





Metformin im Abwasser beeinflusst die Vitalität von Bachforellen über Veränderungen im Fisch-Mikrobiom

Eike Rogall^{1*}, Stefanie Jacob², Rita Triebskorn², Thomas Schwartz¹

¹Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für Funktionelle Grenzflächen (IFG), Abteilung Bioprozesstechnik und Biosysteme ²Eberhard Karls Universität Tübingen, Institut für Evolution und Ökologie, Physiologische Ökologie der Tiere

Motivation

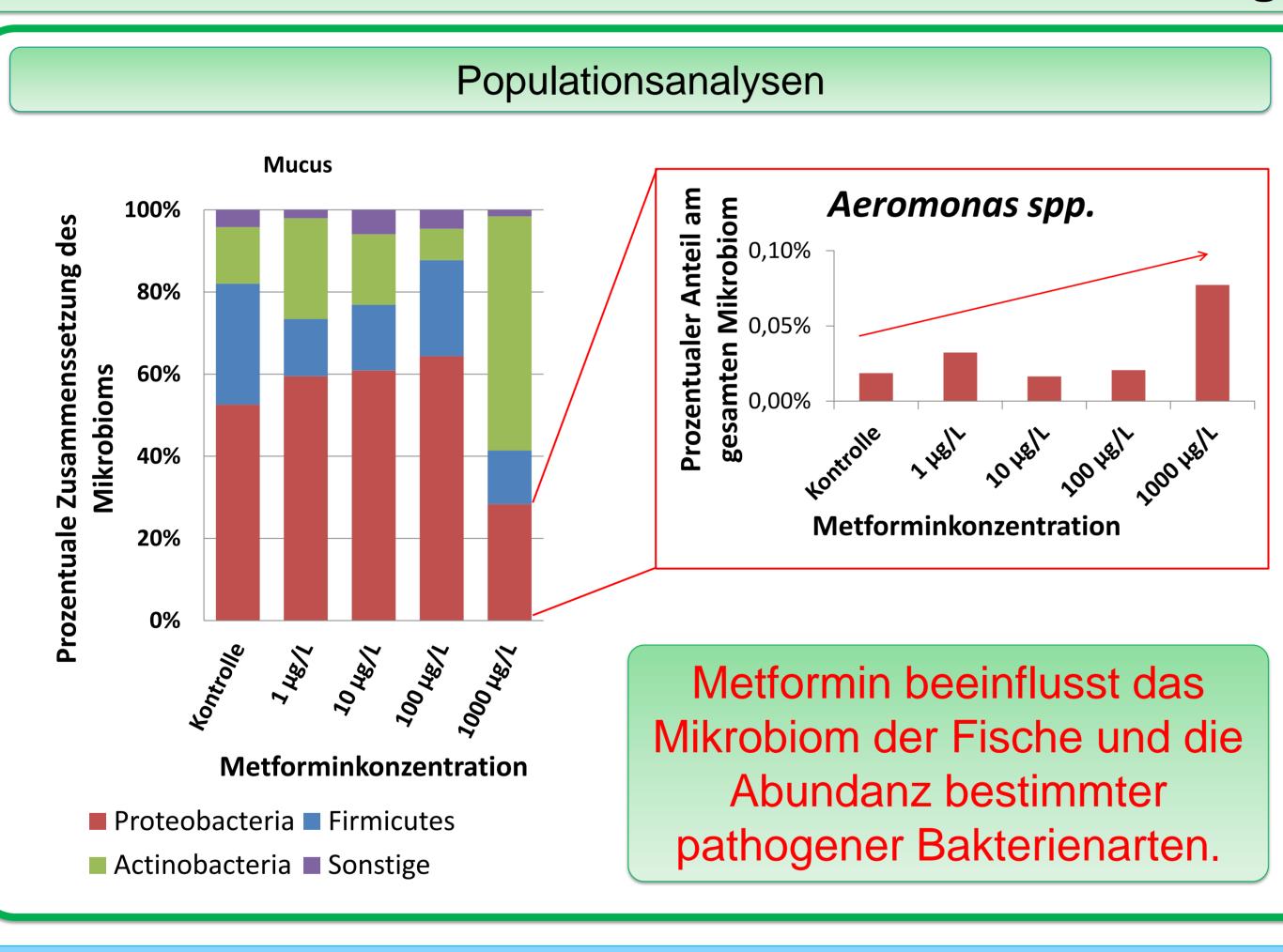
Wohlstandschemikalien (Metformin) Einfluss auf aquatischen Lebensraum Typ-2 Diabetes Fettleibigkeit

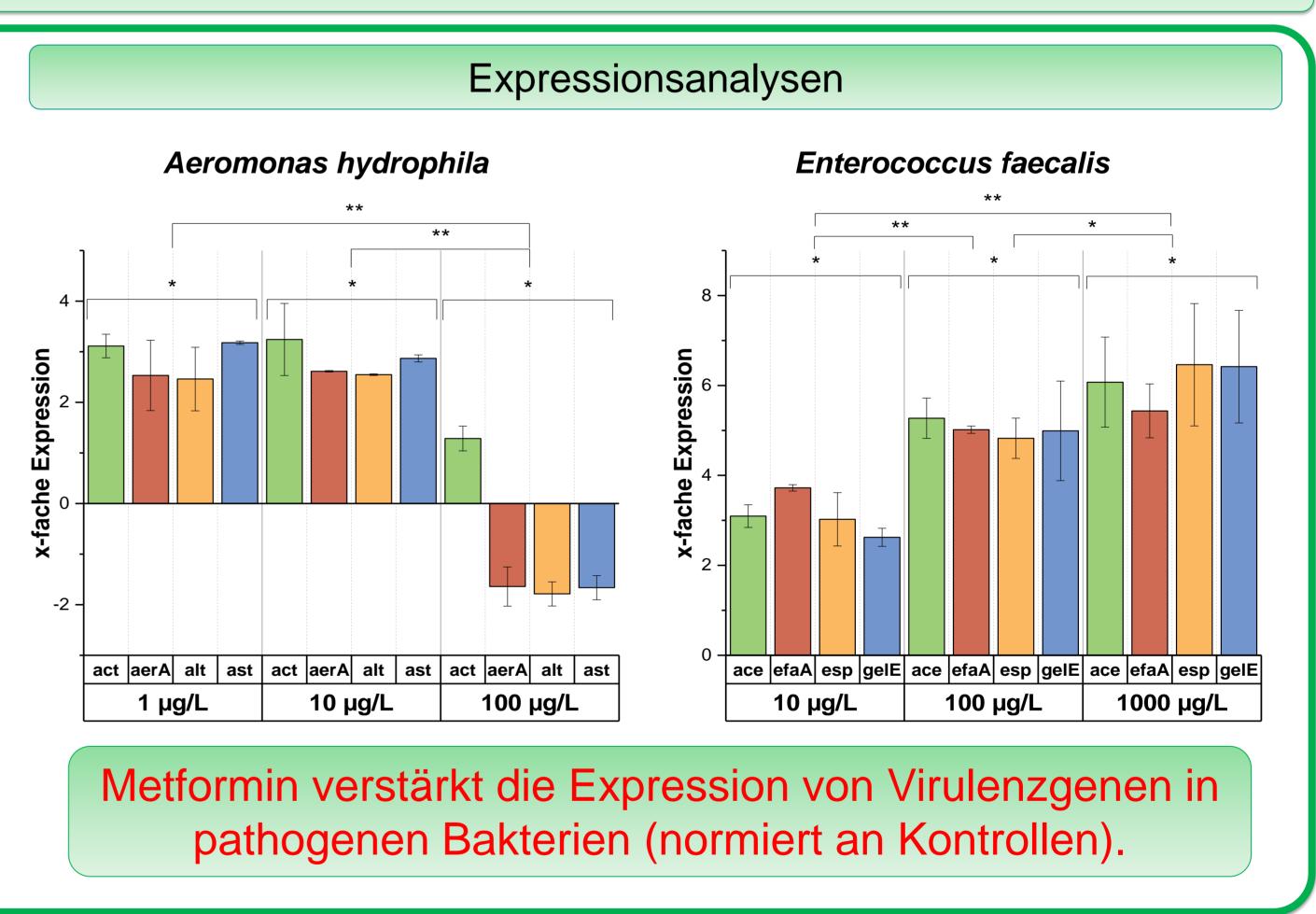
Das Mikrobiom hat einen großen Einfluss auf die Vitalität des Wirtsorganismus. Bei Mensch, Maus und Ratte wurde bereits gezeigt, dass die Darmflora die Gesundheit beeinflusst. Für aquatische Organismen, wie z.B. Fische, ist der Einfluss jedoch noch unbekannt. Deshalb werden gezielt "Wohlstandschemikalien" (hier Metformin, ein Antidiabetikum), die in großen Mengen verbraucht werden, in ihrer Auswirkung auf die Zusammensetzung des Mikrobioms und die Expression von Virulenzgenen intestinaler pathogener Bakteriengruppen (Aeromonas spp. und Enterococcus spp.) untersucht.

Zusammenfassung und Ausblick

- ➤ Metformin verursacht signifikante Veränderungen im Darmmikrobiom von Bachforellen.
- ➤ Die größten Veränderung im Darmmikrobiom sind in den Phyla *Proteobacteria* und *Actinobacteria* zu sehen, wobei das Phylum der *Firmicutes* unverändert bleibt.
- Mit steigender Metforminkonzentration nimmt der Anteil der pathogene Bakterienarten zu.
- ➤ Auch bei geringen Konzentrationen von Metformin verstärkt sich die Expression von Virulenzfaktoren bei pathogenen Bakterien und damit ihr pathogenes Potential.
- ➤ Eine Korrelation zwischen der verstärkten Expression mit der Vitalität der Fische wird gerade untersucht:
 - Dafür werden in situ-Versuche durchgeführt, die den Immunstatus der Fische näher charakterisieren sollen.

Ergebnisse





Methoden Hälterung der Fische Versuche zur Populationsanalyse mit Metforminkonzentrationen von 0 μg/L – 1000 μg/L Versuche zur Expression von Virulenzfaktoren Lumen (Faeces) Bakterienreinkulturen Mucus DGGE + Sequenzierung mit Metformin Bedingungen, bei denen die Bachforellen gehalten wurden: Trennen von Metformin-Konzentrationen: **DNA-Extraktion** Mucus und Faeces 0 μg/L, 1 μg/L, 10 μg/L, 100 μg/L, 1000 μg/L RNA-▶ bei 7 °C und 11°C Amplicon-Sequenzierung Extraktion ➤ 10 Fische pro Metforminkonzentration Charakterisierung des Darmmikrobioms bei Fischen biologische Triplikate Molekularbiologische Populationsanalysen: **Reverse Transkription** von mRNA zu cDNA PCR-DGGE mit Sequenzierung: Ähnlichkeit-Indices • qPCR: Quantifizierung identifizierter Genera und Pathogene • Amplicon-Sequenzierung: Gesamtpopulation der Eubacteria ➤ Vorteile der Methoden: "Mikrobiom-Abdruck" der Darmflora ohne Expressionsanalyse durch qPCR Verfälschung durch Kultivierung **Ackknowledgement:** Dieses Projekt ist Teil des Wassernetzwerks Baden-Württemberg und des Effect Network in Water Research (Effect-net).

*Kontakt: eike.rogall@kit.edu