

KONZEPTENTWICKLUNG FÜR DIE WEITERFÜHRENDE PFLANZENTESTUNG VON TIERARZNEIMITTELN

CONCEPT DEVELOPMENT FOR EXTENDED PLANT TESTING OF VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS

Hintergrund und Ziele

In Phase II der Umweltrisikobewertung von Tierarzneimitteln (VMP) werden Effekte auf terrestrische Pflanzen ermittelt, da Rückstände von Wirkstoffen über Düngung mit Gülle von behandelten Tieren auf Agrarflächen gelangen können. Die Studien werden nach der Richtlinie OECD 208 „Seedling Emergence and Seedling Growth Test“ durchgeführt. Dabei wird das Tierarzneimittel in Boden eingearbeitet und der Pflanzentest mit dem Einsetzen der Samen sofort gestartet. Dieser Ansatz führt oft zu starken Effekten und somit einem inakzeptablen Risiko für terrestrische Pflanzen. Eine Möglichkeit, die Risikobewertung zu verbessern, ist die Anwendung eines modifizierten Ansatzes, der eine realistischere Applikationsform (mit Gülle angereicherter Boden) berücksichtigt. Bisher existiert kein einheitliches Konzept zur Durchführung und Bewertung eines solch modifizierten Testdesigns. Auch wiesen vorgelegte Studien Wachstumshemmungen und große Varianzen bei Güllezugabe auf. Im Rahmen dieses Projektes wurde ein robuster weiterführender Pflanzentest für Tierarzneimittel – besonders für Antibiotika – mit einem Expositionsszenario über Gülleapplikation entwickelt.

Projektbeschreibung

Das Forschungsvorhaben beinhaltet: i) Die Entwicklung von Methoden zur Aufarbeitung, Akklimatisierung, Inkubation und Applikation von Gülle (Figure 1) in einem Pflanzentest; ii) Tests zur Klärung notwendiger technischer Hintergründe (z. B. geeignete Pflanzenarten, geeignete Güllemenge); iii) Tests nach OECD 208 Standardtestdesign und nach modifizierten Designs, die eine Testsubstanzapplikation über Gülle – mit oder ohne Inkubation – berücksichtigen. Die Tests (Figure 2) wurden mit sechs Pflanzenarten, Schweine- und Rindergülle und zwei repräsentativen Veterinärantibiotika (Florfenicol und Tylosintartrat) durchgeführt. Das Testdesign berücksichtigte Effekte wie Adsorption, Transformation bzw. Metabolisierung der Testsubstanz in der Gülle bei aerober bzw. anaerober Inkubation von unterschiedlicher Dauer vor Applikation im Pflanzentest.

Ergebnisse

Es wurde gezeigt, dass Gülle Auflauf und Überlebensrate von Sämlingen reduzieren kann. Eine Güllekonzentration, die 85 kg N/ha entspricht (halbmaximal erlaubte Menge pro Jahr in Europa), sollte nicht überschritten werden. Gleichzeitig wurde gezeigt, dass Gülleapplikation bei Anwendung der entwickelten Methoden nicht zu steigenden Varianzen führt. Anaerobe Inkubation gespikter Gülle vor Applikation im Pflanzentest führte im Vergleich zum Standardtestdesign zu signifikant reduzierten Effekten bei beiden Wirkstoffen. Nach halb-maximaler Lagerungsdauer (26,5 d bzw. 45 d für Schweine- und Rindergülle) war das Maximum der Effektabschwächung nahezu erreicht. Die Ergebnisse des Projekts wurden in einem internationalen Workshop mit Vertretern von Behörden und Vertragslaboren diskutiert, und es wurde ein Design für einen weiterführenden Test erarbeitet.

Fazit

Die angewandten Methoden zur Lagerung, Aufarbeitung, Akklimation, Inkubation und Applikation von Gülle wurden erfolgreich etabliert. Keim- und Wachstumsraten der Pflanzen waren im modifizierten Test und im Standardtestdesign nach OECD 208 vergleichbar. Dies galt auch für die Schärfe der berechneten Effektkonzentrationen. Somit gewährleistet das modifizierte Design robuste biologische Endpunkte. An der Erstellung einer Handlungsanweisung für einen weiterführenden terrestrischen Pflanzentest für Veterinärmedizinische Produkte wird derzeit gearbeitet.

Auftraggeber / Sponsor

Umweltbundesamt

Kooperationspartner / Cooperation partner

ECT Oekotoxikologie GmbH



Background and aims

In Phase II of the environmental risk assessment for veterinary medicinal products (VMP), the effects are tested on terrestrial plants because residues of active substances can reach agricultural areas via manure-based fertilizer from treated animals. This requires studies carried out according to OECD guideline 208 (Seedling Emergence and Seedling Growth Test). This test commences by sowing seeds immediately after mixing the VMP into the soil. However, this approach often results in strong effects and an unacceptable risk to terrestrial plants. One way to refine the risk assessment is to modify the approach and develop a more realistic form of application (manure-enriched soil) but no equivalent concept exists for risk assessments based on such a modified test design. Furthermore, previous studies have shown that plant growth can be inhibited and variance in growth increases when manure is applied. In this research project, we therefore developed a robust extended terrestrial plant test for veterinary medicinal products – especially antibiotics – based on an exposure scenario involving the application of manure.

Approach

During the project, we sought to: (i) develop methods for the preparation, acclimation, incubation and application of manure in a plant test; (ii) determine the necessary technical background for tests (e.g. suitable plant species, suitable manure concentration); and (iii) carry out tests according to the OECD 208 standard test design and modified test designs, by applying the test substance via manure with and without incubation. The principal tests involved six plant species, pig and cattle manure, and two representative veterinary antibiotics (florfenicol and tylosintartrate). The test design also considered the effects of adsorption and the transformation/metabolization of the test substance during aerobic or anaerobic incubation of the manure for different times prior to application in the plant test.

Results

We found that manure could inhibit the emergence and post-emergence survival of seedlings. Therefore, a concentration representing 85 kg N/ha (half-maximum amount allowed per year in Europe) should not be exceeded. However, we also found that the application of manure using our new methods did not increase the experimental variation. The anaerobic incubation of spiked manure before application in the plant test significantly reduced the effects of both antibiotics compared with a standard test design. The maximum reduction in effects was nearly reached after the half-maximum storage duration, which is 26.5 d and 45 d for pig and cattle manure, respectively. The project results were discussed with representatives from the regulatory authorities and contract laboratories in an international workshop. The outcome was the design for an extended test.

Conclusion

Methods were established successfully for the storage, processing, acclimation, incubation and application of manure. Seedling emergence and growth rates were comparable in the modified test and the standard OECD test design. This was also true for the strictness of calculated effect values. The modified design therefore ensures robust biological endpoints. The preparation of a guidance manual for an extended terrestrial plant test for veterinary medicinal products is in progress.

Contact / Ansprechpartner

Dr. Markus Simon

Tel: +49 2972 302-213

markus.simon@ime.fraunhofer.de

Figure 1: Spiking of manure subsamples with antibiotics.

Figure 2: Extended plant test involving the application of spiked manure.