

Avis de Soutenance

Monsieur Raphaël JORGE

Physiologie et Biologie des organismes - populations - interaction

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés
*Caractérisation du symbiote *Symbiopectobacterium lectularius* et de son implication dans les échanges métaboliques de la punaise de lit *Cimex lectularius**

Travaux dirigés par Madame Natacha KREMER, Madame Anna ZAIDMAN-REMY et Monsieur Fabrice VAVRE

Soutenance prévue le **lundi 30 mars 2026** à 14h00

Lieu : Université Lyon 1 - Amphithéâtre Depéret, bâtiment Darwin - 69100 Villeurbanne

Composition du jury proposé

Mme Natacha KREMER	Chargée de recherche	CNRS Lyon	Directrice de thèse
M. Thierry HANCE	Professeur émérite	Université Catholique de Louvain Belgique	Rapporteur
M. Olivier DURON	Directeur de recherche	CNRS Montpellier	Examineur
Mme Emmanuelle JOUSSELIN	Directrice de recherche	INRAE Montgerrier-sur-Lez	Rapporteuse
M. Jonathan FILEE	Chargé de recherche	CNRS Gif-sur-Yvette	Rapporteur
Mme Claire VALIENTE MORO	Professeure des universités	Université Lyon 1	Examinatrice
Mme Anna ZAIDMAN-REMY	Professeure des universités	INSA Lyon	Co-directrice de thèse
M. Fabrice VAVRE	Directeur de recherche	CNRS Lyon	Co-directeur de thèse

Mots-clés : Punaise de lit, Hématophage strict, Symbiose nutritionnelle, Wolbachia, *Symbiopectobacterium*

Résumé :

Les punaises de lits sont des insectes hématophages stricts qui posent un problème de santé publique mondial, étant souvent associées à des problèmes de stress et d'anxiété. Elles constituent également un fardeau économique, notamment pour l'industrie du tourisme. Historiquement, un traitement aux insecticides permettait de maîtriser ces infestations, mais la sélection de mécanismes de résistance chez ces insectes met en évidence un besoin de solutions alternatives de lutte. Etant donné que l'alimentation des punaises de lit est composée uniquement de sang, un milieu déséquilibré en vitamines B (notamment riboflavine, biotine et folate) pourtant nécessaires à leur développement et leur reproduction, elles pallient ce déséquilibre par l'association avec un symbiote nutritionnel, *Wolbachia pipientis* (souche wCle). Ce symbiote nutritionnel complète en

riboflavine et biotine leur repas sanguin et pourrait être la cible d'une méthode de lutte spécifique. Mais un second symbiote, initialement nommé « bactérie d'*Euscelidius variegatus*-like » (BEV-like), a été décrit au sein des punaises de lit. Les données bibliographiques disponibles sur cet organisme restent cependant peu nombreuses, et son rôle (symbiote nutritionnel ou pathogène) au sein de cet organisme, tout comme son niveau d'intégration (symbiote ancien ou récemment acquis), ne sont pas connus. Dans le cadre de ce projet de thèse, nous avons donc tout d'abord cherché à décrire les caractéristiques de BEV-like, reconstruisant et annotant son génome. L'analyse d'indicateurs tels que la taille du génome, son contenu en pseudogènes et en éléments transposables, la présence de facteurs de virulence, ainsi que la présence de voies métaboliques potentiellement nécessaires pour l'hôte (ex : voies de biosynthèse des vitamines B) suggère que BEV-like peut fournir des nutriments essentiels à son hôte, et est en cours de transition vers un mode de vie endosymbiotique. Dans le même temps, une analyse phylogénique -basée sur l'étude du gène 16S- nous a permis de confirmer l'appartenance de ce microorganisme au genre des *Symbiopectobacterium*, justifiant ainsi notre décision de renommer ce microorganisme *Symbiopectobacterium lectularius*. De plus, afin de comprendre l'association entre la punaise de lit et ce symbiote, une étude de la dynamique symbiotique au cours du développement de la punaise a été réalisée ainsi que des essais de culture ex-vivo du symbiote. Dans un second temps, nous avons cherché à mieux comprendre les échanges métaboliques entre l'hôte et ses symbiotes via la reconstruction des voies métaboliques des trois partenaires, avec l'objectif d'identifier de potentiels mécanismes clés qui pourront, par la suite, être ciblés pour développer des moyens innovants de lutte. L'analyse de ces reconstructions métaboliques nous a ainsi permis d'identifier la présence d'auxotrophies chez les trois partenaires, nécessitant des échanges métaboliques afin de maintenir le métabolisme central de l'ensemble des organismes étudiés. Les deux symbiotes présentent des voies de biosynthèse de vitamines B identifiées comme essentielles, soutenant la possible participation des deux symbiotes aux échanges métaboliques essentiels de la punaise de lit. En effet, le symbiote *Wolbachia wCle* dispose des voies de biosynthèse de la riboflavine et de la biotine, alors que le symbiote *S. lectularius* de celles de la riboflavine, du folate, de la thiamine et de la pyridoxine. L'ensemble des résultats décrits dans ce manuscrit nous ont donc permis d'émettre l'hypothèse que le symbiote *S. lectularius* pourrait avoir été récemment acquis par la punaise de lit et avoir initié son processus de transition vers une association durable avec l'hôte. Il pourrait également agir au sein de l'hôte comme un co-symbiote nutritionnel associé à *Wolbachia*. La prise en compte de ces deux microorganismes semble donc nécessaire dans le cadre des futures recherches de contrôle symbiotique, dans la lutte contre les punaises de lit.

Summary:

Bed bugs are strict blood-feeding insects that pose a global public health problem. Their presence notably causes stress and anxiety among residents. Bed bugs also represent an economic burden, particularly for the tourism industry. Historically, insecticide treatment has been used to control these infestations, but the selection of resistance mechanisms in these insects highlights the need for alternative control solutions. Since bed bugs feed exclusively on blood, an environment lacking in B vitamins (particularly riboflavin, biotin, and folate), which are necessary for their development and reproduction, they compensate for this imbalance by associating with a nutritional symbiont. This nutritional symbiont, *Wolbachia pipientis* (wCle strain), supplements their blood meal with riboflavin and biotin and could be the target of a specific control method. But a second symbiont, initially named "Euscelidius variegatus-like bacterium" (BEV-like), has been described in bed bugs. However, there is little bibliographic data available on this organism, and its role (nutritional symbiont or pathogen) within the organism, as well as its level of integration (ancient symbiont or recently acquired), are unknown. As part of this thesis project, we therefore first sought to describe the characteristics of BEV-like, by reconstructing and annotating its genome. Analysis of indicators such as genome size, pseudogene and transposable element content, the presence of virulence factors,

and the presence of metabolic pathways potentially necessary for the host (e.g., vitamin B biosynthesis pathways) suggests that BEV-like may provide essential nutrients to its host and is transitioning to an endosymbiotic lifestyle. At the same time, a phylogenetic analysis based on the study of the 16S gene allowed us to confirm that this microorganism belongs to the *Symbiopectobacterium* genus, thus justifying our decision to rename this microorganism *Symbiopectobacterium lectularius*. In addition, in order to understand the association between the bed bug and this symbiont, a study of the symbiotic dynamics during the development of the bug was carried out, as well as ex-vivo culture tests of the symbiont. In a second step, we sought to better understand the metabolic exchanges between the host and its symbionts by reconstructing the metabolic pathways of the three partners, with the aim of identifying potential key mechanisms that could subsequently be targeted to develop innovative control methods. Analysis of these metabolic reconstructions enabled us to identify the presence of auxotrophies in the three partners, requiring metabolic exchanges in order to maintain the central metabolism of all the organisms studied. Both symbionts have vitamin B biosynthesis pathways, identified as essential in the literature, supporting the possible participation of both symbionts in the essential metabolic exchanges of the bed bug. Indeed, the *Wolbachia* wCle symbiont has riboflavin and biotin biosynthesis pathways, while the *S. lectularius* symbiont has riboflavin, folate, thiamine, and pyridoxine biosynthesis pathways. The results described in this manuscript have therefore led us to hypothesize that the *S. lectularius* symbiont may have been recently acquired by the bed bug and has begun its transition to a long-term association with the host. It may also act within the host as a nutritional co-symbiont associated with *Wolbachia*. It therefore seems necessary to take these two microorganisms into account in future research into symbiotic control in the fight against bed bugs.