'extraction d'organes d'un organisme lors d'expériences in vivo décrites au Chapitre 6.

Il est difficile d'envisager le jour où un tel système pourra être utile à l'être humain sans continuer nos recherches pour nous assurer que l'endroit magnétiquement ciblé correspond au point de visée dans la région du tissu tumoral. Pour y parvenir, nous pourrions considérer des techniques couramment utilisées par des appareils ayant un fonctionnement semblable, tel un appareil de radiothérapie externe. Les radiographies captées par l'appareil permettent ensuite d'exposer le patient à un traitement par radiation orienté spécifiquement sur les tissus d'intérêt. Il y a lieu de considérer qu'une telle technique puisse être transposée sur notre appareil. Un appareil pourrait être fixé à notre plateforme magnétique pour permettre la prise d'au moins deux radiographies selon deux axes différents (par exemple des radiographies coronale et sagittale). Ces deux radiographies aideraient ainsi à calibrer notre champ magnétique en appliquant la séquence magnétique appropriée pour diriger les MTB de façon plus précise vers le site tumoral.

En somme, l'étalonnage de la plateforme magnétique en fonction de la région de traitement visée à l'intérieur du patient est une étape essentielle si nous voulons envisager le jour où nous pourrons utiliser cette plateforme pour livrer des médicaments dans l'être humain.

8.1.2 Choix des séquences de champs magnétiques

Nos recherches ont permis d'établir le contrôle à distance de MTB dans un environnement 3D à l'aide de champs magnétiques. L'intensité de ces champs a été discutée et les trois séquences retenues confirment notre habileté à éventuellement contrôler des MTB à l'intérieur de l'organisme humain. Bien que l'intensité et la fréquence d'application des champs magnétiques

choisis répondent à nos attentes pour des fins bien précises, il y aurait lieu d'en évaluer l'efficacité plus en détail en approfondissant l'analyse et en recherchant des combinaisons optimales additionnelles. Il se peut fort bien que d'autres modes (intensité et fréquence) puissent mieux correspondre à des applications ciblant des endroits plus difficiles d'accès.

8.1.3 Logiciel de contrôle

Deux logiciels ont été décrits au Chapitre 4. L'un permet de simuler et caractériser le champ magnétique généré par la plateforme magnétique et de prévoir le déplacement de MTB sous l'effet des champs magnétiques. L'autre permet de contrôler la plateforme expérimentale. Ces deux logiciels pourraient éventuellement être fusionnés pour combiner la simulation de champs magnétique et l'application de séquences sur la plateforme expérimentale. Il est permis d'imaginer la possibilité éventuelle d'automatiser la sélection de séquences magnétiques appropriées pour générer un agrégat de MTB à l'endroit désiré dans la plateforme en fonction du point d'agrégation dicté par le logiciel.

8.1.4 Tests in vivo à l'intérieur d'un tissu tumoral

Le Chapitre 6 fait état des résultats obtenus suite aux tests in vivo réalisés sur des souris. Il y a lieu de considérer que des expériences devront être à nouveau pratiquées sur des souris dans lesquelles auront été implantées des tumeurs issues de de cellules cancéreuses de souche humaine. Un tel exercice permettra de valider si les MTB sont en mesure de naviguer à l'intérieur d'un tissu tumoral et si leur parcours peut être contrôlé à l'intérieur du tissu sous l'influence de l'application de séquences magnétiques.

En conclusion, de nombreux travaux restent à faire pour mener notre projet à terme. Nous sommes tout de même en mesure de préciser que les résultats constatés confirment la pertinence de nos recherches. Les applications potentielles de ce projet combinées aux répercussions sur le bien-être de l'être humain et à l'avancement de la science sont autant de facteurs qui justifient d'éviter la poursuite et le support que devrait recevoir ce projet de recherche.

CONCLUSION

Les résultats uniques et concluants de ce projet de recherche sur le contrôle tridimensionnel de microorganismes font preuve d'une avancée importante au niveau de la microrobotique. En effet, l'utilisation de microorganismes comme microrobots est une approche relativement nouvelle et inexplorée dans le domaine médical. La capacité de regrouper et contrôler des microorganismes à distance et de façon tridimensionnelle est une réalisation importante et, à notre connaissance, innovatrice qui fait d'elle un point tournant dans le milieu de la microrobotique. Pouvoir utiliser des MTB pour transporter des médicaments directement aux sites tumoraux ne fait qu'amplifier les bienfaits potentiels de cette percée microrobotique.

Parmi les réalisations décrites, les techniques de contrôle tridimensionnel de bactéries magnétotactiques, ne mesurant que 2 μm de diamètre, dans un tissu biologique offrent de nouvelles opportunités dans de nombreux domaines scientifiques en plus de celui du traitement du cancer sur lequel repose notre étude.

Le succès de ce projet est un précurseur de liens plus serrés qui se tissent progressivement entre le génie et la médecine. En effet, de telles percées ne peuvent que contribuer à avantager les effets de la chimiothérapie en permettant d'acheminer les médicaments plus efficacement à l'endroit désigné. Ces découvertes contribuent au rayonnement du génie, stimulent la curiosité et encouragent l'exploration. Les bénéfices que peut en tirer la société justifient l'encouragement financier de projets de recherche semblables.

RÉFÉRENCES

[1] Société canadienne du cancer, "*Statistiques générales sur le cancer en bref*," *Société canadienne du cancer*, 2012. [En ligne]. Disponible: https://www.cancer.ca/Canada-wide/About%20cancer/Cancer%20statistics/Stats%20at%20a%20glance/General%20cancer%20stats.aspx?sc_lang=fr-ca. [Consulté le 27 mars 2012].

[2] "Canadian Cancer Statistics 2012," Canadian Cancer Statistics, Toronto, Ontario, Canada, Rapport statistique,2012.

[3] American Cancer Society, "*Economic Impact of Cancer*," *American Cancer Society*, 2012. [En ligne]. Disponible: http://www.cancer.org/cancer/cancerbasics/economic-impact-of-cancer. [Consulté le 27 mars 2013].

[4] Canadian Cancer Society, "*Treatement options for cancer*," *Canadian Cancer Society*, 2011. [En ligne]. Disponible: http://www.cancer.ca/Canada-wide/About%20cancer/Treatment.aspx?sc_lang=en. [Consulté le 11 janvier 2011].

[5] M. S. Edwards, S. D. Chadda, Z. Zhao, B. L. Barber et D. P. Sykes, "A systematic review of treatment guidelines for metastatic colorectal cancer," *Colorectal Dis*, vol. 14, p. e31-47, Feb 2012.

[6] A. Merla et S. Goel, "Novel drugs targeting the epidermal growth factor receptor and its downstream pathways in the treatment of colorectal cancer: a systematic review," *Chemotherapy research and practice*, vol. 2012, p. 387172, 2012.

[7] M. R. Benoit, D. Mayer, Y. Barak, I. Y. Chen, W. Hu, Z. Cheng, S. X. Wang, D. M. Spielman, S. S. Gambhir et A. Matin, "Visualizing Implanted Tumors in Mice with Magnetic Resonance Imaging Using Magnetotactic Bacteria," *Clinical Cancer Research*, vol. 15, p. 5170-5177, 2009.

[8] R. K. Jain, "Transport of molecules in the tumor interstitium: a review," *Cancer research*, vol. 47, p. 3039-51, Jun 15 1987.

[9] A. Tzur, R. Kafri, V. S. LeBleu, G. Lahav et M. W. Kirschner, "Cell Growth and Size Homeostasis in Proliferating Animal Cells," *Science*, vol. 325, p. 167-171, July 10 2009.

[10] M. Sitti, "Miniature devices: Voyage of the microrobots," *Nature*, vol. 458, p. 1121-1122, 2009.

[11] L. Zhang, J. J. Abbott, L. Dong, B. E. Kratochvil, D. Bell et B. J. Nelson, "Artificial bacterial flagella: Fabrication and magnetic control," *Applied Physics Letters*, vol. 94, p. 064107-3, 2009.

[12] J. Edd, S. Payen, B. Rubinsky, M. L. Stoller et M. Sitti, "Biomimetic Propulsion for a Swimming Surgical Micro-Robot," dans *2003 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems, October 27, 2003 - October 31, 2003*, Las Vegas, NV, United states, 2003, p. 2583-2588.

[13] K. B. Yesin, P. Exner, K. Vollmers et B. J. Nelson, "Design and control of in-vivo magnetic microrobots," dans *8th International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2005* Palm Springs, Ca, 2005, p. 819-826.

[14] S. Martel, M. Mohammadi, O. Felfoul, Z. Lu et P. Pouponneau, "Flagellated Magnetotactic Bacteria as Controlled MRI-trackable Propulsion and Steering Systems for Medical Nanorobots Operating in the Human Microvasculature," *The International Journal of Robotics Research,* vol. 28, p. 571-582, April 1 2009.

[15] R. Bogue, "The development of medical microrobots: A review of progress," *Industrial Robot,* vol. 35, p. 294-299, 2008.

[16] S. Sudo, S. Segawa et T. Honda, "Magnetic swimming mechanism in a viscous liquid," *Journal of Intelligent Material Systems and Structures,* vol. 17, p. 729-736, 2006.

[17] F. J. DiSalvo, "Thermoelectric Cooling and Power Generation," *Science,* vol. 285, p. 703-706, July 30 1999.

[18] J. Gao, "Traveling magnetic field for homogeneous wireless power transmission," *IEEE Transactions on Power Delivery,* vol. 22, p. 507-514, 2007.

[19] K. B. Yesin, K. Vollmers et B. J. Nelson, "Modeling and Control of Untethered Biomicrorobots in a Fluidic Environment Using Electromagnetic Fields," *The International Journal of Robotics Research,* vol. 25, p. 527-536, 1st May 2006.

[20] S. Martel, O. Felfoul, J.-B. Mathieu, A. Chanu, S. Tamaz, M. Mohammadi, M. Mankiewicz et N. Tabatabaei, "MRI-based Medical Nanorobotic Platform for the Control of Magnetic Nanoparticles and Flagellated Bacteria for Target Interventions in Human Capillaries," *The International Journal of Robotics Research,* vol. 28, p. 1169-1182, September 1 2009.

[21] P. Kodati, J. Hinkle et X. Deng, "Micro autonomous robotic ostraciiform (MARCO): Design and fabrication," dans *Proceedings - IEEE International Conference on Robotics and Automation*, 2007, p. 960-965.

[22] Y. Tanaka, K. Hirano, H. Nagata et M. Ishikawa, "Real-time three-dimensional orientation control of non-spherical micro-objects using laser trapping," *Electronics Letters,* vol. 43, p. 412-413, 2007.

[23] T. Asavei, S. Parkin, M. Persson, R. Vogel, M. Funk, V. Loke, T. Nieminen, H. Rubinsztein-Dunlop et N. Heckenberg, "Engineering optically driven micromachines," dans *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*, 2008.

[24] D. J. Bell, S. Leutenegger, K. M. Hammar, L. X. Dong et B. J. Nelson, "Flagella-like Propulsion for Microrobots Using a Nanocoil and a Rotating Electromagnetic Field," dans *IEEE International Conference on Robotics and Automation*, 2007, p. 1128-1133.

[25] J. J. Abbott, K. E. Peyer, L. X. Dong et B. J. Nelson, "How should microrobots swim?," *Springer Tracts in Advanced Robotics,* vol. 66, p. 157-167, 2010.

[26] B. L. Taylor, I. B. Zhulin et M. S. Johnson, "Aerotaxis and other energy-sensing behavior in bacteria," *Annu Rev Microbiol,* vol. 53, p. 103-28, 1999.

[27] K. B. Yesin, K. Vollmers et B. J. Nelson, "Analysis and design of wireless magnetically guided microrobots in body fluids," dans *Proceedings - IEEE International Conference on Robotics and Automation*, 2004, p. 1333-1338.

[28] R. Blakemore, "Magnetotactic bacteria," *Science,* vol. 190, p. 377-379, 24 October 1975.

[29] R. B. Frankel et D. A. Bazylinski, "Magnetotaxis and magnetic particles in bacteria," *Hyperfine Interactions,* vol. 90, p. 135-142, 1994.

[30] R. B. Frankel, D. A. Bazylinski, M. S. Johnson et B. L. Taylor, "Magneto-aerotaxis in marine coccoid bacteria," *Biophys Journal,* vol. 73, p. 994-1000, August 1997.

[31] R. B. Frankel et D. A. Bazylinski, "How magnetotactic bacteria make magnetosomes queue up," *Trends Microbiol,* vol. 14, p. 329-31, Aug 2006.

[32] R. B. Frankel, "Magnetic Guidance of Organisms," *Annual Review of Biophysics and Bioengineering,* vol. 13, p. 85-103, 1984.

[33] S. L. Simmons, D. A. Bazylinski et K. J. Edwards, "South-seeking magnetotactic bacteria in the Northern Hemisphere," *Science,* vol. 311, p. 371-4, Jan 20 2006.

[34] D. A. Bazylinski, T. J. Williams, C. T. Lefevre, R. J. Berg, C. L. Zhang, S. S. Bowser, A. J. Dean et T. J. Beveridge, "Magnetococcus marinus gen. nov., sp. nov., a marine, magnetotactic bacterium that represents a novel lineage (Magnetococcaceae fam. nov.; Magnetococcales ord. nov.) at the base of the Alphaproteobacteria," *Int J Syst Evol Microbiol,* May 11 2012.

[35] O. Felfoul, "MRI-Based Tumour Targeting Enhancement with Magnetotactic Bacterial Carriers," Ph.D. Thesis, Computer and Software Engineering, École Polytechnique de Montréal, Montreal, 2011.

[36] R. Frankel, T. Williams et D. Bazylinski, "Magneto-Aerotaxis," dans *Magnetoreception and Magnetosomes in Bacteria,* éd., 2007, p. 1-24.

[37] K. Erglis, Q. Wen, V. Ose, A. Zeltins, A. Sharipo, P. A. Janmey et A. Cebers, "Dynamics of magnetotactic bacteria in a rotating magnetic field," *Biophys Journal,* vol. 93, p. 1402-12, Aug 15 2007.

[38] H. Lee, A. M. Purdon, V. Chu et R. M. Westervelt, "Controlled Assembly of Magnetic Nanoparticles from Magnetotactic Bacteria Using Microelectromagnets Arrays," *Nano Lett.,* vol. 4, p. 995-998, 2004.

[39] S. Martel, C. C. Tremblay, S. Ngakeng et G. Langlois, "Controlled manipulation and actuation of micro-objects with magnetotactic bacteria," *Applied Physics Letters,* vol. 89, 2006.

[40] S. Martel et M. Mohammadi, "Using a Swarm of Self-propelled Natural Microrobots in the Form of Flagellated Bacteria to Perform Complex Micro-assembly Tasks," dans *Proceedings of International Conference on Robotics and Automation,* New York, 2010, p. 500-505.

[41] A. Komeili, "Cell Biology of Magnetosome Formation," dans *Magnetoreception and Magnetosomes in Bacteria*. vol. 3, D. Schüler, Édit., éd.: Springer Berlin / Heidelberg, 2007, p. 163-174.

[42] D. Faivre et D. Schüler, "Magnetotactic Bacteria and Magnetosomes," *Chemical Reviews,* vol. 108, p. 4875-4898, November 12 2008.

[43] R. B. Frankel, R. P. Blakemore, F. F. Torres de Araujo, D. M. S. Esquivel et J. Danon, "Magnetotactic Bacteria at the Geomagnetic Equator," *Science,* vol. 212, p. 1269-1270, Jun 12 1981.

[44] S. Spring et D. Bazylinski, "Magnetotactic Bacteria," dans *The Prokaryotes*. vol. 2, M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, and E. Stackebrandt, Édit., 3e éd.: Springer, 2006, p. 842-862.

[45] T. Polyakova et V. Zablotskii, "Magnetization processes in magnetotactic bacteria systems," *Journal of Magnetism and Magnetic Materials,* vol. 293, p. 365-370, 2005.

[46] I. Penninga, H. de Waard, B. M. Moskowitz, D. A. Bazylinski et R. B. Frankel, "Remanence measurements on individual magnetotactic bacteria using a pulsed magnetic field," *Journal of Magnetism and Magnetic Materials,* vol. 149, p. 279-286, 1995.

[47] M. Hanzlik, M. Winklhofer et N. Petersen, "Pulsed-field-remanence measurements on individual magnetotactic bacteria," *Journal of Magnetism and Magnetic Materials,* vol. 248, p. 258-267, 2002.

[48] S. Martel, "Controlled Bacterial Micro-actuation," dans *Proceedings of International Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology*, 2006, p. 89-92.

[49] F. C. Meldrum, S. Mann, B. R. Heywood, R. B. Frankel et D. A. Bazylinski, "Electron-Microscopy Study of Magnetosomes in a Cultured Coccoid Magnetotactic Bacterium," dans *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 1993, p. 231-236.

[50] I. S. Jacobs et C. P. Bean, "An Approach to Elongated Fine-Particle Magnets," *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys,* vol. 100, p. 1060, 1955.

[51] W. Roger, "The Stoner–Wohlfarth model of ferromagnetism," *IEEE Transactions on Magnetics,* vol. 45, p. 100, 2009.

[52] D. Jiles, *Introduction to Magnetism and Magnetic Materials*, 2e éd.: Chapman & Hall/CRC/Taylor & Francis Group, 1998.

[53] B. Moskowitz et S. Banerjee, "Grain size limits for pseudosingle domain behavior in magnetite: Implications for paleomagnetism," *IEEE Transactions on Magnetics,* vol. 15, p. 1241-1246, 1979.

[54] R. E. Dunin-Borkowski, M. R. McCartney, R. B. Frankel, D. A. Bazylinski, M. Posfai et P. R. Buseck, "Magnetic microstructure of magnetotactic bacteria by electron holography," *Science,* vol. 282, p. 1868-70, Dec 4 1998.

[55] D. J. Dunlop, "The rock magnetism of fine particles," *Physics of the Earth and Planetary Interiors,* vol. 26, p. 1-26, 1981.

[56] C. J. Goss, "Saturation magnetisation, coercivity and lattice parameter changes in the system Fe3O4 & Fe2O3 and their relationship to structure," *Physics and Chemistry of Minerals,* vol. 16, p. 164-171, 1988.

[57] G. F. Goya, T. S. Berquó, F. C. Fonseca et M. P. Morales, *Static and dynamic magnetic properties of spherical magnetite nanoparticles* vol. 94: AIP, 2003.

[58] Eric Dennison, "*Off-Axis Field of a Current Loop*," *Eric Dennison,* 2004. [En ligne]. Disponible: http://www.netdenizen.com/emagnettest/offaxis/?offaxisloop. [Consulté le 26 mars 2013].

[59] W. Trimmer et R. Jebens, "Actuators for micro robots," dans *IEEE International Conference on Robotics and Automation*, 1989, p. 1547-1552.

[60] P. Dario, R. Valleggi, M. C. Carrozza, M. C. Montesi et M. Cocco, "Microactuators for microrobots: a critical survey," *Journal of Micromechanics and Microengineering,* vol. 2, p. 141, 1992.

[61] J. J. Abbott, Z. Nagy, F. Beyeler et B. J. Nelson, "Robotics in the Small, Part I: Microbotics," *Robotics & Automation Magazine, IEEE,* vol. 14, p. 92-103, 2007.

[62] N. N. Sharma et R. K. Mittal, "Nanorobot Movement: Challenges and Biologically inspired solutions," *International Journal on Smart Sensing and Intelligent Systems,* vol. 1, p. 87-109, 2008.

[63] A. S. Bahaj, P. A. B. James et F. D. Moeschler, "High gradient magnetic separation of motile and non-motile magnetotactic bacteria," *IEEE Transactions on Magnetics,* vol. 32, p. 5106-5108, Sep 1996.

[64] O. Felfoul, N. Mokrani, M. Mohammadi et S. Martel, "Effect of the chain of magnetosomes embedded in magnetotactic bacteria and their motility on Magnetic Resonance imaging," communication présentée à Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2010.

[65] H. G. Lins de Barros, D. M. Esquivel et M. Farina, "Magnetotaxis," *Sci Prog,* vol. 74, p. 347-59, 1990.

[66] N. A. Hill et T. J. Pedley, "Bioconvection," *Fluid Dynamics Research,* vol. 37, p. 1-20, Jul-Aug 2005.

[67] M. J. Cook, *The Anatomy of the Laboratory Mouse*: Cabdirect, 1965.

[68] M. F. Cesta, "Normal Structure, Function, and Histology of the Spleen," *Toxicologic Pathology,* vol. 34, p. 455-465, August 1 2006.

[69] D. L. Liu, S. Xia, W. Xu, Q. Ye, Y. Gao et J. Qian, "Anatomy of vasculature of 850 spleen specimens and its application in partial splenectomy," *Surgery,* vol. 119, p. 27-33, 1996.

[70] R. E. Mebius et G. Kraal, "Structure and function of the spleen," *Nat Rev Immunol,* vol. 5, p. 606-616, 2005.

[71] B. J. Nelson, I. K. Kaliakatsos et J. J. Abbott, "Microrobots for Minimally Invasive Medicine," *Annual Review of Biomedical Engineering,* vol. 12, p. 55-85, 2010.

ANNEXES

Annexe 1 : Code Matlab du logiciel de simulation

```
function [Bx By Bz] = OffAxisFieldCartesian(x,y,z,i,n,a,boolDisplay)

% Function name:    OffAxisFieldCartesian
%
% Author:           Dominic de Lanauze
% Date:             16 juin 2011
%
% Description:      This function calcultates the magnetic field value
%                   generated at a certain point (or vector) in space by a
%                   current coil
%
% Input arguments:  x,y,z : Cartesian coordinates of the point in space we
%                           wish to obtain the magnetic field
%                   n : Number of turns of coil
%                   i : Current in loop (A)
%                   a : mean radius of the loop (m)
%                   boolDisplay:    Turns on(true) or off(false) field
%                                   display
%
% Return argument:  [Bx By Bz] :    3D matrix containing x,y,z values of
%                                   the magnetic field at the different
%                                   points specified

% default setting
if (nargin < 7)
    n = 1;
    i = 3;
    a = 0.0079/2;
    % Calculating volume limit for simulation
%     volumeLimit = cos(pi/4)*a-0.1*a;
    volumeLimit = 0.001;

    [x,y,z] = meshgrid(...
        linspace(-volumeLimit,volumeLimit,6),...
        linspace(-volumeLimit,volumeLimit,6),...
        linspace(-volumeLimit,volumeLimit,6))
    boolDisplay = true;

end

% Permeability constant (H/m)
mu0 = 4*pi()*10^(-7);
% Magnetic field at center of coil
B0 = n.*i.*mu0./(2.*a);

alpha = sqrt(x.^2+y.^2)./a;
beta = z./a;
gamma = z./sqrt(x.^2+y.^2);

Q = (1+alpha).^2 + beta.^2;
k = sqrt(4*alpha./Q);


%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
[K,E] = ellipke(k.^2);
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%


% reference: http://www.netdenizen.com/emagnettest/offaxis/?offaxisloop
Bz = B0./(pi*sqrt(Q)).*(E.*(1-alpha.^2-beta.^2)./(Q-4*alpha)+K);
Br = B0*gamma./(pi*sqrt(Q)).*(E.*(1+alpha.^2+beta.^2)./(Q-4*alpha)-K);

% Calculating x and y component of the field
```

```
Bx = abs(cos(atan2(y,x))).*Br.*(x./abs(x));
By = abs(sin(atan2(y,x))).*Br.*(y./abs(y));


%********************** Affichage *************************
if (boolDisplay)
    figure
    quiver3(x,...
        y,...
        z,...
        Bx,...
        By,...
        Bz,'LineWidth',2);

    xlabel('X (m)','FontSize',12);
    ylabel('Y (m)','FontSize',12);
    zlabel('Z (m)','FontSize',12);
end
% ************************************************************
```

Published with MATLAB® 7.9

```
function [Bxt Byt Bzt Btotal] = ElectromagnetField(x,y,z,xLeftCurrent,...
    xRightCurrent, yTopCurrent, yBottomCurrent, zBackCurrent,...
    zFrontCurrent, nbPoints, simSpan, boolDisplayElectromagnetField)

% Function name:    ElectromagnetField
%
% Author:           Dominic de Lanauze
% Date:             16 juin 2011
%
% Description:      This function calcultates the magnetic field value
%                   generated at a certain point (or vector) in space by 3
%                   orthogonal current coil pairs
%
% Input arguments:  x,y,z:          Coordinates around which to simulate
%                   xLeftCurrent:   current in coil 1 (xLeft) (A)
%                   xRightCurrent:  current in coil 2 (xRight) (A)
%                   yTopCurrent:    current in coil 3 (zBack)(A)
%                   yBottomCurrent: current in coil 4 (zFront)(A)
%                   zBackCurrent:   current in coil 5 (yBottom)(A)
%                   zFrontCurrent:  current in coil 6 (yTop)(A)
%                   nbPoints:       Number of points to be evaluated in
%                                   every dimension of the simulation
%                                   span to be evaluated
%                   simSpan:        Distance that will be covered by the
%                                   simulation in every dimension (m)
%                   boolDisplayElectromagnetField: Boolean value to toggle
%                                   display on or off


% default setting
if (nargin < 12)
    x=0;
    y=0;
    z=0.1;
    nbPoints =8;
    simSpan = .1;
    xLeftCurrent = 0; % Coil on plane YZ bottom
    xRightCurrent = 0; % Coil on plane YZ top
    yTopCurrent = 0; % Coil on plane XZ top
    yBottomCurrent = 0; % Coil on plane XZ bottom
    zBackCurrent = 0; % Coil on plane XY bottom
    zFrontCurrent = -40; % Coil on plane XY top
    boolDisplayElectromagnetField = true;
end

% Number of loops of wires in each coil
xLeft.Turns = 25;
xRight.Turns = 25;
yTop.Turns = 25;
yBottom.Turns = 25;
zBack.Turns = 32;
zFront.Turns = 32;

% Radius of each coil in the electromagnet machine setup
xLeft.Radius = 0.0887;
xRight.Radius = 0.0887;
yTop.Radius = 0.0887;
yBottom.Radius = 0.0887;
zBack.Radius = (110+157.956)/2/1000;
zFront.Radius = (110+157.956)/2/1000;

% Distance seperating coils in each pair
xCoilSeperationDistance = (0.1125+0.121492)/2*2;
```

```
yCoilSeperationDistance = (0.1125+0.121492)/2*2;
zCoilSeperationDistance = (0.1205+0.128992)/2*2;

% Distance seperating coils in each pair
xLeft.DistanceFromCenter = xCoilSeperationDistance/2; % 21.6cm
xRight.DistanceFromCenter = xCoilSeperationDistance/2;
yBottom.DistanceFromCenter = yCoilSeperationDistance/2;
yTop.DistanceFromCenter = yCoilSeperationDistance/2;
zBack.DistanceFromCenter = zCoilSeperationDistance/2;
zFront.DistanceFromCenter = zCoilSeperationDistance/2;

if(nbPoints>1)

    % Meshgrid volume matrices for X axis
    [x1,y1,z1] = ...
        meshgrid(linspace(-simSpan./2-z,simSpan./2-z,nbPoints),...
        linspace(-simSpan./2+y,simSpan./2+y,nbPoints),...
        linspace((xCoilSeperationDistance./2+x)-simSpan./2,...
        (xCoilSeperationDistance./2+x)+simSpan./2,nbPoints));

    [x2,y2,z2] = ...
        meshgrid(linspace(-simSpan/2+z,simSpan/2+z,nbPoints),...
        linspace(-simSpan/2+y,simSpan/2+y,nbPoints),...
        linspace((xCoilSeperationDistance/2-x)-simSpan/2,...
        (xCoilSeperationDistance/2-x)+simSpan/2,nbPoints));

    % Meshgrid volume matrices for Y axis
    [x3,y3,z3] = ...
        meshgrid(linspace(-simSpan/2+x,simSpan/2+x,nbPoints),...
        linspace(-simSpan/2-z,simSpan/2-z,nbPoints),...
        linspace((yCoilSeperationDistance/2+y)-simSpan/2,...
        (yCoilSeperationDistance/2+y)+simSpan/2,nbPoints));

    [x4,y4,z4] = ...
        meshgrid(linspace(-simSpan/2+x,simSpan/2+x,nbPoints),...
        linspace(-simSpan/2+z,simSpan/2+z,nbPoints),...
        linspace((yCoilSeperationDistance/2-y)-simSpan/2,...
        (yCoilSeperationDistance/2-y)+simSpan/2,nbPoints));

    % Meshgrid volume matrices for Z axis
    [x5,y5,z5] = ...
        meshgrid(linspace(-simSpan/2+x,simSpan/2+x,nbPoints),...
        linspace(-simSpan/2+y,simSpan/2+y,nbPoints),...
        linspace((zCoilSeperationDistance/2+z)-simSpan/2,...
        (zCoilSeperationDistance/2+z)+simSpan/2,nbPoints));

    [x6,y6,z6] = ...
        meshgrid(linspace(-simSpan/2-x,simSpan/2-x,nbPoints),...
        linspace(-simSpan/2+y,simSpan/2+y,nbPoints),...
        linspace((zCoilSeperationDistance/2-z)-simSpan/2,...
        (zCoilSeperationDistance/2-z)+simSpan/2,nbPoints));

    % Meshgrid volume matrices for display
    [x,y,z] = ...
        meshgrid(linspace(-simSpan/2+x,simSpan/2+x,nbPoints),...
        linspace(-simSpan/2+y,simSpan/2+y,nbPoints),...
        linspace(-simSpan/2+z,simSpan/2+z,nbPoints));
else

    % Meshgrid volume matrices for X axis
    % X-Left
    x1 = -z;
    y1 = y;
    z1 = xCoilSeperationDistance/2+x;
```

```
    % X-Right
    x2 = z;
    y2 = y;
    z2 = xCoilSeperationDistance/2-x;

    % Meshgrid volume matrices for Y axis
    % Y-Bottom
    x3 = x;
    y3 = -z;
    z3 = yCoilSeperationDistance/2+y;

    % Y-Top
    x4 = x;
    y4 = z;
    z4 = yCoilSeperationDistance/2-y;

    % Meshgrid volume matrices for Z axis
    % Z-Back
    x5 = x;
    y5 = y;
    z5 = zCoilSeperationDistance/2+z;

    % Z-Front
    x6 = -x;
    y6 = y;
    z6 = zCoilSeperationDistance/2-z;

end

% Magnetic field calculations for each coil on setup
[Bx1 By1 Bz1] = OffAxisFieldCartesian(...
    x5,y5,z5,zBackCurrent,zBack.Turns,zBack.Radius,false);
[Bx2 By2 Bz2] = OffAxisFieldCartesian(...
    x6,y6,z6,zFrontCurrent,zFront.Turns,zFront.Radius,false);
[Bx3 By3 Bz3] = OffAxisFieldCartesian(...
    x1,y1,z1,xLeftCurrent,xLeft.Turns,xLeft.Radius,false);
[Bx4 By4 Bz4] = OffAxisFieldCartesian(...
    x2,y2,z2,xRightCurrent,xRight.Turns,xRight.Radius,false);
[Bx5 By5 Bz5] = OffAxisFieldCartesian(...
    x4,y4,z4,yTopCurrent,yTop.Turns,yTop.Radius,false);
[Bx6 By6 Bz6] = OffAxisFieldCartesian(...
    x3,y3,z3,yBottomCurrent,yBottom.Turns,yBottom.Radius,false);

% Total magnetic field generated in the electromagnet machine
Bxt = Bx1 - Rot90Volume(Bx2,'y',2) + ...
    Rot90Volume(Bz3,'y',1) - Rot90Volume(Bz4,'y',-1) +...
    Rot90Volume(Bx5,'x',1) + Rot90Volume(Bx6,'x',-1);
Byt = By1 + Rot90Volume(By2,'y',2) + ...
    Rot90Volume(By3,'y',1) + Rot90Volume(By4,'y',-1) -...
    Rot90Volume(Bz5,'x',1) + Rot90Volume(Bz6,'x',-1);
Bzt = Bz1 - Rot90Volume(Bz2,'y',2) - ...
    Rot90Volume(Bx3,'y',1) + Rot90Volume(Bx4,'y',-1) +...
    Rot90Volume(By5,'x',1) - Rot90Volume(By6,'x',-1);
Btotal = sqrt(Bxt.^2 + Byt.^2 + Bzt.^2);

if (boolDisplayElectromagnetField == true)
    % Displaying magnetic field lines
    figure
    h=quiver3(x,...
        y,...
        z,...
        Bxt,...
        Byt,...
        Bzt,'LineWidth',2);
```

```
    xlabel('X (m)','FontSize',12);
    ylabel('Y (m)','FontSize',12);
    zlabel('Z (m)','FontSize',12);

%     Positionning camera to view magnetic field lines from the right side
%     of the connectors towards the center of the machine.
%     view(135,-45);
%     camroll(55);
end

%     figure;
%
%     %   Display 2D field for powerpoint presentation
%         figure;
%         scale = 0.5;
%         quiver3(x(nbPoints/2,:,:),...
%             y(nbPoints/2,:,:),...
%             z(nbPoints/2,:,:),...
%             Bxt(nbPoints/2,:,:),...
%             Byt(nbPoints/2,:,:),...
%             Bzt(nbPoints/2,:,:),...
%             scale,'LineWidth',2);
%         xlim([-0.1 0.1]);
%         ylim([-0.1 0.1]);

end
```

Published with MATLAB® 7.9

```
function [posX posY posZ] = MoveMTB(x,y,z,xLeftCurrent,xRightCurrent,...
    yBottomCurrent,yTopCurrent,zBackCurrent,zFrontCurrent,MTBSpeed,...
    timeIncrement,boolDisplayField)
% Function name:    MoveMTB
%
% Author:           Dominic de Lanauze
% Date:             20120917
%
% Description:      This function simulates the movement of a magnetotactic
%                   bacteria in the magnetic field generated by the
%                   magnetotaxis platform.
%
% Input arguments:  x,y,z:          Current position of the bacteria. The
%                                   origin corresponds to the middle of
%                                   the platform.
%                   xLeftCurrent:   current in coil 1 (xLeft) (A)
%                   xRightCurrent:  current in coil 2 (xRight) (A)
%                   yTopCurrent:    current in coil 3 (zBack)(A)
%                   yBottomCurrent: current in coil 4 (zFront)(A)
%                   zBackCurrent:   current in coil 5 (yBottom)(A)
%                   zFrontCurrent:  current in coil 6 (yTop)(A)
%                   MTBSpeed:       Mean speed of the MTB(200um/s for MC-1)
%                   timeIncrement:  Period of time for which the MTB will
%                                   be exposed to this magnetic field (s)
%                   boolDisplayField:   Boolean value to toggle
%                                       display on or off

% Output arguments: posX,posY,posZ: Final position (x,y,z) of the bacteria
%                                   in the magnetotaxis platform

[Bxt Byt Bzt Btotal] = ElectromagnetField(x,y,z,xLeftCurrent,...
    xRightCurrent,yTopCurrent,yBottomCurrent,zBackCurrent,...
    zFrontCurrent,1,0.1,false);

Bxnorm = Bxt/Btotal;
Bynorm = Byt/Btotal;
Bznorm = Bzt/Btotal;

if (Btotal>=0.00005)

    vx=MTBSpeed*Bxt/Btotal;
    vy=MTBSpeed*Byt/Btotal;
    vz=MTBSpeed*Bzt/Btotal;

    posX = x+vx*timeIncrement;
    posY = y+vy*timeIncrement;
    posZ = z+vz*timeIncrement;
else
    %%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
    % A changer par un movement aleatoire
    theta = rand(1)*2*pi;
    phi = rand(1)*pi-pi/2;
    r=1;

    [vx_norm vy_norm vz_norm] = sph2cart(theta,phi,r);

    vx = vx_norm * MTBSpeed;
    vy = vy_norm * MTBSpeed;
    vz = vz_norm * MTBSpeed;

    posX = x+vx*timeIncrement;
    posY = y+vy*timeIncrement;
    posZ = z+vz*timeIncrement;
```

```
    %%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
end
if (boolDisplayField)
    figure(1);
    hold on;
    quiver3(x,y,z,Bxnorm,Bynorm,Bznorm);
    scatter3(x,y,z);

end

end
```

Published with MATLAB® 7.9

```
function varargout = MTBswimmingSimulationGUI(varargin)
% Function name:    MTBswimmingSimulationGUI
%
% Author:           Dominic de Lanauze
% Date:             9 février 2013
%
% Description:      This function executes a GUI interface allowing the
%                   user to simulate the generated magnetic field of the
%                   magnetaxis platform used in the experiments.

% Last Modified by GUIDE v2.5 09-Feb-2013 14:58:31

% Begin initialization code - DO NOT EDIT
gui_Singleton = 1;
gui_State = struct('gui_Name',       mfilename, ...
    'gui_Singleton',  gui_Singleton, ...
    'gui_OpeningFcn', @MTBswimmingSimulationGUI_OpeningFcn, ...
    'gui_OutputFcn',  @MTBswimmingSimulationGUI_OutputFcn, ...
    'gui_LayoutFcn',  [] , ...
    'gui_Callback',   []);
if nargin && ischar(varargin{1})
    gui_State.gui_Callback = str2func(varargin{1});
end

if nargout
    [varargout{1:nargout}] = gui_mainfcn(gui_State, varargin{:});
else
    gui_mainfcn(gui_State, varargin{:});
end
% End initialization code - DO NOT EDIT


% --- Executes just before MTBswimmingSimulationGUI is made visible.
function MTBswimmingSimulationGUI_OpeningFcn(hObject, eventdata, ...
    handles, varargin)
% This function has no output args, see OutputFcn.
% hObject    handle to figure
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
% varargin   command line arguments to MTBswimmingSimulationGUI

% Choose default command line output for MTBswimmingSimulationGUI
handles.output = hObject;

% Update handles structure
guidata(hObject, handles);

% UIWAIT makes MTBswimmingSimulationGUI wait for user response
% uiwait(handles.figure1);
simSpanTextBox=str2double(get(handles.simSpanTextBox,'string'));
set(handles.xposish,'string',num2str(-simSpanTextBox/2));
set(handles.yposish,'string',num2str(-simSpanTextBox/2));
set(handles.zposish,'string',num2str(-simSpanTextBox/2));
% set(handles.onoff,'string','a');
% set(handles.isrunning,'string','false')

% --- Outputs from this function are returned to the command line.
function varargout = MTBswimmingSimulationGUI_OutputFcn(hObject,...
    eventdata, handles)
% varargout  cell array for returning output args (see VARARGOUT);
% hObject    handle to figure
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
```

```
% Get default command line output from handles structure
varargout{1} = handles.output;


% --- Executes on button press in runButton.
function runButton_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to runButton (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
myData = guidata(hObject);

myData.simSpan=str2double(get(handles.simSpanTextBox,'string'));
myData.timeIncrement=str2double(get(handles.timeIncrementTextBox,'string'));
myData.MTBSpeed=str2double(get(handles.mclSpeedTextBox,'string'));
myData.nbPoints = str2double(get(handles.nbPointsTextBox,'string'));

% set(handles.isrunning,'string','true');

I=get(handles.data,'data');
I=ExtractSequenceFromDataGrid(I);



if (strcmp(get(handles.xFinalPosTextBox,'string'),'--') ||...
        strcmp(get(handles.yFinalPosTextBox,'string'),'--') ||...
        strcmp(get(handles.zFinalPosTextBox,'string'),'--'))
    myData.posBact.x = str2double(get(handles.xposish,'string'));
    myData.posBact.y = str2double(get(handles.yposish,'string'));
    myData.posBact.z = str2double(get(handles.zposish,'string'));
else
    myData.posBact.x=str2double(get(handles.xFinalPosTextBox,'string'));
    myData.posBact.y=str2double(get(handles.yFinalPosTextBox,'string'));
    myData.posBact.z=str2double(get(handles.zFinalPosTextBox,'string'));
end

%
% set(handles.onoff,'string','b');
%

if get(handles.corner,'Value') ==1

    posBact.x=[-simSpanTextBox/2 simSpanTextBox/2 -simSpanTextBox/2 ...
        simSpanTextBox/2 -simSpanTextBox/2 simSpanTextBox/2 ...
        -simSpanTextBox/2 simSpanTextBox/2];
    posBact.y=[-simSpanTextBox/2 -simSpanTextBox/2 simSpanTextBox/2 ...
        simSpanTextBox/2 -simSpanTextBox/2 -simSpanTextBox/2 ...
        simSpanTextBox/2 simSpanTextBox/2];
    posBact.z=[-simSpanTextBox/2 -simSpanTextBox/2 -simSpanTextBox/2 ...
        -simSpanTextBox/2 simSpanTextBox/2 simSpanTextBox/2 ...
        simSpanTextBox/2 simSpanTextBox/2];

    number_of_bacteria=8;
else
    number_of_bacteria=1;
end

% storing_pos=zeros(100,3);

iteration_value=str2double(get(handles.numberOfIterationsTextBox,'string'));


if get(handles.corner,'Value') ==0
    initialize_size=(sum(I(:,7))*iteration_value)/3;
else
```

```
    initialize_size=(sum(I(:,7))*iteration_value*8)/3;
end
storex=ones(initialize_size,1);
storey=ones(initialize_size,1);
storez=ones(initialize_size,1);
c1=1;
c2=1;

figure(1);
box off
hold on
xlabel('X (m)','FontSize',12);
ylabel('Y (m)','FontSize',12);
zlabel('Z (m)','FontSize',12);
rotate3d on;
xlim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
ylim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
zlim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
view(3);
daspect([1 1 1]);
set(gca,'XGrid','off')
set(gca,'YGrid','off')
set(gca,'ZGrid','off')

for corners=1:number_of_bacteria
    x=myData.posBact.x(corners);
    y=myData.posBact.y(corners);
    z=myData.posBact.z(corners);
    for k=1:iteration_value
        for configNumber=1:size(I,1)
            boolDisplayElectromagnetField = true;

            for j=0:myData.timeIncrement:I(configNumber,7)

                [xnew ynew znew]=MoveMTB(x,y,z,I(configNumber,1),...
                    I(configNumber,2),I(configNumber,3),...
                    I(configNumber,4),I(configNumber,5),...
                    I(configNumber,6),myData.MTBSpeed,...
                    myData.timeIncrement,false);

                if get(handles.realtime,'Value')==...
                        get(handles.realtime,'max')
                    pause(0.01)
                end

                if get(handles.restrainOnOffRadioButton,'Value')-=1
                    if get(handles.restrainBoxedRadioButton,'Value')==1
                        if abs(xnew) <= abs(myData.simSpan/2)
                            x = xnew;
                        end
                        if abs(ynew) <= abs(myData.simSpan/2)
                            y = ynew;
                        end
                        if abs(znew) <= abs(myData.simSpan/2)
                            z = znew;
                        end
                    else
                        if sqrt(xnew^2+ynew^2) <= abs(myData.simSpan/2/15)
                            x = xnew;
                            y = ynew;
                        end
                        if abs(znew) <= abs(myData.simSpan/2)
                            z = znew;
                        end
```

```
                    end
                else
                    x = xnew;
                    y = ynew;
                    z = znew;
                end

%                 posBact.x(corners)=posBact.x(corners)+...
%                   didstopx*vx*time;%+motion_x;
%                 posBact.y(corners)=posBact.y(corners)+...
%                   didstopy*vy*time;%+motion_y;
%                 posBact.z(corners)=posBact.z(corners)+...
%                   didstopz*vz*time;%+motion_z;

                c2=c2+1;
            end
            c1=c1+1;
        end
        myData.finalPosBact.x(1) = x;
        myData.finalPosBact.y(1) = y;
        myData.finalPosBact.z(1) = z;

        set(handles.xFinalPosTextBox,'string',num2str(x));
        set(handles.yFinalPosTextBox,'string',num2str(y));
        set(handles.zFinalPosTextBox,'string',num2str(z));

        % Display

        scatter3(x,y,z,'r');

    end
end

guidata(hObject,myData);

function nbIterationsTextBox_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to nbIterationsTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)



% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function nbIterationsTextBox_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to nbIterationsTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),...
        get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end



function simSpanTextBox_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to simSpanTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

myData = guidata(hObject);
```

```
myData.simSpan=str2double(get(handles.simSpanTextBox,'string'));

guidata(hObject,myData);

% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function simSpanTextBox_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to simSpanTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),...
        get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end


% --- Executes on button press in addseq.
function addseq_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to addseq (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)


% --- Executes on button press in saveseq.
function saveseq_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to saveseq (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)




function xposish_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to xposish (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
myData = guidata(hObject);

myData.posBact.x(1) = str2double(get(handles.xposish,'string'));

guidata(hObject,myData);

% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function xposish_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to xposish (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),...
        get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end



function yposish_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to yposish (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
myData = guidata(hObject);
```

```
myData.posBact.y(1) = str2double(get(handles.yposish,'string'));

guidata(hObject,myData);

% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function yposish_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to yposish (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),...
        get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end

function zposish_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to zposish (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
myData = guidata(hObject);

myData.posBact.z(1) = str2double(get(handles.zposish,'string'));

guidata(hObject,myData);

% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function zposish_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to zposish (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),...
        get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end

% --- Executes on button press in clrbutton.
function clrbutton_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to clrbutton (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
set(handles.isrunning,'string','false')
cla;

% --- Executes on button press in showmagnetic.
function showmagnetic_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to showmagnetic (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

% Hint: get(hObject,'Value') returns toggle state of showmagnetic



% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function loadseq_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to loadseq (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called
```

```
% Hint: listbox controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),...
        get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end


% --- Executes on button press in realtime.
function realtime_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to realtime (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

% Hint: get(hObject,'Value') returns toggle state of realtime


% --- Executes on button press in trail.
function trail_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to trail (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

% Hint: get(hObject,'Value') returns toggle state of trail


function name_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to name (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)


% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function name_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to name (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),...
        get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end


% --- Executes on button press in Abortbutton.
function Abortbutton_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to Abortbutton (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)


% --- Executes on button press in checkbox7.
function checkbox7_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to checkbox7 (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

% Hint: get(hObject,'Value') returns toggle state of checkbox7
```

```
% --- Executes on button press in showcoils.
function showcoils_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to showcoils (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
%storing_pos
%%SHOW COIL
%ZFRONT

%MEGACOUNTER=MEGACOUNTER+1;
% Hint: get(hObject,'Value') returns toggle state of showcoils


% --- Executes on button press in pushbutton11.
function pushbutton11_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to pushbutton11 (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)


% --- Executes on button press in iterate.
function iterate_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to iterate (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

% Hint: get(hObject,'Value') returns toggle state of iterate


function numberOfIterationsTextBox_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to numberOfIterationsTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)


% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function numberOfIterationsTextBox_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to numberOfIterationsTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),...
        get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');


end

% --- Executes on button press in corner.
function corner_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to corner (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

% Hint: get(hObject,'Value') returns toggle state of corner


% --- Executes on button press in ASFbutton.
function ASFbutton_Callback(hObject, eventdata, handles)
```

```
% hObject    handle to ASFbutton (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
if get(handles.corner,'Value') ==1
    posBact.x=[-simSpanTextBox/2 simSpanTextBox/2 ...
        -simSpanTextBox/2 simSpanTextBox/2 ...
        -simSpanTextBox/2 simSpanTextBox/2 ...
        -simSpanTextBox/2 simSpanTextBox/2];
    posBact.y=[-simSpanTextBox/2 -simSpanTextBox/2 ...
        simSpanTextBox/2 simSpanTextBox/2 ...
        -simSpanTextBox/2 -simSpanTextBox/2 ...
        simSpanTextBox/2 simSpanTextBox/2];
    posBact.z=[-simSpanTextBox/2 -simSpanTextBox/2 ...
        -simSpanTextBox/2 -simSpanTextBox/2 ...
        simSpanTextBox/2 simSpanTextBox/2 ...
        simSpanTextBox/2 simSpanTextBox/2];
    posBactfinal.x=[0 0 0 0 0 0 0 0];
    posBactfinal.y=[0 0 0 0 0 0 0 0];
    posBactfinal.z=[0 0 0 0 0 0 0 0];
    tolerence=0.0001;
end


% --- Executes on button press in checkbox13.
function checkbox13_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to checkbox13 (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)


% --- Executes on mouse press over figure background, over a disabled or
% --- inactive control, or over an axes background.
function figure1_WindowButtonDownFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to figure1 (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)


% --- Executes on button press in checkbox14.
function checkbox14_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to checkbox14 (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)


function File_menu_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to File_menu (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)


function sizeofx_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to sizeofx (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)


% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function sizeofx_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to sizeofx (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
```

```
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),...
        get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end


function sizeofy_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to sizeofy (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)


% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function sizeofy_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to sizeofy (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),...
        get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end



function sizeofz_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to sizeofz (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

% Hints: get(hObject,'String') returns contents of sizeofz as text
%        str2double(get(hObject,'String')) returns contents of sizeofz as a double


% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function sizeofz_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to sizeofz (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'), get(0,'defaultUicontrolBackgrou
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end


% --- Executes on button press in restrain.
function restrain_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to restrain (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
% if strcmp(get(handles.uirestrain,'Visible'),'on')==1
%     set(handles.uirestrain,'Visible','off')
% else
%     set(handles.uirestrain,'Visible','on')
% end


% --- Executes on button press in restrainCylinderRadioButton.
function restrainCylinderRadioButton_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to restrainCylinderRadioButton (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
```

```
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
set(handles.restrainBoxedRadioButton,'Value',0);
set(handles.restrainOnOffRadioButton,'Value',0);

% --- Executes on button press in restrainBoxedRadioButton.
function restrainBoxedRadioButton_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to restrainBoxedRadioButton (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
set(handles.restrainCylinderRadioButton,'Value',0)
set(handles.restrainOnOffRadioButton,'Value',0);


function SaveSequence_ClickedCallback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to SaveSequence (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)


function saveSequenceMenuItem_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to saveSequenceMenuItem (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

data=get(handles.data,'data');
% save(get(handles.name,'string'),'data');
SaveSequence(data);


function loadSequenceMenuItem_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to loadSequenceMenuItem (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

fileData = LoadSequence();
set(handles.data,'data',fileData);


function sequenceConvergenceValidation_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to sequenceConvergenceValidation (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)



function viewTag_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to viewTag (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)


function showCoilsMenuItem_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to showCoilsMenuItem (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

simSpan=str2double(get(handles.simSpanTextBox,'string'));
axes(handles.axes2);
    text(0,0,simSpan/2,...
        'ZFRONT',...
        'FontSize',16)
    text(0,0,-simSpan/2,...
        'ZBACK',...
        'FontSize',16)
    text(0,simSpan/2,0,...
```

```
        'YTOP',...
        'FontSize',16)
    text(0,-simSpan/2,0,...
        'YBOTTOM',...
        'FontSize',16)
    text(simSpan/2,0,0,...
        'XRIGHT',...
        'FontSize',16)
    text(-simSpan/2,0,0,...
        'XLEFT',...
        'FontSize',16)


function mclSpeedTextBox_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to mclSpeedTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

myData = guidata(hObject);
myData.MTBSpeed=str2double(get(handles.mclSpeedTextBox,'string'));
guidata(hObject,myData);
% --- Executes during object creation, after setting all properties.

function mclSpeedTextBox_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to mclSpeedTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),...
        get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end

function timeIncrementTextBox_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to timeIncrementTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

% Hints: get(hObject,'String') returns contents of timeIncrementTextBox as text
%        str2double(get(hObject,'String')) returns contents of timeIncrementTextBo
myData = guidata(hObject);
myData.timeIncrement=str2double(get(handles.timeIncrementTextBox,'string'));
guidata(hObject,myData);

% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function timeIncrementTextBox_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to timeIncrementTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),...
        get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end


function nbPointsTextBox_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to nbPointsTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)
```

```
myData = guidata(hObject);

myData.nbPoints = str2double(get(handles.nbPointsTextBox,'string'));

guidata(hObject, myData);

% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function nbPointsTextBox_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to nbPointsTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),...
        get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end

% --- Executes on button press in restrainOnOffRadioButton.
function restrainOnOffRadioButton_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to restrainOnOffRadioButton (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

set(handles.restrainCylinderRadioButton,'Value',0);
set(handles.restrainBoxedRadioButton,'Value',0);


function xFinalPosTextBox_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to xFinalPosTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)


% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function xFinalPosTextBox_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to xFinalPosTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),...
        get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end


function yFinalPosTextBox_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to yFinalPosTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)



% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function yFinalPosTextBox_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to yFinalPosTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),...
```

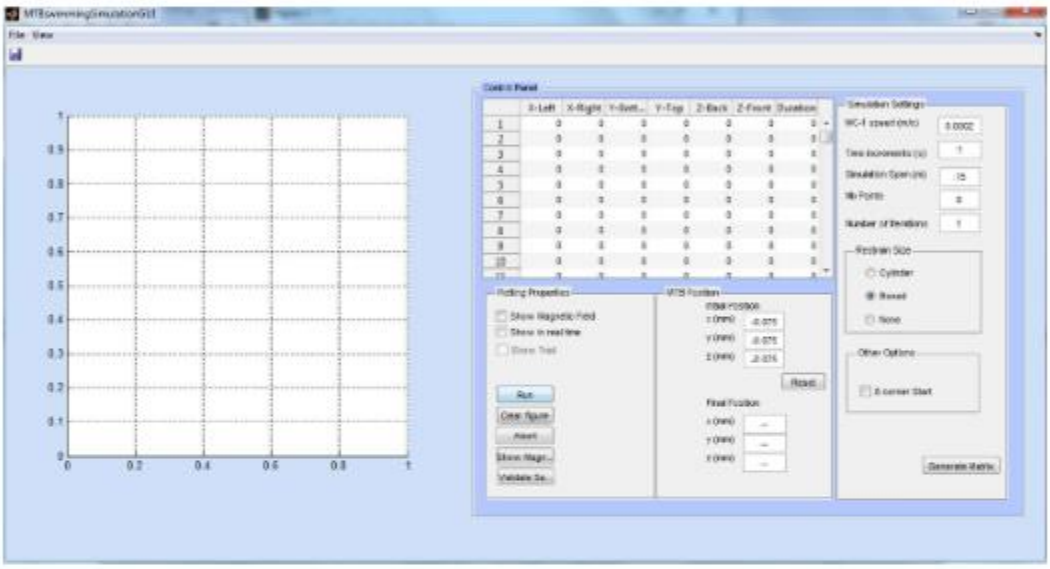
```
        get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end


function zFinalPosTextBox_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to zFinalPosTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)


% --- Executes during object creation, after setting all properties.
function zFinalPosTextBox_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to zFinalPosTextBox (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    empty - handles not created until after all CreateFcns called

% Hint: edit controls usually have a white background on Windows.
%       See ISPC and COMPUTER.
if ispc && isequal(get(hObject,'BackgroundColor'),...
        get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
    set(hObject,'BackgroundColor','white');
end



% --- Executes on button press in resetbutton.
function resetbutton_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to resetbutton (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

simSpanTextBox=str2double(get(handles.simSpanTextBox,'string'));
set(handles.xposish,'string',num2str(-simSpanTextBox/2));
set(handles.yposish,'string',num2str(-simSpanTextBox/2));
set(handles.zposish,'string',num2str(-simSpanTextBox/2));
set(handles.onoff,'string','a');
set(handles.xFinalPosTextBox,'string','--');
set(handles.yFinalPosTextBox,'string','--');
set(handles.zFinalPosTextBox,'string','--');


% --- Executes on button press in showMagneticFieldPushButton.
function showMagneticFieldPushButton_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to showMagneticFieldPushButton (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

myData = guidata(hObject);

myData.simSpan=str2double(get(handles.simSpanTextBox,'string'));
myData.timeIncrement=str2double(get(handles.timeIncrementTextBox,'string'))
myData.MTBSpeed=str2double(get(handles.mclSpeedTextBox,'string'));
myData.nbPoints = str2double(get(handles.nbPointsTextBox,'string'));

[x y z] = meshgrid(linspace(-myData.simSpan/2,myData.simSpan/2,...
    myData.nbPoints),linspace(-myData.simSpan/2,myData.simSpan/2,...
    myData.nbPoints),linspace(-myData.simSpan/2,myData.simSpan/2,...
    myData.nbPoints));

I=get(handles.data,'data');
I=ExtractSequenceFromDataGrid(I);

box on
```

```
xlabel('X (m)','FontSize',12);
ylabel('Y (m)','FontSize',12);
zlabel('Z (m)','FontSize',12);
rotate3d on;
xlim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
ylim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
zlim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);


for configNumber=1:size(I,1)

    [Bxt Byt Bzt Btotal] = ...
        ElectromagnetField(0,0,0,I(configNumber,1),...
        I(configNumber,2),I(configNumber,3),I(configNumber,4),...
        I(configNumber,5),I(configNumber,6),myData.nbPoints,...
        myData.simSpan,false);
%     axes(handles.axes2);
    quiver3(handles.axes2,x,y,z,Bxt,Byt,Bzt);
    xlabel('X(m)');
    ylabel('Y(m)');
    zlabel('Z(m)');
    pause(I(configNumber,7));
end

guidata(hObject,myData);


% --- Executes on button press in validateSequencePushButton.
function validateSequencePushButton_Callback(hObject, eventdata, handles)
% hObject    handle to validateSequencePushButton (see GCBO)
% eventdata  reserved - to be defined in a future version of MATLAB
% handles    structure with handles and user data (see GUIDATA)

myData = guidata(hObject);

myData.simSpan=str2double(get(handles.simSpanTextBox,'string'));
myData.timeIncrement=str2double(get(handles.timeIncrementTextBox,'string'));
myData.MTBSpeed=str2double(get(handles.mclSpeedTextBox,'string'));
myData.nbPoints = str2double(get(handles.nbPointsTextBox,'string'));

I=get(handles.data,'data');
I=ExtractSequenceFromDataGrid(I);

[x y z] = meshgrid(linspace(-myData.simSpan/2,myData.simSpan/2,...
    myData.nbPoints),linspace(-myData.simSpan/2,myData.simSpan/2,...
    myData.nbPoints),linspace(-myData.simSpan/2,myData.simSpan/2,...
    myData.nbPoints));

totalSequenceTime=0;
for configNumber=1:size(I,1)
    totalSequenceTime=totalSequenceTime+I(configNumber,7);
end
Bxtot = zeros(myData.nbPoints,myData.nbPoints,myData.nbPoints);
Bytot = zeros(myData.nbPoints,myData.nbPoints,myData.nbPoints);
Bztot = zeros(myData.nbPoints,myData.nbPoints,myData.nbPoints);
Btot = zeros(myData.nbPoints,myData.nbPoints,myData.nbPoints);
for configNumber=1:size(I,1)
    [Bx By Bz B] = ElectromagnetField(0,0,0,I(configNumber,1),...
        I(configNumber,2),I(configNumber,4),I(configNumber,3),...
        I(configNumber,5),I(configNumber,6),myData.nbPoints,...
        myData.simSpan,false);
%     A = divergence(x,y,z,Bx,By,Bz);
    BxNorm = Bx./B;
    ByNorm = By./B;
    BzNorm = Bz./B;
```

```
    Bxtot = (Bxtot + BxNorm.*(I(configNumber,7)/totalSequenceTime));
    Bytot = (Bytot + ByNorm.*(I(configNumber,7)/totalSequenceTime));
    Bztot = (Bztot + BzNorm.*(I(configNumber,7)/totalSequenceTime));

    if (myData.nbPoints<=12)
        figure;
        quiver3(x,y,z,Bx,By,Bz);
        colormap gray
        xlabel('X (m)');
        ylabel('Y (m)');
        zlabel('Z (m)');
        view(3);
%         colorbar('location','eastoutside');
        daspect([1 1 1]);
        set(gca,'XGrid','off')
        set(gca,'YGrid','off')
        set(gca,'ZGrid','off')
        xlim([-myData.simSpan/2*1.1 myData.simSpan/2*1.1]);
        ylim([-myData.simSpan/2*1.1 myData.simSpan/2*1.1]);
        zlim([-myData.simSpan/2*1.1 myData.simSpan/2*1.1]);
    end
end
Btot = sqrt(Bxtot.^2 + Bytot.^2 + Bztot.^2);
BxtotNorm = Bxtot;%./Btot;
BytotNorm = Bytot;%./Btot;
BztotNorm = Bztot;%./Btot;
div = divergence(x,y,z,BxtotNorm,BytotNorm,BztotNorm);
value = min(min(min(abs(div))));

if(myData.nbPoints<=12)
    figure;
    quiver3(x,y,z,BxtotNorm,BytotNorm,BztotNorm);
    colormap gray
    xlabel('X (m)');
    ylabel('Y (m)');
    zlabel('Z (m)');
    view(3);
    %         colorbar('location','eastoutside');
    daspect([1 1 1]);
    set(gca,'XGrid','off')
    set(gca,'YGrid','off')
    set(gca,'ZGrid','off')
    xlim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
    ylim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
    zlim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
end
figure;
contourslice(x,y,z,div,[0],[0],[0],[1 0 -1]);
colormap gray;
xlabel('X (m)');
ylabel('Y (m)');
zlabel('Z (m)');
xlim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
ylim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
zlim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);

figure;
contourslice(x,y,z,div,[0],[],[],[0 -1 -10 -100]);
% colormap gray;
xlabel('X (m)');
ylabel('Y (m)');
zlabel('Z (m)');
view(90,0);
xlim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
ylim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
```

```
zlim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);

figure;
contourslice(x,y,z,div,[],[0],[],[0 -1 -10 -100]);
colormap gray;
xlabel('X (m)');
ylabel('Y (m)');
zlabel('Z (m)');
view(0,0);
xlim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
ylim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
zlim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);

figure;
contourslice(x,y,z,div,[],[],[0],[ 0 -1 -10 -100]);
colormap gray;
xlabel('X (m)');
ylabel('Y (m)');
zlabel('Z (m)');
view(0,90);
xlim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
ylim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
zlim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);

figure;
% contourslice(x,y,z,div,linspace(-myData.simSpan/2,...
%   myData.simSpan/2,3),linspace(-myData.simSpan/2,myData.simSpan/2,3),...
%   linspace(-myData.simSpan/2,myData.simSpan/2,3),[0.007 0 -0.007]);
% contourslice(x,y,z,div,linspace(-myData.simSpan/2,myData.simSpan/2,5),...
%   [],[],[-20 -10 -5 -1 -.5 -.25 0]);
slice(x,y,z,div,[0],[0],[0]);
max(max(max(div)))
shading interp
colormap hsv
xlabel('X (m)');
ylabel('Y (m)');
zlabel('Z (m)');
view(3);
colorbar('location','eastoutside');
daspect([1 1 1]);
set(gca,'XGrid','off')
set(gca,'YGrid','off')
set(gca,'ZGrid','off')
xlim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
ylim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);
zlim([-myData.simSpan/2 myData.simSpan/2]);

% for i=1:size(div,1)
% for y=1:size(div,2)
% for z=1:size(div,3)
% if (div(i,y,z)==ans)
% i
% y
% z
% end
% end
% end
% end


% % Display
% box on
% hold on
% xlabel('X (m)','FontSize',12);
```

```
% ylabel('Y (m)','FontSize',12);
% zlabel('Z (m)','FontSize',12);
% rotate3d on;
% xlim([-simSpan/2 simSpan/2]);
% ylim([-simSpan/2 simSpan/2]);
% zlim([-simSpan/2 simSpan/2]);
% plot3(storex,storey,storez,'r');
%
% % Objectivex=-simSpan/2:0.001:0;
% % Objectivey=-simSpan/2:0.001:0;
% % Objectivez=-simSpan/2:0.001:0 ;
% % scatter3(Objectivex,Objectivey,Objectivez)
% scatter3(0,0,0);

guidata(hObject,myData);
```



Published with MATLAB® 7.9

Annexe 2 : Code informatique C# de la classe permettant d'établir une communication entre le logiciel de contrôle de la plateforme expérimentale et les sources de tension

```
/*************************************************************************\
 * File name:  PowerSupplyXG.cs
 * Summary:    Contains code for power supply initialization and communication
 * Author(s):  Dominic de Lanauze
 * Email:
 * Last Modified: March 23 2013
\*************************************************************************/

using System;
using System.Collections.Generic;
using System.IO.Ports;
using System.Linq;
using System.Text;
using System.Globalization;
using FTD2XX_NET;
using System.Windows;


namespace ElectroMagnetInterface.PowerSupply
{
    class PowerSupplyXG : PowerSupplyInterface
    {
        private SerialPort device;
        //private FTDI device;
        //private Device device;
        private int address;
        private float _maxCurrent;
        private float _maxVoltage;
        private string _portName;
        private int _sleepTime;

        public bool _powerSupplyAssociated;


        // Constructor
        public PowerSupplyXG(string portName, int address)
        {
            //try
            //{
            this._portName = portName;
            this.address = address;
            this._maxCurrent = 120.00f;
            this._maxVoltage = 10.00f;
            this._sleepTime = 75;

            device = new SerialPort(_portName, 9600, Parity.None, 8, StopBits.One);
            device.Handshake = Handshake.None;
            device.NewLine = "\r";
            device.ReadTimeout = 250;
            device.WriteTimeout = 250;

            this.InitializePowerSupply();
        }

        ~PowerSupplyXG()
        {
            if (device.IsOpen)
            {
                this.SetPowerOnOff(false);
                device.Close();
            }
        }

        private bool InitializePowerSupply()
        {
            if (device != null)
            {
                if (!device.IsOpen)
                    device.Open();
```

```
            device.WriteLine("*ADR " + address.ToString() +";*OPC?");
            //System.Threading.Thread.Sleep(_sleepTime);
            this.SetRemoteState(true);
            this.SetCurrent(0.00f);
            this.SetVoltage(_maxVoltage);

            return true;
        }
        else
            return false;
    }

    public void SetCurrent(float newCurrentValue)
    {
        if (newCurrentValue <= _maxCurrent)
        {
            device.WriteLine("SOUR" + address.ToString() + ":CURR " + newCurrentValue.ToString()+";*OPC?");
            //System.Threading.Thread.Sleep(_sleepTime);
        }
    }

    public float GetCurrent()
    {
        var response = new char[100];
        device.Write("MEAS" + address.ToString() + ":CURR?\r");
        System.Threading.Thread.Sleep(_sleepTime);
        device.Read(response, 0, device.BytesToRead);
        return float.Parse(response.ToString(), CultureInfo.InvariantCulture);
    }

    public void SetVoltage(float newVoltageValue)
    {
        if (newVoltageValue <= _maxVoltage)
        {
            //Writing data to the device
            device.WriteLine("SOUR" + address.ToString() + ":VOLT " + newVoltageValue.ToString() + ";*OPC?")
;
            //System.Threading.Thread.Sleep(_sleepTime);
        }
    }

    public float GetVoltage()
    {
        //var response = new char[100];
        string responseString;
        device.WriteLine("MEAS" + address.ToString() + ":VOLT?");
        System.Threading.Thread.Sleep(_sleepTime);
        responseString = device.ReadLine();
        //device.ReadLine(response, 0, device.BytesToRead);
        return float.Parse(responseString.ToString(), CultureInfo.InvariantCulture);
    }

    public void SetPowerOnOff(bool onOff)
    {
        //Writing data to the device
        //Console.WriteLine(GetIdentification());

        if (onOff)
        {
            device.WriteLine("OUTP" + address.ToString() + ":Power ON" + ";*OPC?");
        }
        else
        {
            device.WriteLine("OUTP" + address.ToString() + ":Power OFF" + ";*OPC?");
        }
        //System.Threading.Thread.Sleep(_sleepTime);
    }

    public void SetRemoteState(bool remotestate)
```

```
{
    //Writing data to the device
    if (remotestate)
    {
        device.WriteLine("SYST" + address.ToString() + ":REM:STAT REM" + ";*OPC?");
    }
    else
    {
        device.WriteLine("SYST" + address.ToString() + ":REM:STAT LOC" + ";*OPC?");
    }
    //System.Threading.Thread.Sleep(_sleepTime);
}

public bool IsPreviousOperationComplete()
{
    //var response = new char[100];
    string responseString;
    device.WriteLine("*OPC?");
    System.Threading.Thread.Sleep(_sleepTime);
    //device.Read(response, 0, device.BytesToRead);
    responseString = device.ReadLine();
    //return (int.Parse(response.ToString().Replace("\r", ""), CultureInfo.InvariantCulture) == 1);
    return (int.Parse(responseString, CultureInfo.InvariantCulture)) == 1;
}

public bool VerifyExistence()
{
    string responseString;

    //try
    //{
    //var response = new char[100];

    //int opcValue = 0;
    device.WriteLine("*IDN?");
    System.Threading.Thread.Sleep(_sleepTime);
    responseString = device.ReadLine();
    //device.Read(response, 0, device.BytesToRead);
    //opcValue = int.Parse(response.ToString().Replace("\r", ""),CultureInfo.InvariantCulture);
    Console.WriteLine(responseString);
    //}
    //catch (Exception e)
    //{
    //    Console.WriteLine("{0} Exception caught.", e);
    //    return false;
    //}
    return true;
}

public bool isOpen()
{
    return device.IsOpen;
}

public bool IsOperationComplete()
{
    string responseString = "";
    int parsedString;
    try
    {
        //var response = new char[100];

        //int opcValue = 0;
        device.WriteLine("*OPC?");
        System.Threading.Thread.Sleep(_sleepTime);
        responseString = device.ReadLine();
        //device.Read(response, 0, device.BytesToRead);
        //opcValue = int.Parse(response.ToString().Replace("\r", ""),CultureInfo.InvariantCulture);
    }
```

```
            catch (Exception e)
            {
                Console.WriteLine("{0} Exception caught.", e);
            }
            if (int.TryParse(responseString, out parsedString))
            {
                return (int.Parse(responseString, CultureInfo.InvariantCulture)) == 1;
            }
            else
                return false;

        }

        public string IsSESEREnabled()
        {
            //string response;
            //device.Write(InsertCommonEscapeSequences("STAT" + address.ToString() + ":STAN:ENAB?\r"));
            //System.Threading.Thread.Sleep(2);
            //response = device.ReadString();
            ////response = response.Replace("\r", "");
            // return response;
            // //return int.Parse(response, CultureInfo.InvariantCulture);
            return "1";
        }

        public void SetSESERToOPC()
        {
            //device.Write(InsertCommonEscapeSequences("STAT" + address.ToString() + ":STAN:ENAB 1\r"));
            //System.Threading.Thread.Sleep(2);

        }

        public int ReadSESR()
        {
            //string response;
            //device.Write("STAT" + address.ToString() + ":STAN?\r");
            //System.Threading.Thread.Sleep(2);
            //response = device.ReadString(2);
            //response = response.Replace("\r", "");
            //return int.Parse(response, CultureInfo.InvariantCulture);
            return 1;
        }

        public string GetIdentification()
        {
            string responseString;
            try
            {
                responseString = device.ReadLine();
                responseString = device.ReadLine();
                responseString = device.ReadLine();

            }
            catch { }
            device.WriteLine("*IDN?");
            System.Threading.Thread.Sleep(_sleepTime);
            responseString = device.ReadLine();
            return responseString;
        }

        public void Close()
        {
            device.Close();
        }


    }
}
```

Annexe 3 : Rapport de développement d'un prototype d'instrument médical pour le traitement du cancer colorectal chez un humain

Scientific Report

Progressive 6 month update

September 1st 2011 to February 29th 2012

Title of the Project: Magnetically guided drug delivery platform based on bio-carriers for the treatment of colorectal cancer
Name of the Principal Investigator: Sylvain Martel
Title of the Milestone: Human scale magnetic tool prototype for MC-1 diffusion and its control software
Work performed by: Dominic de Lanauze, Jr. Eng.

Introduction

This report briefly summarizes the development progress of a "magnetic instrument" created to guide magnetotactic bacteria (MTB) towards a colorectal tumor inside the human body. The report covers instrument design, simulations, main results, and budget, but excludes the software interface which can be found in the September 1st 2011 to February 29th 2012 6 month milestone progress report dealing with the *Mouse magnetic system for MC-1 diffusion and its software control system*.

Instrument Design

The instrument's design is depicted in figure 1.

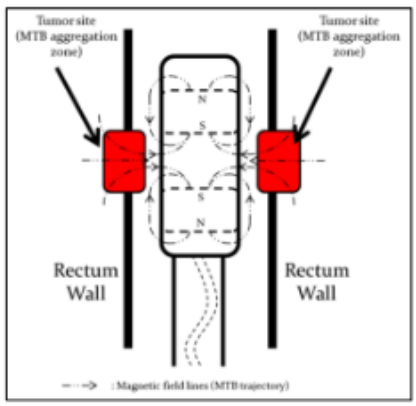
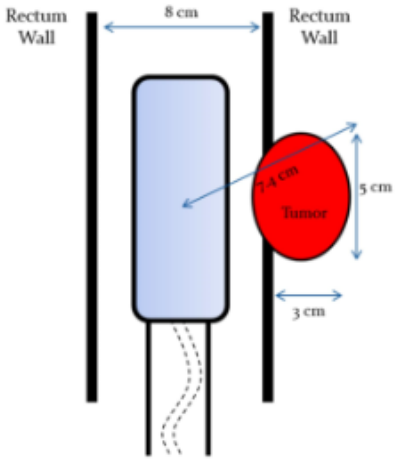


Figure 1: Instrument Design

The idea supporting this design is based on the principle that by placing two magnets facing one another, we are able to produce a magnetic gradient along an imaginary plane located in the middle of the instrument. The following table presents the main constraints that had to be respected in order to achieve a functional instrument based on discussions with Dr. Vuong at the Jewish General Hospital.

Table 1: Instrument Design Constraints

Constraints	Reference values
Length	10 cm (minimum)
Diameter	2-3 cm (maximum)
Magnetic field	0.5 gauss at 8 cm from the center of the instrument
Temperature	43 °C
Flexibility	Must have a minimum of flexibility
Imaging	Must be visible under X-ray
Other	End of the instrument must be round



MATLAB SIMULATIONS

Simulations were performed using *Matlab* software to allow the user to calculate the magnetic field generated by a pair of coils of wire at any point in space. By performing these simulations, the user can vary the coil parameters, such as each coil's current, the distance separating the coils, the number of turns and layers of wire, etc.

Instrument Conception

These *Matlab* simulations enabled us to modify coil parameters and obtain optimal instrument design. The first prototype built appears in figure 2. This first prototype was designed to produce the required field at 8 cm from the center of the instrument, which it did. It also met every constraint outlined in table 1. However its design was flawed because of its very rigid 3 cm diameter body. Nevertheless, we enhanced the design by reducing the instrument's body size and improving its flexibility. These objectives were achieved in the second prototype design presented as the middle instrument in figure 2. Prototype #2 has a smaller 2.5 cm body diameter and improved flexibility as a result of the hollow center spanning its entire body length. This new design was built using smaller electromagnets, which therefore decrease the instrument's outside field strength. To compensate this effect removable small iron based ferromagnetic cores were placed in the center of the coils thus improving magnetic field strength. This technique allowed us to reestablish required field strength while respecting all of the constraints.

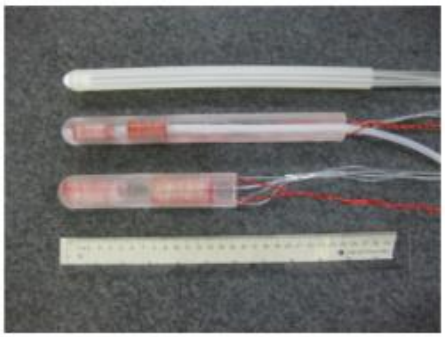


FIGURE 2: PICTURE OF MAGNETIC INSTRUMENT PROTOTYPES. BOTTOM INSTRUMENT – PROTOTYPE #1. MIDDLE INSTRUMENT – PROTOTYPE #2. UPPER INSTRUMENT – NUCLETRON BRACHYTHERAPY ENDORECTAL APPLICATOR[1] (REFERENCE INSTRUMENT)

[1] http://www.nucletron.com/en/ProductsAndSolutions/Pages/IntracavitaryMouldApplicatorSet.aspx

Main Results

This section outlines the development results surrounding the magnetic instrument prototypes, more specifically magnetic field strengths, temperature and MTB aggregation related to the instrument.

Magnetic Field

The magnetic field measurements were performed using a 450 Lakeshore gaussmeter. The axial field probe was positioned perpendicularly to the long axis of the instrument and measurements were taken at different distances from the center of the instrument. These results are graphically presented in figure 3.

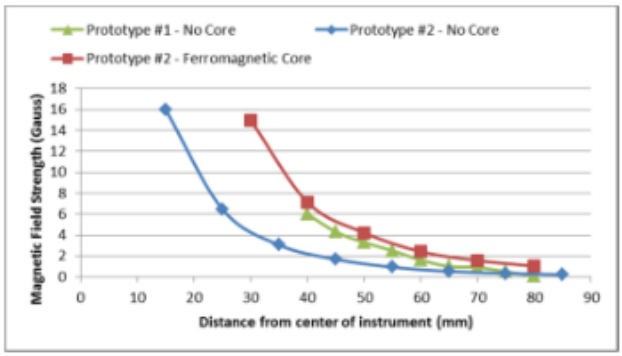


Figure 3: Transverse Magnetic Field Measurements Along The Center Converging Plane of Each Prototype

MRI images were acquired to map the magnetic field gradient of the instrument. Simulation results were then placed over these MRI images to assess the validity of our simulation results and visualize the magnetic field produced by the instrument. As can be noticed in figure 4, the simulation and experimental results are quite similar, allowing us to affirm that the simulations give us a very good approximation of the instrument's magnetic field. This hugely simplifies the instrument design process since its physical construction is simplified while achieving optimal design characteristics.

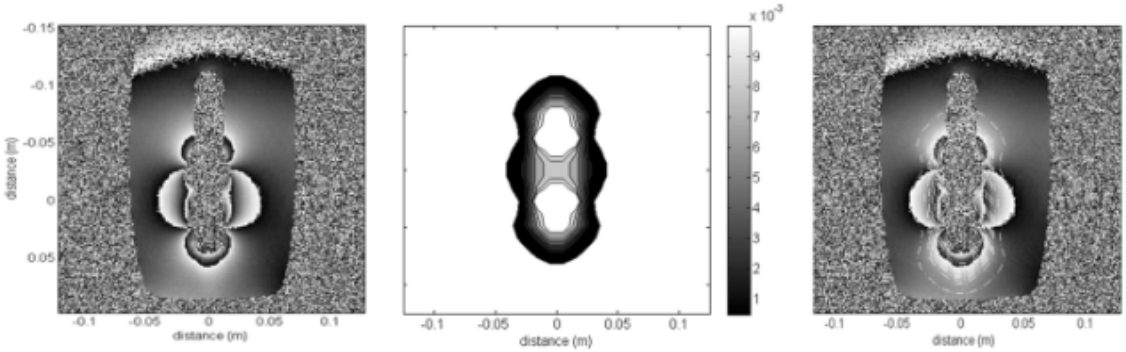


Figure 4: MRI Assessment of the Magnetic Field Propagation of Prototype #1. Left Image – MRI image of the magnetic field gradient of prototype #1. Middle Image – Simulation of the magnetic field gradient generated by prototype #1. Right Image – MRI and simulation images superimposed to assess the validity of our magnetic field simulations.

MTB Aggregation

The following image presents the MTB aggregation that results from the instrument use. The aggregation zone can be altered by changing the ratio of currents applied in the coils as well as the spacing between the coils. It is also possible to use a software interface to apply different sequences of currents to modify the magnetic field over time, allowing us therefore to change the aggregation target without moving the device.

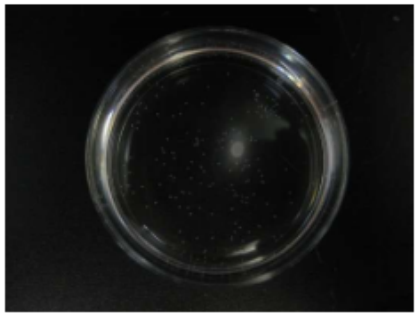


FIGURE 5: MTB AGGREGATION GENERATED WITH THE USE OF PROTOTYPE #2 WITH FERROMAGNETIC CORES PLACED INSIDE THE COILS

Temperature

The following images represent different temperature measurements conducted to insure that the temperature constraint is respected. These graphics clearly demonstrate that the incorporated cooling system is able to maintain the instrument's temperature below the 43°C limit.

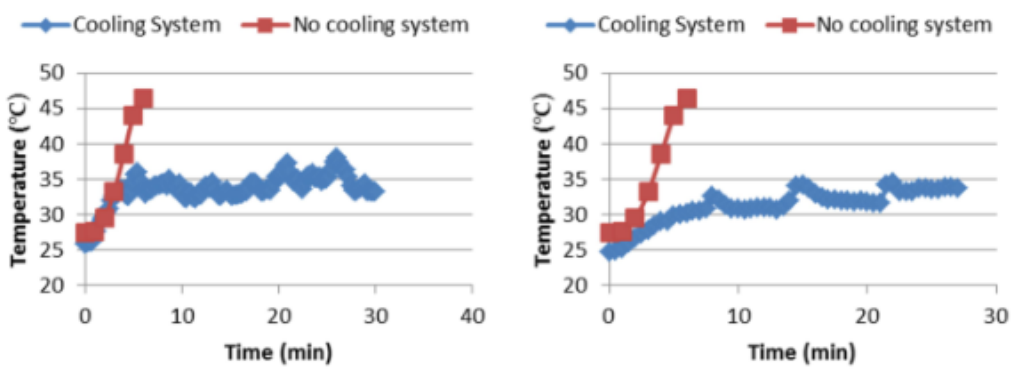


FIGURE 6: TEMPERATURE MEASUREMENTS. LEFT GRAPH - SURFACE TEMPERATURE OF PROTOTYPE #1. RIGHT GRAPH - SURFACE TEMPERATURE OF PROTOTYPE #2.

Budget

This section gives a glimpse of the total development costs of the two prototypes. Of course, since only two devices were constructed, the unit cost of $862.28 ($1,724.55/3) is quite important. However we estimate that the unit cost for materials only could be reduced to well under $100/unit.

Purchases		
	Poly-dimethyl siloxane (PDMS) Encapsulant	$ 446.80
	Magnet wire	$ 276.98
	Electrical components (connectors, ...)	$ 6.82
	Hardware (glue, metal rods, tape,...)	$ 112.77
	Poly(methyl methacrylate)PMMA (plexiGlass)	$ -
	Tubing	$ 617.83
	Tubing fittings and connectors	$ 263.35
		$ 1,724.55

Conclusion

The development of a magnetic human scale prototype instrument for MC-1 diffusion accompanied by a software control system was successfully achieved permitting us to reach our objective. Improvements, such as the optimal ratio of ferromagnetic material and magnetizing field could of course be pursued to continue the size reduction of the instrument. The software control system details are covered in the report for the mouse magnetic system for MC-1 diffusion and its software control system since the interface is the same for both systems.