

32004L0073

30.4.2004

ÚŘEDNÍ VĚSTNÍK EVROPSKÉ UNIE

L 152/1

**SMĚRNICE KOMISE 2004/73/ES
ze dne 29. dubna 2004,**

kteřou se po dvacáté deváté přizpůsobuje technickému pokroku směrnice Rady 67/548/EHS o sblížení právních a správních předpisů týkajících se klasifikace, balení a označování nebezpečných látek

(Text s významem pro EHP)

KOMISE EVROPSKÝCH SPOLEČENSTVÍ,

s ohledem na Smlouvu o založení Evropského společenství,

s ohledem na směrnici Rady 67/548/EHS ze dne 27. června 1967 o sblížení právních a správních předpisů týkajících se klasifikace, balení a označování nebezpečných látek ⁽¹⁾, a zejména na článek 28 uvedené směrnice,

vzhledem k těmto důvodům:

- (1) Příloha I směrnice 67/548/EHS obsahuje seznam nebezpečných látek společně s podrobnými údaji o zařazení a označení každé látky. Tento seznam je třeba aktualizovat za účelem zahrnutí dalších oznámených nových látek i dalších existujících látek; současně je třeba přizpůsobit stávající položky technickému pokroku, například uvedením koncentračních limitů u určitých látek z hlediska životního prostředí. Dále je rovněž nezbytné zrušit položky obsahující některé látky a některé položky rozdělit, neboť zařazení se již nepoužije pro všechny látky v těchto položkách. Označování látek obsahujících 1,3 butadien by mělo být změněno, aby byla zohledněna skutečnost, že tato látka bude touto směrnicí považována za mutagen.
- (2) V příloze V směrnice 67/548/EHS se stanoví metody určení fyzikálně-chemických vlastností látek, toxicity a ekotoxicity látek a přípravků. Uvedenou přílohu je třeba pozměnit, aby se v souladu se směrnicí Rady 86/609/EHS ze dne 24. listopadu 1986 o sblížení právních a správních předpisů členských států týkajících se ochrany zvířat používaných pro pokusné a jiné vědecké účely ⁽²⁾ snížil

počet zvířat používaných k pokusným účelům na minimum. Odpovídajícím způsobem by tedy měly být přezkoumány metody stanovení subchronické orální toxicity v kapitolách B.1, B.4, B.5, B.31 a B.35. Dále by měla být do přílohy V doplněna kapitola B.42, aby byla dána k dispozici zdokonalená metoda stanovení subchronické orální toxicity. Dále by měly být doplněny kapitoly A.21 o fyzikálně-chemických vlastnostech, kapitola B.43 o subchronické orální toxicitě a kapitoly C.21 až C.24 o toxicitě pro životní prostředí, aby bylo možné zjišťovat vlastnosti, které dosud nebyly dostatečně pokryty metodami obsaženými v příloze V.

- (3) Opatření stanovená v této směrnici jsou v souladu se stanoviskem Výboru pro přizpůsobení technickému pokroku směrnic pro odstranění technických překážek obchodu na úseku nebezpečných látek a přípravků,

PŘIJALA TUTO SMĚRNICI:

Článek 1

Směrnice 67/548/ES se mění takto:

1. Příloha I se mění takto:
- poznámka K v úvodu se nahrazuje zněním přílohy 1A;
 - položky, které odpovídají položkám v příloze 1B této směrnice, se nahrazují zněním této přílohy;
 - položky uvedené v příloze 1C této směrnice se vkládají do přílohy I směrnice 67/548/EHS v odpovídajícím pořadí;
 - položky s indexovými čísly 604-050-00-X, 607-050-00-8, 607-171-00-6 a 613-130-00-3 se zrušují;

⁽¹⁾ Úř. věst. L 196, 16.8.1967, s. 1. Směrnice naposledy pozměněná nařízením (ES) č. 807/2003 (Úř. věst. L 122, 16.5.2003, s. 36).

⁽²⁾ Úř. věst. L 358, 18.12.1986, s. 1. Směrnice naposledy pozměněná směrnicí Evropského parlamentu a Rady 2003/65/ES (Úř. věst. L 230, 16.9.2003, s. 32).

- e) položka s indexovým číslem 048-002-00-0 se nahrazuje položkami s indexovými čísly 048-002-00-0 a 048-011-00-X uvedenými v příloze 1D této směrnice;
- f) položka s indexovým číslem 609-006-00-3 se nahrazuje položkami s indexovými čísly 609-006-00-3 a 609-065-00-5 uvedenými v příloze 1D této směrnice;
- g) položka s indexovým číslem 612-039-00-6 se nahrazuje položkami s indexovými čísly 612-039-00-6 a 612-207-00-9 uvedenými v příloze 1D.
2. Příloha V se mění takto:
- a) znění přílohy 2A této směrnice se doplňuje jako kapitola A.21;
- b) kapitola B.1a se nahrazuje zněním přílohy 2B této směrnice;
- c) kapitola B.1b se nahrazuje zněním přílohy 2C této směrnice;
- d) kapitola B.4 se nahrazuje zněním přílohy 2D této směrnice;
- e) kapitola B.5 se nahrazuje t zněním přílohy 2E této směrnice;
- f) kapitola B.31 se nahrazuje zněním přílohy 2F této směrnice;
- g) kapitola B.35 se nahrazuje zněním přílohy 2G této směrnice;
- h) znění přílohy 2H této směrnice se doplňuje jako kapitoly B.42 a B.43;

- i) znění přílohy 2I této směrnice se doplňuje jako kapitoly C.21 až C.24.

Článek 2

1. Členské státy uvedou v účinnost právní a správní předpisy nezbytné k dosažení souladu s touto směrnicí do 31. října 2005. Neprodleně sdělí Komisi znění těchto předpisů a poskytnou srovnávací tabulku mezi těmito předpisy a touto směrnicí. Tato opatření přijatá členskými státy musí obsahovat odkaz na tuto směrnici nebo musí být takový odkaz učiněn při jejich úředním vyhlášení. Způsob odkazu si stanoví členské státy.

2. Členské státy sdělí Komisi znění hlavních ustanovení vnitrostátních právních předpisů, které přijmou v oblasti působnosti této směrnice.

Článek 3

Tato směrnice vstupuje v platnost dvacátým dnem po vyhlášení v *Úředním věstníku Evropské unie*.

Článek 4

Tato směrnice je určena členským státům.

V Bruselu dne 29. dubna 2004.

Za Komisi
Margot WALLSTRÖM
členka Komise

PŘÍLOHA 1A

„Poznámka K:

Zařazení jako karcinogen nebo mutagen není nutné použít, jestliže lze prokázat, že látka obsahuje méně než 0,1 % (hmot.) 1,3 butadienu (číslo EINECS 203-450-8). Pokud není látka zařazena jako karcinogen nebo mutagen, měly by se na ni vztahovat alespoň S-věty S (2-)9-16. Tato poznámka se použije na určité směsi ropných derivátů, uvedených v příloze I.“

PŘÍLOHA 1B

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-----------|---|--|--|-----------------------|
| 006-005-00-4 | thiram (ISO) bis(dimethylthiokarbamoyl)disulfid | | 205-286-2 | 137-26-8 | Xn; R20/22-48/22 Xi; R36/38 R43 N; R50-53 | Xn; N R: 20/22-36/38-43-48/22-50/53 S: (2-26-36/37-60-61 | C ≥ 25 %: Xn, N; R20/22-36/38-43-48/22-50-53 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R36/38-43-48/22-50-53 10 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R36/38-43-50-53 2,5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi, N; R43-51/53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51/53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52/53 | |
| 006-006-01-7 | kyanovodík ...% kyselina kyanovodíková ...% | B | 200-821-6 | 74-90-8 | T+; R26/27/28 N; R50-53 | T+; N R: 26/27/28-50/53 S: (1/2-7/9-16-36/37-38-45-60-61 | C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-51-53 2,5 % ≤ C < 7 %: T, N; R23/24/25-51-53 1 % ≤ C < 2,5 %: T, N; R23/24/25-52-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22-52-53 0,1 % ≤ C < 0,25 ba%: Xn; R20/21/22 | |
| 006-012-00-2 | ziram (ISO) zínk-N,N-dimethyldithiokarbamat | | 205-288-3 | 137-30-4 | T+; R26 Xn; R22-48/22 Xi; R37-41 R43 N; R50-53 | T+; N R: 22-26-37-41-43-48/22-50/53 S: (1/2)22-26-28-36/37/39-45-60-61 | C ≥ 25 %: T+, N; R22-26-37-41-43-48/22-50-53 20 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26-37-41-43-48/22-50-53 10 % ≤ C < 20 %: T+, N; R26-41-43-48/22-50-53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R26-36-43-50-53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R23-36-43-50-53 1 % ≤ C < 5 %: T, N; R23-43-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R20-51-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53 | |
| 006-021-00-1 | linuron (ISO) 3-(3,4-dichlorfenyl)-1-methoxy-1-methylmočovina | E | 206-356-5 | 330-55-2 | Repr. kat. 2; R61 Repr. kat. 3; R62 Karc. kat. 3; R40 | T; N R: 61-22-40-48/22-62-50/53 S: 53-45-60-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|--|--|--|-----------------------|
| 006-044-00-7 | isoproteron (ISO) 3-(4-isopropylfenyl)-1,1-dimethylmočovina | | 251-835-4 | 34123-59-6 | Karc. kat. 3; R40 N; R50-53 | Xn; N R: 40-50/53 S: (2-3)36/37-60-61 | C ≥ 2,5 %; Xn, N; R40-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %; Xn, N; R40-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %; N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; R52-53 | |
| 006-072-00-X | S-benzyl-dipropylthiokarbamát Prosulfokarb (ISO) | | 401-730-6 | 52888-80-9 | Xn; R22 R43 N; R51-53 | Xn; N R: 22-43-51/53 S: (2-)24-37-61 | | |
| 006-089-00-2 | oxid chloritý | | 233-162-8 | 10049-04-4 | O; R8 R6 T+; R26 C; R34 N; R50 | O; T+; N R: 6-8-26-34-50 S: (1/2-)23-26-28-36/37/39-38-45-61 | C ≥ 5 %; T+; N; R26-34-50 1 % ≤ C < 5 %; T+; N; R26-36/37/38-50 0,5 % ≤ C < 1 %; T; N; R23-36/37/38-50 0,2 % ≤ C < 0,5 %; T; N; R23-50 0,02 % ≤ C < 0,2 %; Xn; N; R20-50 | |
| 006-089-01-X | oxid chloritý...% | B | 233-162-8 | 10049-04-4 | T; R25 C; R34 N; R50 | T; N R: 25-34-50 S: (1/2-)23-26-28-36/37/39-45-61 | C ≥ 2,5 %; T; N; R25-34-50 10 % ≤ C < 25 %; C; N; R22-34-50 3 % ≤ C < 10 %; Xn; N; R22-36/37/38-50 0,3 % ≤ C < 3 %; Xi; R36 | |
| 007-001-00-5 | amoniak, bezvodý | | 231-635-3 | 7664-41-7 | R10 T; R23 C; R34 N; R50 | T; N R: 10-23-34-50 S: (1/2-)9-16-26-36/37/39-45-61 | C ≥ 2,5 %; T; N; R23-34-50 5 % ≤ C < 25 %; T; R23-34 0,5 % ≤ C < 5 %; Xn; R20-36/37/38 | |
| 007-008-00-3 | hydrazin | E | 206-114-9 | 302-01-2 | R10 Karc. kat. 2; R45 T; R23/24/25 C; R34 R43 N; R50-53 | T; N R: 45-10-23/24/25-34-43-50/53 S: 53-45-60-61 | C ≥ 2,5 %; T; N; R45-23/24/25-34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %; T; N; R45-20/21/22-34-43-51/53 3 % ≤ C < 10 %; T; N; R45-20/21/22-36/38-43-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %; T; N; R45-43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; T; R45-43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %; T; R45-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %; T; R45 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-----------|---|---|--|-----------------------|
| 007-010-00-4 | dusitan sodný | | 231-555-9 | 7632-00-0 | O; R8 T; R25 N; R50 | O; T; N R: 8-25-50 S: (1/2-)45-61 | C ≥ 25 %: T, N; R25-50 5 % ≤ C < 25 %: T; R25 1 % ≤ C < 5 %: Xn; R22 | |
| 007-011-00-X | dusitan draselný | | 231-832-4 | 7758-09-0 | O; R8 T; R25 N; R50 | O; T; N R: 8-25-50 S: (1/2-)45-61 | C ≥ 25 %: T, N; R25-50 5 % ≤ C < 25 %: T; R25 1 % ≤ C < 5 %: Xn; R22 | |
| 007-013-00-0 | 1,2'-dimethylhydrazin | E | — | 540-73-8 | Karc. kat. 2; R45 T; R23/24/25 N; R51-53 | T; N R: 45-23/24/25-51/53 S: 53-45-61 | C ≥ 25 %: T, N; R45-23/24/25-51/53 3 % ≤ C < 25 %: T; R45-20/21/22-52/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T; R45-52/53 0,01 % ≤ C < 2,5 %: T; R45 | |
| 007-017-00-2 | isobutyl-nitrit | E | 208-819-7 | 542-56-3 | F; R11 Xn; R20/22 Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 | F; T R: 11-20/22-45-68 S: 53-45 | | |
| 007-027-00-7 | 1,6-bis(3,3-bis(3-[(1-methylpentylidén)imino]propyl)ureido)hexan | | 420-190-2 | — | Xn; R21/22-48/21 C; R34 R43 N; R50-53 | C; N R: 21/22-34-43-48/21-50/53 S: (1/2-)7-26-36/37/39-45-60-61 | | |
| 008-003-00-9 | peroxid vodíku, roztok...% | B | 231-765-0 | 7722-84-1 | R5 O; R8 C; R35 Xn; R20/22 | O; C R: 5-8-20/22-35 S: (1/2-)17-26-28-36/37/39-45 | C ≥ 70 %: C; R20/22-35 50 % ≤ C < 70 %: C; R20/22-34 35 % ≤ C < 50 %: Xn; R22-37/38-41 8 % ≤ C < 35 %: Xn; R22-41 5 % ≤ C < 8 %: Xi; R36 Footnote: C ≥ 70 %: R5, O; R8 50 % ≤ C < 70 %: O; R8 | |
| 009-015-00-7 | difluorid sulfurylu | | 220-281-5 | 2699-79-8 | T; R23 Xn; R48/20 N; R50 | T; N R: 23-48/20-50 S: (1/2-)45-63-60-61 | | |
| 015-002-00-7 | fosfor červený | | 231-768-7 | 7723-14-0 | F; R11 R16 R52-53 | F R: 11-16-52/53 S: (2-)7-43-61 | | |
| 015-014-00-2 | tributyl-fosfát | | 204-800-2 | 126-73-8 | Karc. kat. 3; R40 Xn; R22 Xi; R38 | Xn R: 22-38-40 S: (2-)3/6/37-46 | | |
| 015-015-00-8 | trikresyl-fosfát | C | 201-103-5 | 78-30-8 | T; R39/23/24/25 | T; N | C ≥ 25 %: T, N; R39/23/24/25- | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-----------|-----------------------------|--|---|-----------------------|
| | tritolyl-fosfát tris(3-methylfenyl)-fosfát, bis(2-methylfenyl)-(4-methylfenyl)-fosfát, bis(2-methylfenyl)-(4-methylfenyl)-fosfát, (2-methylfenyl)-bis(3-methylfenyl)-fosfát, (2-methylfenyl)-bis(4-methylfenyl)-fosfát, (2-methylfenyl)-(3-methylfenyl)-(4-methylfenyl)-fosfát | | | | N; R51-53 | R: 39/23/24/25-51/53 S: (1/2-)20/21-28-45-61 | 51/53 2,5 % ≤ C < 25 %; T; R39/23/24/25-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %; T; R39/23/24/25 0,2 % ≤ C < 1 %; Xn; R68/20/21/22 | |
| 015-016-00-3 | trikresyl-fosfát tritolyl-fosfát tris(3-methylfenyl)-fosfát, bis(3-methylfenyl)-(4-methylfenyl)-fosfát, (3-methylfenyl)-bis(4-methylfenyl)-fosfát, tris(4-methylfenyl)-fosfát | C | 201-105-6 | 78-32-0 | Xn; R21/22 N; R51-53 | Xn; N R: 21/22-51/53 S: (2-)28-61 | C ≥ 25 %; Xn, N; R21/22-51/53 5 % ≤ C < 25 %; Xn; R21/22-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %; R52/53 | |
| 015-020-00-5 | mevinfos (ISO) methyl-3-(dimethoxyfosforyloxy)but-2-enoát, 2-(methoxykarbonyl)-1-methylvinyl-dimethyl-fosfát | | 232-095-1 | 7786-34-7 | T+; R27/28 N; R50-53 | T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)23-28-36/37-45-60-61 | C ≥ 7 %; T+; N; R27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %; T, N; R24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %; Xn, N; R21/22-50-53 0,0025 % ≤ C < 0,1 %; N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,0025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,00025 %; R52-53 | |
| 015-021-00-0 | trichlorfon (ISO) dimethyl-(2,2,2-trichlor-1-hydroxyethyl) fosfonát | | 200-149-3 | 52-68-6 | Xn; R22 R43 N; R50-53 | Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)24-37-60-61 | C ≥ 25 %; Xn, N; R22-43-50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %; R52-53 1 % ≤ C < 25 %; Xi, N; R43-50-53 0,025 % ≤ C < 1 %; N; R50-53 | |
| 015-027-00-3 | sulfonep (ISO) O,O,O-tetraethyl-difosforodithioát | | 222-995-2 | 3689-24-5 | T+; R27/28 N; R50-53 | T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)23-28-36/37-45-60-61 | C ≥ 7 %; T+; N; R27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %; T, N; R24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %; Xn, N; R21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %; N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,00025 %; R52-53 | |
| 015-032-00-0 | prothoát (ISO) | | 218-893-2 | 2275-18-5 | T+; R27/28 | T+ | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-----------|--|--|---|-----------------------|
| 015-033-00-6 | N-isopropyl-2-(diethoxyfosforthioylsulfanyl)acetamid forát (ISO) O,O-diethyl-S-[(ethylsulfanyl)methyl]-fosforodithioát | | 206-052-2 | 298-02-2 | T+; R27/28 N; R50-53 | T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)/28-36/37-45-61 | C ≥ 7 %: T+, N; R27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %: T, N; R24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53 | |
| 015-034-00-1 | parathion (ISO) O,O-diethyl-O-(4-nitrofenyl)-fosforothioát | | 200-271-7 | 56-38-2 | T+; R26/28 T; 24-48/25 N; R50-53 | T+; N R: 24-26/28-48/25-50/53 S: (1/2-)/28-36/37-45-60-61 | C ≥ 25 %: T+, N; R24-26/28-48/25-50-53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21-26/28-48/25-50-53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R21-26/28-48/22-50-53 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R21-23/25-48/22-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R23/25-48/22-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20/22-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R20/22-51-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53 | |
| 015-035-00-7 | parathion-methyl (ISO) O,O-dimethyl-O-(4-nitrofenyl)-fosforothioát | | 206-050-1 | 298-00-0 | R5 R10 T+; R26/28 T; R24 Xn; R48/22 N; R50-53 | T+; N R: 5-10-24-26/28-48/22-50/53 S: (1/2-)/28-36/37-45-60-61 | C ≥ 25 %: T+, N; R24-26/28-48/22-50-53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21-26/28-48/22-50-53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R21-26/28-50-53 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R21-23/25-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R23/25-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20/22-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R20/22-51-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51-53 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-----------|------------------------------------|--|--|-----------------------|
| | | | | | | | 53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; R52-53 | |
| 015-041-00-X | malathion (ISO) diethyl- [[dimethoxyfosforothioyl)sulfanyl] sukcinát | | 204-497-7 | 121-75-5 | Xn; R22 N; R50-53 | Xn; N R: 22-50/53 S: (2)-24-60-61 | C ≥ 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,25 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53 | |
| 015-042-00-5 | chlorthion (obecný název nepřijatý ISO) O-(3-chlor-4-nitrofenyl)-O,O- dimethyl- fosforothioát | | 207-902-5 | 500-28-7 | Xn; R20/21/22 N; R50-53 | Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2)-13-60-61 | C ≥ 25 %: Xn, N; R20/21/22-50-53 0,25 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53 | |
| 015-047-00-2 | ethion (ISO), O,O,O',O'-tetraethyl-S,S'- metylenbis(fosforodithioát) die- thion | | 209-242-3 | 563-12-2 | T; R25 Xn; R21 N; R50-53 | T; N R: 21-25-50/53 S: (1/2)-25- 36/37-45-60-61 | C ≥ 25 %: T, N; R21-25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,0025 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: N; R51-53 0,000025 % ≤ C < 0,00025 %: R52-53 | |
| 015-052-00-X | fenchlorfos (ISO) O,O-dimethyl-O-(2,4,5- trichlorfenyl)- fosforothioát | | 206-082-6 | 299-84-3 | Xn; R21/22 N; R50-53 | Xn; N R: 21/22-50/53 S: (2)-25-36/37-60-61 | | |
| 015-055-00-6 | naled (ISO) 1,2-dibrom-2,2-dichlorethyl- dimethyl-fosfát | | 206-098-3 | 300-76-5 | Xn; R21/22 Xi; R36/38 N; R50 | Xn; N R: 21/22-36/38-50 S: (2)-36/37-61 | C ≥ 25 %: Xn, N; R21/22-36/38-50 20 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R36/38-50 0,025 % ≤ C < 20 %: N; R50 | |
| 015-063-00-X | dioxathion (ISO) S,S'-(1,4-dioxan-2,3-diy)bis(O,O- diethyl-fosforodithioát) | | 201-107-7 | 78-34-2 | T+; R26/28 T; R24 N; R50-53 | T+; N R: 24-26/28-50/53 S: (1/2)-28- 36/37-45-60-61 | C ≥ 25 %: T+, N; R24-26/28-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21-26/28-50-53 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R21-23/25-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R23/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R50- | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|--------------------------------|---|--|-----------------------|
| 015-065-00-0 | S-[2-(ethylsulfanyl)ethyl]-O,O-dimethylfosfordithioát | | — | 2703-37-9 | T+; R26/27/28 N; R51-53 | T+; N R: 26/27/28-51/53 S: (1/2-)13-28-45-61 | 53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %; R52-53 | |
| 015-076-00-0 | potasan O,O-diethyl-O-(4-methyl-2-oxo-2H-chromen-7-yl)-fosfordithioát | | — | 299-45-6 | T+; R26/27/28 N; R50-53 | T+; N R: 26/27/28-50/53 S: (1/2-)13-28-45-60-61 | C ≥ 7 %; T+; N; R26/27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %; T, N; R23/24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %; Xn, N; R20/21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %; N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %; R52-53 | |
| 015-078-00-1 | demeton-S-methylsulfon (ISO) O-[2-(ethylsulfonyl)ethyl]-O, O-dimethylfosfordithioát | | 241-109-5 | 17040-19-6 | T; R25 Xn; R21 N; R51-53 | T; N R: 21-25-51/53 S: (1/2-)22-28-36/37-45-61 | | |
| 015-083-00-9 | bensulid (ISO) O,O-diisopropyl-S-(2-benzensulfonamidoethyl)-fosfordithioát | | 212-010-4 | 741-58-2 | Xn; R22 N; R50-53 | Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)24-36-60-61 | | |
| 015-084-00-4 | chlorpyrifos (ISO) O,O-diethyl-O-(3,5,6-trichlor-2-pyridyl)-fosfordithioát | | 220-864-4 | 2921-88-2 | T; R25 N; R50-53 | T; N R: 25-50/53 S: (1/2-)45-60-61 | C ≥ 25 %; T, N; R25-50-53 3 % ≤ C < 25 %; Xn, N; R22-50-53 0,0025 % ≤ C < 3 %; N; R50-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %; N; R51-53 0,000025 % ≤ C < 0,00025 %; R52-53 | |
| 015-095-00-4 | methamidofos (ISO) O,S-dimethyl-fosforamidothioát | | 233-606-0 | 10265-92-6 | T+; R26/28 T; R24 N; R50 | T+; N R: 24-26/28-50 S: (1/2-)28-36/37-45-61 | | |
| 015-096-00-X | oxydisulfoton (ISO) O,O-diethyl-S-[2-(ethylsulfanyl)ethyl]-fosfordithioát | | 219-679-1 | 2497-07-6 | T+; R28 T; R24 N; R50-53 | T+; N R: 24-28-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61 | C ≥ 25 %; T+; N; R24-28-50-53 7 % ≤ C < 25 %; T+; N; R21-28-50-53 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|--|---|--|-----------------------|
| 015-097-00-5 | fenthoát (ISO) ethyl-2-[(dimethoxyfosforothioyl)sulfanyl]-2-fenylacetát S-(2-ethoxy-1-fenyl-2-oxoethyl)-O,O-dimethyl-fosforodithioát S-[(ethoxykarbonyl)(fenyl)methyl]-O,O-dimethyl-fosforodithioát | | 219-997-0 | 2597-03-7 | Xn; R21/22 N; R50-53 | Xn; N R: 21/22-50/53 S: (2)-22-36/37-60-61 | 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R21-25-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R25-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R22-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R22-51-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: R52-53 | |
| 015-100-00-X | foxim (ISO) O,O-diethyl-O-[[fenyl(kyan)methyliden]iminyl]-fosforothioát | | 238-887-3 | 14816-18-3 | Xn; R22 N; R50-53 | Xn; N R: 22-50/53 S: (2)-36-60-61 | C ≥ 25 %: Xn, N; R21/22-50-53 0,25 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53 | |
| 015-101-00-5 | fosmet (ISO) S-ftalimidomethyl-O,O-dimethyl-fosforodithioát | | 211-987-4 | 732-111-6 | Xn; R21/22 N; R50-53 | Xn; N R: 21/22-50/53 S: (2)-22-36/37-60-61 | C ≥ 25 %: Xn, N; R21/22-50-53 0,25 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53 | |
| 015-105-00-7 | trifenyl-fosfit | | 202-908-4 | 101-02-0 | Xi; R36/38 N; R50-53 | Xi; N R: 36/38-50/53 S: (2)-28-60-61 | C ≥ 25 %: Xi, N; R36/38-50/53 5 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R36/38-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53 | |
| 015-107-00-8 | ethoprosfos (ISO) O-ethyl-S,S-dipropyl-fosforodithioát | | 236-152-1 | 13194-48-4 | T+; R26/27 T; R25 R43 N; R50-53 | T+; N R: 25-26/27-43-50/53 S: (1)-2-27/28-36/37/39-45-60-61 | | |
| 015-108-00-3 | bromofos (ISO) O-(4-brom-2,5-dichlorfenyl)-O,O-dimethyl-fosforodithioát | | 218-277-3 | 2104-96-3 | Xn; R22 N; R50-53 | Xn; N R: 22-50/53 S: (2)-36-60-61 | C ≥ 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,25 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52- | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---|--|--|-----------------------|
| 015-109-00-9 | krotoxyfos (ISO) (1-fenylethyl)-(E) 3-[(dimethoxyfosforyl)oxy]but-2- enoát | | 231-720-5 | 7700-17-6 | T; R24/25 N; R50-53 | T; N R: 24/25-50/53 S: (1/2-)28- 36/37-45-60-61 | 53 C ≥ 2,5 %; T, N; R24/25-50-53 3 % ≤ C < 2,5 %; Xn, N; R21/22-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %; N; R50-53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; R52-53 | |
| 015-1110-00-4 | kyanofenos (ISO) O-ethyl-O-(4-kyanofenyl)- fenylfosfonthioát | | — | 13067-93-1 | T; R25-39/25 Xn; R21 Xi; R36 N; R51-53 | T; N R: 21-25- 36-39/25-51/53 S: (1/2-)36/37-45-61 | | |
| 015-1114-00-6 | chlormefos (ISO) S-chlormethyl-O,O-diethyl- fosforodithioát | | 246-538-1 | 24934-91-6 | T+; R27/28 N; R50-53 | T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)28- 36/37-45-60-61 | | |
| 015-1115-00-1 | chlorthiofos (ISO) O-[2,5-dichlor-4- (methylsulfanyl)fenyl]-O,O-diethyl- fosforothioát | | 244-663-6 | 21923-23-9 | T+; R28 T; R24 N; R50-53 | T+; N R: 24-28-50/53 S: (1/2-)28- 36/37-45-60-61 | | |
| 015-122-00-X | erimfos (ISO) O-(6-ethoxy-2-ethylpyrimidin-4-yl)- O,O-dimethyl-fosforothioát | | 253-855-9 | 38260-54-7 | Xn; R22 N; R50-53 | Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)60-61 | C ≥ 2,5 %; Xn, N; R22-50-53 2,5 % ≤ C < 2,5 %; N; R50-53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; R52-53 | |
| 015-123-00-5 | fenamifos (ISO) O-ethyl-O[3-methyl-4- (methylsulfanyl)fenyl]-N- isopropylfosforamidát | | 244-848-1 | 22224-92-6 | T+; R28 T; R24 N; R50-53 | T+; N R: 24-28-50/53 S: (1/2-)23-28- 36/37-45-60-61 | C ≥ 2,5 %; T+, N; R24-28-50-53 7 % ≤ C < 2,5 %; T+, N; R21-28-50-53 3 % ≤ C < 7 %; T, N; R21-25-50-53 1 % ≤ C < 3 %; T, N; R25-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %; Xn, N; R22-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %; Xn, N; R22-51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; R52-53 | |
| 015-126-00-1 | heptenofos (ISO) (7-chlorbicyklo[3.2.0]hepta- 2,6-dien-6-yl)-dimethyl-fosfát | | 245-737-0 | 23560-59-0 | T; R25 N; R50-53 | T; N R: 25-50/53 S: (1/2-)23- 28-37-45-60-61 | C ≥ 2,5 %; T, N; R25-50-53 3 % ≤ C < 2,5 %; Xn, N; R22-50-53 0,25 % ≤ C < 3 %; N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; N; R51-53 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|--------------------------------|--|--|-----------------------|
| 015-127-00-7 | iprobenfos (ISO) S-benzyl-O,O-diisopropyl- fosforothioát | | 247-449-0 | 26087-47-8 | Xn: R22 N: R51-53 | Xn: N R: 22-51/53 S: (2-)/61 | 53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53 | |
| 015-128-00-2 | IPSP (JMAFF) S-[(ethylsulfonyl)methyl]-O,O- diisopropyl-fosforodithioát | | — | 5827-05-4 | T+: R27 T: R25 N: R50-53 | T+: N R: 25-27-50/53 S: (1/2-)/28- 36/37-45-60-61 | C ≥ 25 %: T+, N; R25-27-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R22-24-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R22-27-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R24-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R21-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R21-51-53 | |
| 015-129-00-8 | isofenfos (ISO) ethyl-[2- (isopropoxykarbonyl)fenyl]- N- isopropylfosforamidothioát | | 246-814-1 | 25311-71-1 | T: R24/25 N: R50-53 | T: N R: 24/25-50/53 S: (1/2-)/36/37-45-60-61 | C ≥ 25 %: T, N; R24/25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R21/22-50-53 0,25 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53 | |
| 015-131-00-9 | isoxathion (ISO) O,O-diethyl-O-(5-fenylisoxazol-3- yl)-fosforothioát | | 242-624-8 | 18854-01-8 | T: R24/25 N: R50-53 | T: N R: 24/25-50/53 S: (1/2-)/28- 36/37-45-60-61 | | |
| 015-132-00-4 | methylkarbofenothion S-[(4-chlorfenyl)sulfonyl]methyl]- O,O-dimethyl-fosforodithioát | | — | 953-17-3 | T: R24/25 N: R50-53 | T: N R: 24/25-50/53 S: (1/2-)/28- 36/37-45-60-61 | C ≥ 25 %: T, N; R24/25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53 | |
| 015-133-00-X | piperofos (ISO) S-[(2-methylpiperidin-1- karbonyl)methyl]- | | — | 24151-93-7 | Xn: R22 N: R50-53 | Xn: N R: 22-50/53 S: (2-)/60-61 | C ≥ 25 %: Xn, N; R22-50-53 2,5 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: N; R51-53 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|--------------------------------|--|---|-----------------------|
| | O,O-dipropylfosforodithioát | | | | | | 0,025 % ≤ C < 0,25 %; R52-53 | |
| 015-134-00-5 | pirimifos-methyl (ISO) O-(2-diethylamino-6-methylpyrimidin-4-yl)-O,O-dimethylfosforodithioát | | 249-528-5 | 29232-93-7 | Xn; R22 N; R50-53 | Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)60-61 | | |
| 015-135-00-0 | profenofo (ISO) O-(4-brom-2-chlorfenyl)-O-ethyl-S-propylfosforodithioát | | 255-255-2 | 41198-08-7 | Xn; R20/21/22 N; R50-53 | Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)36/37-60-61 | C ≥ 25 %; Xn, N; R20/21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 25 %; N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %; R52-53 | |
| 015-136-00-6 | isopropyl-(Z)-3-[ethylamino(methoxy)fosforthioxyloxy]but-2-enoát propetamifos (ISO) | | 250-517-2 | 31218-83-4 | T; R25 N; R50-53 | T; N R: 25-50/53 S: (1/2-)37-45-60-61 | C ≥ 25 %; T, N; R25-50-53 3 % ≤ C < 25 %; Xn, N; R22-50-53 0,25 % ≤ C < 3 %; N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; R52-53 | |
| 015-138-00-7 | chinalfos (ISO) O,O-diethyl-O-(chinoxalin-2-yl)-fosforodithioát | | 237-031-6 | 13593-03-8 | T; R25 Xn; R21 N; R50-53 | T; N R: 21-25-50/53 S: (1/2-)22-36/37-45-60-61 | C ≥ 25 %; T, N; R21-25-50-53 3 % ≤ C < 25 %; Xn, N; R22-50-53 0,025 % ≤ C < 3 %; N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %; R52-53 | |
| 015-139-00-2 | S-(terc-butylsulfanylmethyl)-O,O-diethylfosforodithioát terbufo (ISO) | | 235-963-8 | 13071-79-9 | T+; R27/28 N; R50-53 | T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)36/37-45-60-61 | C ≥ 7 %; T+, N; R27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %; T, N; R24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %; Xn, N; R21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %; N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %; R52-53 | |
| 015-154-00-4 | (2-chlorethyl)fosfonová kyselina ethefon | | 240-718-3 | 16672-87-0 | Xn; R20/21 C; R34 R52-53 | C R: 20/21-34-52/53 S: (1/2-)26-28- | ≥ 25 %; C; R20/21-34-52/53 10 % ≤ C < 25 %; C; R34 5 % ≤ C < 10 %; Xi; R36/37/38 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|---|--|---|-----------------------|
| 015-179-00-0 | produkt reakce tetraakis(hydroxymethyl)fosfoniumchloridu, močoviny a destilovaných hydrogenovaných alky(C16-C18)aminů získaných z loje | | 422-720-8 | 166242-53-1 | Karc. kat. 3; R40 Xn: R22-48/22 C; R34 R43 N; R50-53 | 36/37/39-45-61C C; N R: 22-34-40-43-48/22-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61 | | |
| 016-001-00-4 | sirovodík hydrogensulfid sulfan | | 231-977-3 | 7783-06-4 | F+; R12 T+; R26 N; R50 | F+; T+; N R: 12-26-50 S: (1/2-)9-16-28-36/37-45-61 | C ≥ 25 %: T+; N; R26-50 10 % ≤ C < 25 %: T+; R26 5 % ≤ C < 10 %: T; R23 1 % ≤ C < 5 %: Xn; R20 | |
| 016-008-00-2 | polysulfid amonný | | 232-989-1 | 9080-17-5 | R31 C; R34 N; R50 | C; N R: 31-34-50 S: (1/2-)26-45-61 | C ≥ 25 %: C, N; R31-34-50 5 % ≤ C < 25 %: C; R31-34 1 % ≤ C < 5 %: Xi; R31-36/38 | |
| 016-012-00-4 | chlorid sirmý dichlordisulfan | | 233-036-2 | 10025-67-9 | R14 T; R25 Xn: R20 R29 C; R35 N; R50 | T; C; N R: 14-20-25-29-35-50 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61 | C ≥ 25 %: T, C, N; R20-25-35-50 10 % ≤ C < 25 %: C; R22-35 5 % ≤ C < 10 %: C; R22-34 3 % ≤ C < 5 %: Xn; R22-36/37/38 1 % ≤ C < 3 %: Xi; R36/37/38 | |
| 016-013-00-X | chlorid sirmatý | | 234-129-0 | 10545-99-0 | R14 C; R34 Xi; R37 N; R50 | C; N R: 14-34-37-50 S: (1/2-)26-45-61 | C ≥ 25 %: C, N; R34-50 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38 10 % ≤ C < 25 %: C; R34 | |
| 016-014-00-5 | chlorid siřčitý | | — | 13451-08-6 | R14 C; R34 N; R50 | C; N R: 14-34-50 S: (1/2-)26-45-61 | C ≥ 25 %: C, N; R34-50 10 % ≤ C < 25 %: C; R34 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38 | |
| 016-021-00-3 | methanthiol methylmerkaptan | | 200-822-1 | 74-93-1 | F+; R12 T; R23 N; R50-53 | F+; T+; N R: 12-23-50/53 S: (2-)16-25-60-61 | | |
| 016-023-00-4 | dimethyl-sulfát | E | 201-058-1 | 77-78-1 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 T+; R26 T; R25 C; R34 R43 | T+ R: 45-25-26-34-43-68 S: 53-45 | C ≥ 25 %: T+; R45-R25-R26-R34-R43-R68 10 % ≤ C < 25 %: T+; R45-R22-R26-R34-R43-R68 7 % ≤ C < 10 %: T+; R45-R22-R26-R36/37/38-R43-R68 5 % ≤ C < 7 %: T; R45-R22-R23-R36/37/38-R43-R68 3 % ≤ C < 5 %: T; R45-R22-R23-R43-R68 1 % ≤ C < 3 %: T; R45-R23-R43-R68 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|--|---|---|-----------------------|
| 016-059-00-0 | N,N,N',N'-tetramethyl-2,2'-dithiodi(ethan-1-amin)-dihydrochlorid | | 405-300-9 | 17339-60-5 | Xn; R22 Xi; R36 R43 N; R50-53 | Xn; N R: 22-36-43-50/53 S: (2-)26-36/37-60-61 | 0,1 % ≤ C < 1 %; T; R45-R20-R68 0,01 % ≤ C < 0,1 %; T; R45-R68 | |
| 017-003-00-8 | chlorečnan barnatý | | 236-760-7 | 13477-00-4 | O; R9 Xn; R20/22 N; R51-53 | O; Xn; N R: 9-20/22-51/53 S: (2-)13-27-61 | | |
| 017-004-00-3 | chlorečnan draselný | | 223-289-7 | 3811-04-9 | O; R9 Xn; R20/22 N; R51-53 | O; Xn; N R: 9-20/ 22-51/53 S: (2-)13-16-27-61 | | |
| 017-005-00-9 | chlorečnan sodný | | 231-887-4 | 7775-09-9 | O; R9 Xn; R22 N; R51-53 | O; Xn; N R: 9-22-51/53 S: (2-)13-17-46-61 | | |
| 017-011-00-1 | chlorman sodný, roztok, obsah aktivního chloru...% | B | 231-668-3 | 7681-52-9 | C; R34 R31 N; R50 | C; N R: 31-34-50 S: (1/2-)28-45-50-61 | C ≥ 25 %; C, N; R31-34-50 10 % ≤ C < 25 %; C; R31-34 5 % ≤ C < 10 %; Xi; R31-36/38 | |
| 017-012-00-7 | chlorman vápenatý | | 231-908-7 | 7778-54-3 | O; R8 Xn; R22 R31 C; R34 N; R50 | O; C; N R: 8-22-31-34-50 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61 | C ≥ 25 %; C, N; R22-34-50 10 % ≤ C < 25 %; C; R34 3 % ≤ C < 10 %; Xi; R37/38-41 0,5 % ≤ C < 3 %; Xi; R36 | |
| 024-001-00-0 | oxid chromový | E | 215-607-8 | 1333-82-0 | O; R9 Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 Repr. kat. 3; R62 T+; R26 T; R24/25-48/23 C; R35 R42/43 N; R50-53 | O; T+; N R: 45-46-9-24/ 25-26-35-42/43-48/23-62-50/53 S: 53-45-60-61 | C ≥ 25 %; T+; N; R24/25-26-35-42/ 43-45-46-48/23-50/53-62 10 % ≤ C < 25 %; T+; N; R21/22-26-35-42/43-45-46-48/23-51/53-62 7 % ≤ C < 10 %; T+; N; R21/22-26-34-42/43-45-46-48/20-51/53-62 5 % ≤ C < 7 %; T; N; R21/22-23-34-42/43-45-46-48/20-51/53-62 3 % ≤ C < 5 %; T; N; R21/22-23-36/37/38-42/43-45-46-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %; T; N; R23-36/37/38-42/43-45-46-48/20-51/53 48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %; T; N; R23-36/37/38-42/43-45-46-48/20- | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--------------------|-------------------|-----------|-----------|--|--|--|-----------------------|
| 024-002-00-6 | dichroman draselný | E | 231-906-6 | 7778-50-9 | O: R8 Karc. kat. 2: R45 Mut. kat. 2: R46 Repr. kat. 2: R60-61 T+: R26 T: R25-48/23 Xn: R21 C: R34 R42/43 N: 50-53 | T+; N; O R: 45-46-60-61-8- 21-25-26-34-42/43- 48/23-50/53 S: 53-45-60-61 | 51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R23- 36/37/38-42/43-45-46- 48/20-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: T; R20-45-46- 52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R20-45-46 | 3 |
| 024-003-00-1 | dichroman amonný | E | 232-143-1 | 7789-09-5 | E; R2 O: R8 Karc. kat. 2: R45 Mut. kat. 2: R46 Repr. kat. 2: R60-61 T+: R26 T: R25-48/23 Xn: R21 C: R34 R42/43 N: R50-53 | E; T+; N R: 45-46-60-61-2-8- 21-25-26-34-42/43- 48/23-50/53 S: 53-45-60-61 | C ≥ 25 %: T+; N; R45-46-60-61- 21-25-26-34- 42/43-48/23-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+; N; R45-46- 60-61-22-26-34- 42/43-48/23-50/53 7 % ≤ C < 10 %: T+; N; R45-46- 60-61-22-26- 36/37/38-42/43-48/20-51/53 5 % ≤ C < 7 %: T; N; R45-46-60- 61-22-23- 36/37/38-42/43-48/20-51/53 3 % ≤ C < 5 %: T; N; R45-46-60- 61-22-23-42/43- 48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T; N; R45-46-60- 61-23-42/43- 48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60- 61-23-42/43- 48/20-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60- 61-20-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46- 20-42/43-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46- 20-42/43 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45-46-20 | 3 |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--------------------------|-------------------|-----------|------------|--|--|--|-----------------------|
| 024-004-00-7 | dichroman sodný bezvodý | E | 234-190-3 | 10588-01-9 | O: R8 Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 2; R46 Repr. kat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; 50-53 | T+; N; O R: 45-46-60-61-8-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61 | 3 % ≤ C < 5 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20-42/43-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20-42/43 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45-46-20 | 3 |
| 024-004-01-4 | dichroman sodný dihydrát | E | 234-190-3 | 7789-12-0 | O: R8 Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 2; R46 Repr. kat. 2; R60-61 | T+; N; O R: 45-46-60-61-8-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 | C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-34-42/43-48/23-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-51/53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 3 % ≤ C < 5 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20-42/43-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20-42/43 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45-46-20 | 3 |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-----------|--|---|---|-----------------------|
| 024-011-00-5 | bis[1-[(3,5-dinitro-2-oxido)fenyl]azo]-3-(N-fenylkarbamoyl)-2-naftolato]chromitan amonný | | 400-110-2 | — | F; R11 N; R50-53 | F; N R: 11-50/53 S: (2-3)3-60-61 | 46-60-61-22-26-34-42/43-48/23-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-51/53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 3 % ≤ C < 5 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20-42/43-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20-42/43 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45-46-20 | |
| 024-018-00-3 | chroman sodný | E | 231-889-5 | 7775-11-3 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 2; R46 Repr. kat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; R50-53 | T+; N R: 45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61 | C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-34-42/43-48/23-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-51/53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 3 % ≤ C < 5 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53 | 3 |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|----------------------------|--------------------------------|---|---|--|-----------------------|
| 027-004-00-5 | chlorid kobaltnatý | E | 231-589-4 | 7646-79-9 | Karc. kat. 2; R49 Xn; R22 R42/43 N; R50-53 | T; N R: 49-22-42/43-50/53 S: (2-)22-53-45-60-61 | 0,5 % ≤ C < 1 %; T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %; T; R45-46-20-42/43-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %; T; R45-46-20-42/43 0,1 % ≤ C < 0,2 %; T; R45-46-20 | 1 |
| 027-005-00-0 | síran kobaltnatý | E | 233-334-2 | 10124-43-3 | Karc. kat. 2; R49 Xn; R22 R42/43 N; R50-53 | T; N R: 49-22-42/43-50/53 S: (2-)22-53-45-60-61 | C ≥ 2,5 %; T, N; R49-22-42/43-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %; T, N; R49-42/43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; T; R49-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %; T; R49-52/53 0,01 % ≤ C < 0,25 %; T; R49 | 1 |
| 029-002-00-X | oxid mědný | | 215-270-7 | 1317-39-1 | Xn; R22 N; 50-53 | Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)22-60-61 | C ≥ 25 %; T, N; R49-22-42/43-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %; T, N; R49-42/43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; T; R49-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %; T; R49-52/53 0,01 % ≤ C < 0,25 %; T; R49 | |
| 030-001-00-1 | zinek práškový (nestabilizovaný) | | 231-175-3 | 7440-66-6 | F; R15-17 N; R50-53 | F; N R: 15-17-50/53 S: (2-)43-46-60-61 | | |
| 030-002-00-7 | zinek práškový stabilizovaný | | 231-175-3 | 7440-66-6 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 030-003-00-2 | chlorid zinečnatý | | 231-592-0 | 7646-85-7 | Xn; R22 C; R34 N; R50-53 | C; N R: 22-34-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61 | C ≥ 25 %; C, N; R22-34-50/53 10 % ≤ C < 25 %; C, N; R34-51/53 5 % ≤ C < 10 %; Xn, N; R36/37/38-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %; N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; R52/53 | |
| 030-006-00-9 | síran zinečnatý hydrát (mono-, hexa a heptahydrát) [1] | | 231-793-3 [1] 231-793-3 | 7446-19-7 [1] 7733-02-0 [2] | Xn; R22 R41 N; R50-53 | Xn; N R: 22-41-50/53 S: (2-)22-26-39-46-60- | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|------------------|-------------|---|--|--|-----------------------|
| 033-001-00-X | síran zinečnatý bezvodý [2] arsen | | [2] 231-148-6 | 7440-38-2 | T; R23/25 N; R50-53 | 61 T; N R: 23/25-50/53 S: (1/2-)20/21-28-45-60-61 | | |
| 033-002-00-5 | arsen, sloučeniny (s výjimkou sloučenin jmenovitě uvedených jinde v této příloze) | A | — | — | T; R23/25 N; R50-53 | T; N R: 23/25-50/53 S: (1/2-)20/21-28-45-60-61 | C ≥ 2,5 %: T, N; R23/25-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/25-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: T; R23/25-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: T; R23/25 0,1 % ≤ C < 0,2 %: Xn; R20/22 | 1 |
| 042-002-00-4 | oktamolybdenan tetrakis[dimethyl-(ditetradecyl)amonný] | | 404-760-8 | 117342-25-3 | T; R23 Xi; R41 R53 | T R: 23-41-53 S: (1/2-)26-37/39-45-61 | | |
| 048-001-00-5 | kadmium, sloučeniny, s výjimkou sulfoselenidu kademnatého (xCdS.yCdSe), směsi sulfidu kademnatého a sulfidu zinečnatého (xCdS.yZnS), směsi sulfidu kademnatého a sulfidu rtuťnatého (xCdS.yHgS) a sloučenin jmenovitě uvedených jinde v této příloze | A | — | — | Xn; R20/21/22 N; R50-53 | Xn; N R: 20 /21/22-50/53 S: (2-)60-61 | C ≥ 2,5 %: Xn, N; R20/21/22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20/21/22-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/21/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22 | 1 |
| 048-003-00-6 | mravenčan kademnatý kadmium-diformiát | | 224-729-0 | 4464-23-7 | T; R23/25 R33 Xn; R68 N; R50-53 | T; N R: 23/25-33-68-50/53 S: (1/2-)22-45-60-61 | C ≥ 2,5 %: T, N; R23/25-33-50/53-68 10 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/25-33-51/53-68 2,5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/22-33-51/53-68 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/22-33-52/53-68 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/22-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/22-33-52/53 | |
| 048-004-00-1 | kyanid kademnatý | | 208-829-1 | 542-83-6 | T+; R26/27/28 R32 R33 Xn; R68 N; R50-53 | T+; N R: 26/27/28-32-33-68-50/53 S: (1/2-)7-28-29-45-60-61 | C ≥ 2,5 %: T+, N; R26/27/28-32-33-50/53-68 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-32-33-51/53-68 2,5 % ≤ C < 7 %: T, N; R23/24/25-32-33-51/53-68 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|--|---|--|-----------------------|
| 048-005-00-7 | hexafluorokřemičitan kademnatý kadmium-hexafluorosilikát | | 241-084-0 | 17010-21-8 | T; R23/25 R33 Xn; R68 N; R50-53 | T; N R: 23/25-33-68-50/53 S; (1/2-)22-45-60-61 | 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R23/24/25-32-33-52/53-68 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22-33 C ≥ 25 %: T, N; R23/25-33-50/53-68 10 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/25-33-51/53-68 2,5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/22-33-51/53-68 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/22-33-52/53-68 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/22-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/22-33 | |
| 048-006-00-2 | fluorid kademnatý | E | 232-222-0 | 7790-79-6 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 2; R46 Repr. kat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23/25 N; R50-53 | T+; N R: 45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+; N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+; N; R45-46-60-61-22-26-48/23/25-51/53 2,5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20/22-48/20/22-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20/22-48/20/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20/22-48/20/22 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45 | | |
| 048-007-00-8 | jodid kademnatý | | 232-223-6 | 7790-80-9 | T; R23/25 R33 Xn; R68 N; R50-53 | T; N R: 23/25-33-68-50/53 S: (1/2-)22-45-60-61 | C ≥ 25 %: T, N; R23/25-33-50/53-68 10 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/25-33-51/53-68 2,5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/22-33-51/53-68 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/22-33-52/53-68 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/22-33-52/53-68 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|-------------------|-------------------|-----------|------------|---|--|---|-----------------------|
| 048-008-00-3 | chlorid kademnatý | E | 233-296-7 | 10108-64-2 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 2; R46 Repr. kat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23/25 N; R50-53 | T+; N R: 45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 S: 53-45-60-61 | 33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %; Xn; R20/22-33 C ≥ 25 %; T+; N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 10 % ≤ C < 25 %; T+; N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-51/53 7 % ≤ C < 10 %; T+; N; R45-46-60-61-22-26-48/23/25-51/53 2,5 % ≤ C < 7 %; T; N; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; T; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %; T; R45-46-60-61-20/22-48/20/22-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %; T; R45-46-20/22-48/20/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %; T; R45-46-20/22-48/20/22-52/53 0,01 % ≤ C < 0,1 %; T; R45 | |
| 048-009-00-9 | síran kademnatý | E | 233-331-6 | 10124-36-4 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 2; R46 Repr. kat. 2; R60-61 T; R48/23/25 T+; R26 T; R25 N; R50-53 | T+; N R: 45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 S: 53-45-60-61 | C ≥ 25 %; T+; N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 10 % ≤ C < 25 %; T+; N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-51/53 7 % ≤ C < 10 %; T+; N; R45-46-60-61-22-26-48/23/25-51/53 2,5 % ≤ C < 7 %; T; N; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; T; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %; T; R45-46-60-61-20/22-48/20/22-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %; T; R45-46-20/22-48/20/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %; T; R45-46-20/22-48/20/22-52/53 0,01 % ≤ C < 0,1 %; T; R45 | |
| 048-010-00-4 | sulfid kademnatý | E | 215-147-8 | 1306-23-6 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 Repr. kat. 3; R62-63 T; R48/23/25 | T; N R: 45-22-48/23/25-62-63-68-53 S: 53-45-61 | C ≥ 25 %; T; R45-22-48/23/25-62-63-68-53 10 % ≤ C < 25 %; T; R45-22-48/23/25-62-63-68 | 1 |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-----------|--|--|--|-----------------------|
| 050-001-00-5 | tin tetrachloride chlorid cínový | | 231-588-9 | 7646-78-8 | Xn; R22 R53 C; R34 R52-53 | C R: 34-52/53 S: (1/2-)/ 8-26-45-61 | 5 % ≤ C < 10 %: T; R45-48/20/22-62-63-68 1 % ≤ C < 5 %: T; R45-48/20/22-68 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-48/20/22 | |
| 050-005-00-7 | trimethylcín, sloučeniny, s výjimkou sloučenin jmenovitě uvedených jinde v této příloze | A | — | — | T+; R26/27/28 N; R50-53 | T+; N R: 26/27/28-50/53 S: (1/2-)26-27-28-45-60-61 | C ≥ 25 %: T+; N; R26/27/28-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+; N; R26/27/28-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R23/24/25-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R23/24/25 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22 | 1 |
| 050-006-00-2 | triethylcín, sloučeniny, s výjimkou sloučenin jmenovitě uvedených jinde v této příloze | A | — | — | T+; R26/27/28 N; R50-53 | T+; N R: 26/27/28-50/53 S: (1/2-)26-27-28-45-60-61 | C ≥ 25 %: T+; N; R26/27/28-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+; N; R26/27/28-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R23/24/25-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R23/24/25 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22 | 1 |
| 050-007-00-8 | tripropylcín, sloučeniny, s výjimkou sloučenin jmenovitě uvedených jinde v této příloze | A | — | — | T; R23/24/25 N; R50-53 | T; N R: 23/24/25-50/53 S: (1/2-)26-27-28-45-60-61 | C ≥ 25 %: T; N; R23/24/25-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T; N; R23/24/25-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T; R23/24/25-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: Xn; R20/21/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22 | 1 |
| 050-008-00-3 | tributylcín, sloučeniny, s výjimkou sloučenin jmenovitě uvedených | A | — | — | T; R25-48/23/25 | T; N | C ≥ 25 %: T; N; R21-25-36/38- | 1 |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|---|---|------------------------------------|--|---|-----------------------|
| | jinde v této příloze | | | | Xn: R21 Xi: R36/38 N: R50-53 | R: 21-25-36/38-48/23/25-50/53 S: (1/2-)35-36/37/39-45-60-61 | 48/23/25-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %; T, N; R21-25-36/38-48/23/25-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; T; R21-25-36/38-48/23/25-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %; Xn; R22-48/20/22-52/53 | |
| 050-009-00-9 | fluortripentylcín [1]; hexapentylcínnoxan [2] | | 243-546-7 [1] 247-143-7 [2] | 20153-49-5 [1] 25637-27-8 [2] | Xn: R20/21/22 N: R50-53 | Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-) 26-28-60-61 | C ≥ 25 %; Xn, N; R20/21/22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %; Xn, N; R20/21/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; Xn; R20/21/22-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %; R52/53 | 1 |
| 050-010-00-4 | fluortrihexylcín | | 243-547-2 | 20153-50-8 | Xn: R20/21/22 N: R50-53 | Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)26-28-60-61 | C ≥ 25 %; Xn, N; R20/21/22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %; Xn, N; R20/21/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; Xn; R20/21/22-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %; R52/53 | 1 |
| 050-011-00-X | trifenylcín, sloučeniny, s výjimkou sloučenin jmenovitě uvedených jinde v této příloze | A | — | — | T; R23/24/25 N: R50-53 | T; N R: 23/24/25-50/53 S: (1/2-)26-27-28-45-60-61 | C ≥ 25 %; T, N; R23/24/25-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %; T, N; R23/24/25-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; T; R23/24/25-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %; Xn; R20/21/22-52/53 | 1 |
| 050-012-00-5 | tetracyklohexylcín [1] chlortricyklohexylcín [2] butyltricyklohexylcín [3] | A | 215-910-5 [1] 221-437-5 [2] 230-358-5 [3] | 1449-55-4 [1] 3091-32-5 [2] 7067-44-9 [3] | Xn: R20/21/22 N: R50-53 | Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-) 26-28-60-61 | C ≥ 25 %; Xn, N; R20/21/22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %; Xn, N; R20/21/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; Xn; R20/21/22-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %; R52/53 | 1 |
| 050-013-00-0 | trioctylcín, sloučeniny, s výjimkou sloučenin jmenovitě uvedených jinde v této příloze | A | — | — | Xi: R36/37/38 R53 | Xi R: 36/37/38-53 S: (2-)61 | C ≥ 25 %; Xi; R36/37/38-53 1 % ≤ C < 25 %; Xi; R36/37/38 | 1 |
| 051-002-00-3 | chlorid antimoničný | | 231-601-8 | 7647-18-9 | C; R34 N: R51-53 | C; N R: 34-51/53 S: (1/2-)26-45-61 | C ≥ 25 %; C, N; R34-51/53 10 % ≤ C < 25 %; C; R34-52/53 5 % ≤ C < 10 %; Xi; | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|--|---|-----------------------|
| 051-003-00-9 | antimon, sloučeniny, s výjimkou tetraoxidu Sb_2O_4 , pentoxidu Sb_2O_5 , trisulfidu Sb_2S_3 , pentasulfidu Sb_2S_5 a sloučenin jmenovitě uvedených jinde v této příloze | A | — | — | Xn; R20/22 N; R51-53 | Xn; N R: 20/ 22-51/53 S: (2-)*61 | R36/37/38-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: R52/53 C ≥ 25 %: Xn, N; R20/22-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xn; R20/22-52/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/22 | 1 |
| 080-002-00-6 | rtuť, anorganické sloučeniny, s výjimkou siričkatého rtuťatého a sloučenin jmenovitě uvedených jinde v této příloze | A | — | — | T+; R26/27/28 R33 N; R50-53 | T+; N R: 26/27/28-33-50/53 S: (1/2-)*13-28-45-60-61 | C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-33-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-33-51/53 2 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-33-52/53 0,5 % ≤ C < 2 %: T; R23/24/25-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: Xn; R20/21/22-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22-33 | 1 |
| 080-004-00-7 | rtuť, organické sloučeniny, s výjimkou sloučenin jmenovitě uvedených jinde v této příloze | A | — | — | T+; R26/27/28 R33 N; R50-53 | T+; N R: 26/27/28-33-50/53 S: (1/2-)*13-28-36-45-60-61 | C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-33-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-33-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-33-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R23/24/25-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: Xn; R20/21/22-33-52/53 0,05 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22-33 | 1 |
| 080-007-00-3 | dimethylrtuť [1]; diethylrtuť [2] | | 209-805-3 [1] 211-000-7 [2] | 593-74-8 [1] 627-44-1 [2] | T+; R26/27/28 R33 N; R50-53 | T+; N R: 26/27/28-33-50/53 S: (1/2-)*13-28-36-45-60-61 | C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-33-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-33-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R23/24/25-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R23/24/25-33 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22-33 | 1 |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-----------|---|--|--|-----------------------|
| 082-001-00-6 | olovo, sloučeniny, s výjimkou sloučenin jmenovitě uvedených jinde v této příloze | AE | — | — | Repr. kat. 1; R61 Repr. kat. 3; R62 Xn; R20/22 R33 N; R50-53 | T; N R: 61-20/22-33-62-50/53 S: 53-45-60-61 | C ≥ 25 %: T, N; R61-20/22-33-62-50/53 5 % ≤ C < 25 %: T, N; R61-20/22-33-62-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T, N; R61-20/22-33-62-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T, R61-20/22-33-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R61-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: R52/53 | 1 |
| 082-002-00-1 | Alkyl (C1-C5)plumbany | AE | — | — | Repr. kat. 1; R61 Repr. kat. 3; R62 T+; R26/27/28 R33 N; R50-53 | T+; N R: 61-26/27/28-33-62-50/53 S: 53-45-60-61 | C ≥ 25 %: T+; N; R61-26/27/28-33-62-50/53 5 % ≤ C < 25 %: T+; N; R61-26/27/28-33-62-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T+; N; R61-26/27/28-33-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T+; R61-26/27/28-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R61-26/27/28-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R61-23/24/25-33 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22-33 | 1 |
| 601-010-00-3 | ethen | | 200-815-3 | 74-85-1 | F+; R12 R67 | F+ R: 12-67 S: (2)-9-16-33-46 | | |
| 601-014-00-5 | isopren (stabilizovaný) 2-methylbuta-1,3-dien | D | 201-143-3 | 78-79-5 | F+; R12 Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 R52-53 | F+; T R: 45-12-68-52/53 S: 53-45-61 | | |
| 601-017-00-1 | cyklohexan | | 203-806-2 | 110-82-7 | F; R11 Xn; R65 Xi; R38 R67 N; R50-53 | F; Xn; N R: 11-38-65-67-50/53 S: (2)-9-16-25-33-60-61-62 | | 4 6 |
| 601-020-00-8 | benzen | E | 200-753-7 | 71-43-2 | F; R11 Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 T; R48/23/24/25 Xn; R65 Xi; R36/38 | F; T R: 45-46-11-36/38-48/23/24/25-65 S: 53-45 | | |
| 601-021-00-3 | toluen | | 203-625-9 | 108-88-3 | F; R11 | F; Xn | | 4, 6 |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|-------------------------------------|-------------------|-----------|-----------|---|---|--|-----------------------|
| 601-025-00-5 | mesitylen 1,3,5-trimethylbenzen | | 203-604-4 | 108-67-8 | Repr. kat. 3; R63 Xn; R48/20-65 Xi; R38 R67 | R: 11-38-48/20-63-65-67 S: (2-3)6/37-62-46 | C ≥ 25 %: Xi, N; R37-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: R52/53 | |
| 601-027-00-6 | isopropenylbenzen α-methylstyren | | 202-705-0 | 98-83-9 | R10 Xi; R36/37 N; R51-53 | Xi; N R: 10-37-51/53 S: (2-) 61 | C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: R52/53 | |
| 601-028-00-1 | 2-methylstyren 2-vinylnoluen | | 210-256-7 | 611-15-4 | Xn; R20 N; R51-53 | Xn; N R: 20-51/53 S: (2-2)4-61 | C ≥ 25 %: Xn, N; R20-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: R52/53 | |
| 601-032-00-3 | benzo[a]pyren benzo[a]piren | | 200-028-5 | 50-32-8 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 2; R46 Repr. kat. 2; R60-61 R43 N; R50-53 | T; N R: 45-46-60-61-43-50/53 S: 53-45-60-61 | C ≥ 25 %: T, N; R43-45-46-50-53-60-61 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R43-45-46-51-53-60-61 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R43-45-46-52-53-60-61 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-52-53-60-61 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-52-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45 | |
| 601-037-00-0 | hexan | | 203-777-6 | 110-54-3 | F; R11 Repr. kat. 3; R62 Xn; R65-48/20 Xi; R38 R67 N; R51-53 | F; Xn; N R: 11-38-48/20-62-65-67-51/53 S: (2-9-16-29-33-36/37-61-62 | C ≥ 25 %: Xn, N; R38-48/20-62-51/53 20 % ≤ C < 25 %: Xn; R38-48/20-62-52/53 5 % ≤ C < 20 %: Xn; R48/20-62-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: R52/53 | 4 6 |
| 601-041-00-2 | dibenzo[a,h]anthracen | | 200-181-8 | 53-70-3 | Karc. kat. 2; R45 N; R50-53 | T; N R: 45-50/53 S: 53-45-60-61 | C ≥ 25 %: T, N; R45-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R45-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-52/53 0,01 % ≤ C < 0,25 %: T; R45 | |
| 601-048-00-0 | chrysen | | 205-923-4 | 218-01-9 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 N; R50-53 | T; N R: 45-68-50/53 S: 53-45-60-61 | | |
| 601-052-00-2 | naftalen | | 202-049-5 | 91-20-3 | Karc. kat. 3; R40 | Xn; N | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|--------------------------------|--|--|---|---|-----------------------|
| 601-053-00-8 | nonylfenol [1]; 4-nonylfenol, rozvětvený [2] | | 246-672-0 [1] 284-325-5 [2] | 25154-52-3 [1] 84852-15-3 [1] 2] | Xn; R22 N; R50-53 Repr. kat. 3; R62 Repr. kat. 3; R63 Xn; R22 C; R34 N; R50-53 | R: 22-40-50/53 S: (2)-36/37-46-60-61 C; N R: 22-34-62-63-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-46-60-61 | | |
| 602-003-00-8 | dibrommethan | | 200-824-2 | 74-95-3 | Xn; R20 R52-53 | Xn R: 20-52/53 S: (2-)24-61 | C ≥ 25 %; Xn; R20-52/53 12,5 % ≤ C < 25 %; Xn; R20 | |
| 602-008-00-5 | carbontetrachloride tetrachlormethan | | 200-262-8 | 56-23-5 | Karc. kat. 3; R40 T; R23/24/25-48/23 R52-53 N; R59 | T; N R: 23/24/25-40-48 /23-59-52/53 S: (1/2-)23-36/37-45-59-61 | C ≥ 25 %; T; N; R23/24/25-40-48/23-52/53-59 1 % ≤ C < 25 %; T; N; R23/24/25-40-48/23-59 0,2 % ≤ C < 1 %; Xn; N; R20/21/22-48/20-59 0,1 % ≤ C < 0,2 %; N; R59 | |
| 602-010-00-6 | 1,1-dibromethan | E | 203-444-5 | 106-93-4 | Karc. kat. 2; R45 T; R23/24/25 Xi; R36/37/38 N; R51-53 | T; N R: 45-23/24/25-36/37/38-51/53 S: 53-45-61 | C ≥ 25 %; T; N; R45-23/24/25-36/37/38-51/53 20 % ≤ C < 25 %; T; N; R45-23/24/25-36/37/38-52/53 2,5 % ≤ C < 20 %; T; N; R45-23/24/25-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %; T; R45-23/24/25 0,1 % ≤ C < 1 %; T; R45-20/21/22 | |
| 602-011-00-1 | 1,1-dichlorethan | | 200-863-5 | 75-34-3 | F; R11 Xn; R22 Xi; R36/37 R52-53 | F; Xn R: 11-22-36/37-52/53 S: (2-)16-23-61 | C ≥ 25 %; Xn; R22-36/37-52/53 20 % ≤ C < 25 %; Xn; R22-36/37 12,5 % ≤ C < 20 %; Xn; R22 | |
| 602-014-00-8 | 1,1,2-trichlorethan | | 201-166-9 | 79-00-5 | Karc. kat. 3; R40 Xn; R20/21/22 R66 | Xn R: 20/ 21/22-40-66 S: (2-)9-36/37-46 | C ≥ 5 %; Xn; R20/21/22 | |
| 602-015-00-3 | 1,1,2,2-tetrachlorethan | | 201-197-8 | 79-34-5 | T+; R26/27 N; R51-53 | T+; N R: 26/27-51/53 S: (1/2-)38-45-61 | C ≥ 25 %; T+; N; R26/27-51/53 7 % ≤ C < 25 %; T+; R26/27-52/53 2,5 % ≤ C < 7 %; T; R23/24-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %; T; R23/24 0,1 % ≤ C < 1 %; Xn; R20/21 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|---|--|---|---|---|-----------------------|
| 602-016-00-9 | 1,1,2-tetrabromethan | | 201-191-5 | 79-27-6 | T+; R26 Xi; R36 R52-53 | T+ R: 26-36-52/53 S: (1/2)-24-27-45-61 | C ≥ 25 %: T+; R26-36-52/53 20 % ≤ C < 25 %: T+; R26-36 7 % ≤ C < 20 %: T+; R26 1 % ≤ C < 7 %: T; R23 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20 | |
| 602-017-00-4 | pentachlorethan | | 200-925-1 | 76-01-7 | Karc. kat. 3; R40 T; R48/23 N; R51-53 | T; N R: 40-48/23-51/53 S: (1/2)-23-36/37-45-61 | C ≥ 25 %: T, N; R40-48/23-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T; R40-48/23-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R40-48/23 0,2 % ≤ C < 1 %: Xn; R48/20 | |
| 602-019-00-5 | 1-bromopropan propylbromid | | 203-445-0 | 106-94-5 | F; R11 Rep. kat. 2; R60 Rep. kat. 3; R63 Xn; R48/20 Xi; R36/37/38 R67 | T; F R: 60-11-36/37/38-48/20-63-67 S: 53-45 | | |
| 602-025-00-8 | 1,1-dichlorethen vinylidenchlorid | D | 200-864-0 | 75-35-4 | F; R12 Karc. kat. 3; R40 Xn; R20 | F+; Xn R: 12-20-40 S: (2)-7-16-29-36/37-46 | C ≥ 12,5 %: Xn; R20-40 1 % ≤ C < 12,5 %: Xn; R40 | |
| 602-026-00-3 | 1,2-dichlorethen [1]; (Z)-1,2-dichlorethen [2]; (E)-1,2-dichlorethen [3] | C | 208-750-2 [1] 205-859-7 [2] 205-860-2 [3] | 540- 59-0 [1] 156- 59-2 [2] 156- 60-5 [3] | F; R11 Xn; R20 R52-53 | F; Xn R: 11-20-52/53 S: (2)-7-16-29-61 | C ≥ 25 %: Xn; R20-52/53 12,5 % ≤ C < 25 %: Xn; R20 | |
| 602-029-00-X | 3-chlorprop-1-en allylchlorid | D | 203-457-6 | 107-05-1 | F; R11 Karc. kat. 3; R40 Mut. kat. 3; R68 Xn; R20/21/22-48/20 Xi; R36/37/38 N; R50 | F; Xn; N R: 11-20/21/22-36/37/38-40-48/20-68-50 S: (2)-16-25-26-36/37-46-61 | | |
| 602-033-00-1 | chlorbenzen | | 203-628-5 | 108-90-7 | R10 Xn; R20 N; R51-53 | Xn; N R: 10-20-51/53 S: (2)-24/25-61 | C ≥ 25 %: Xn; N; R20-51/53 5 % ≤ C < 25 %: Xn; N; R20-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: R52/53 | |
| 602-034-00-7 | 1,2-dichlorbenzen o-dichlorbenzen | | 202-425-9 | 95-50-1 | Xn; R22 Xi; R36/37/38 N; R50-53 | Xn; N R: 22-36/37/38-50/53 S: (2)-23-60-61 | C ≥ 25 %: Xn; N; R22-36/37/38-50/53 20 % ≤ C < 25 %: Xn; N; R22-36/37/38-51/53 5 % ≤ C < 20 %: Xn; N; R22-51/53 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-----------|--|---|---|-----------------------|
| 602-035-00-2 | 1,4-dichlorbenzen p-dichlorbenzen | | 203-400-5 | 106-46-7 | Xi; R36 Karc. kat. 3; R40 N; R50-53 | Xn; N R: 36-40-50/53 S: (2-3)6/37-46-60-61 | 2,5 % ≤ C < 5 %; N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; R52/53 | |
| 602-036-00-8 | 2-chlorbuta-1,3-dien (stabilizovaný) chloropren | D E | 204-818-0 | 126-99-8 | F; R11 Karc. kat. 2; R45 Xn; R20/22-48/20 Xi; R36/37/38 | F; T R: 45-11-20/22-36/37/38-48/20 S: 53-45 | | |
| 602-039-00-4 | polychlorované bifenyly PCB | C | 215-648-1 | 1336-36-3 | R33 N; R50-53 | Xn; N R: 33-50/53 S: (2-3)5-60-61 | C ≥ 25 %; Xn, N; R33-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %; Xn, N; R33-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; Xn, N; R33-52/53 0,005 % ≤ C < 0,25 %; Xn; R33 | |
| 602-043-00-6 | γ-hch or γ-BHC γ-1,2,3,4,5,6-hexachlorcyklohexan lindan (ISO) hexan | | 200-401-2 | 58-89-9 | T; R25 Xn; R20/21-48/22 R64 N; R50-53 | T; N R: 20/21-25-48/22-64-50/53 S: (1/2-3)6/37-45-60-61 | C ≥ 25 %; T, N; R20/21-25-48/22-64-50-53 10 % ≤ C < 25 %; Xn, N; R22-48/22-64-50-53 3 % ≤ C < 10 %; Xn, N; R22-64-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %; N; R64-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %; N; R64-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %; N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; R52-53 | |
| 602-062-00-X | 1,2,3-trichlorpropan | D | 202-486-1 | 96-18-4 | Karc. kat. 2; R45 Repr. kat. 2; R60 Xn; R20/21/22 | T R: 45-60-20/21/22 S: 53-45 | | |
| 602-073-00-X | 1,4-dichlorbut-2-en | E | 212-121-8 | 764-41-0 | Karc. kat. 2; R45 T+; R26 T; R24/25 C; R34 N; R50-53 | T+; N R: 45-24/25-26-34-50/53 S: 53-45-60-61 | C ≥ 25 %; T+; N; R45-24/25-26-34-50/53 10 % ≤ C < 25 %; T+; N; R45-21/22-26-34-51/53 7 % ≤ C < 10 %; T+; N; R45-21/22-26-36/37/38-51/53 5 % ≤ C < 7 %; T, N; R45-21/22-23-36/37/38-51/53 3 % ≤ C < 5 %; T, N; R45-21/22-23-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %; T, N; R45-23-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; T; R45-23-52/53 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---|--|--|-----------------------|
| 603-006-00-7 | pentanol, isomery, s výjimkou isomerů uvedených jinde v této příloze | C | 250-378-8 | 30899-19-5 | R10 Xn; R20 Xi; R37 R66 | Xn R: 10-20-37-66 S: (2-)46 | 0,25 % ≤ C < 1 %: T; R45-20-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-20 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45 | |
| 603-007-00-2 | 2-methylbutan-2-ol terc-pentanol | | 200-908-9 | 75-85-4 | F; R11 Xn; R20 Xi; R37/38 | F; Xn R: 11-20-37/38 S: (2-)46 | | |
| 603-029-00-2 | bis(2-chlorethyl)ether | | 203-870-1 | 111-44-4 | R10 Karc. kat. 3; R40 T+; R26/27/28 | T+ R: 10-26/27/28-40 S: (1/2-)7/9-27-28-36/37-45 | C ≥ 7 %: T+; R26/27/28-40 1 % ≤ C < 7 %: T; R23/24/25-40 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22 | |
| 603-030-00-8 | 2-aminoethanol ethanolamin | | 205-483-3 | 141-43-5 | Xn; R20/21/22 C; R34 | C R: 20/21/22-34 S: (1/2-)26-36/37/39-45 | C ≥ 25 %: C; R20/21/22-34 10 % ≤ C < 25 %: C; R34 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38 | |
| 603-031-00-3 | 1,2-dimethoxyethan dimethylglykol EGDME | | 203-794-9 | 110-71-4 | Repr. kat. 2; R60 Repr. kat. 2; R61 F; R11 R19 Xn; R20 | F; T R: 60-61-11-19-20 S: 53-45 | | |
| 603-054-00-9 | di-n-butyl-ether dibutylether | | 205-575-3 | 142-96-1 | R10 Xi; R36/37/38 R52-53 | Xi R: 10-36/37/38-52/53 S: (2-)61 | C ≥ 10 %: Xi; R36/37/38 | |
| 603-063-00-8 | 2,3-epoxypropan-1-ol glycidol oxiranylmethanol | E | 209-128-3 | 556-52-5 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 Repr. kat. 2; R60 T; R23 Xn; R21/22 Xi; R36/37/38 | T R: 45-60-21/22-23-36/37/38-68 S: 53-45 | | |
| 603-066-00-4 | 1,2-epoxy-4-(1,2-epoxyethyl)cyclohexan vinylcyclohexane diepoxide | | 203-437-7 | 106-87-6 | T; R23/24/25 Xn; R68 | T R: 23/24/25-68 S: (1/2-)23-24-45 | C ≥ 1 %: T; R23/24/25-68 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22 | |
| 603-067-00-X | phenyl glycidyl ether 2-epoxy-3-fenoxypropan feny(glycidyl)ether | E | 204-557-2 | 122-60-1 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 Xn; R20 Xi; R37/38 | T R: 45-20-37/38-43-68-52/53 S: 53-45-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|--|--|---|-----------------------|
| 603-070-00-6 | 2-amino-2-methylpropan-1-ol | | 204-709-8 | 124-68-5 | R43 R52-53 Xi; R36/38 R52-53 | Xi R: 36/38-52/53 S: (2-)/61 | C ≥ 25 %; Xi; R36/38-52/53 10 % ≤ C < 25 %; Xi; R36/38 | |
| 603-074-00-8 | epoxidová pryskyřice z bisfenolu A a epichlorhydrinu (střední číselná molekulová hmotnost ≤ 700) | | 500-033-5 | 25068-38-6 | Xi; R36/38 R43 N; R51-53 | Xi; N R: 36/38-43-51/53 S: (2-)/28-37/39-61 | C ≥ 25 %; Xi, N; R36/38-43-51/53 5 % ≤ C < 25 %; Xi; R36/38-43-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %; Xi; R43-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %; Xi; R43 | |
| 603-076-00-9 | but-2-yn-1,4-diol 2-butyne-1,4-diol | D | 203-788-6 | 110-65-6 | C; R34 T; R23/25 Xn; R21-48/22 R43 | C; T R: 21-23/25-34-43-48/22 S: (1/2-)/25-26-36/37/39-45-46 | C ≥ 50 %; T; R21-23/25-34-48/22-43 25 % ≤ C < 50 %; T; R21-23/25-36/38-48/22-43 10 % ≤ C < 25 %; Xn; R20/22-48/22-43 3 % ≤ C < 10 %; Xn; R20/22-43 1 % ≤ C < 3 %; Xi; R43 | |
| 603-095-00-2 | 2-propoxyethan-1-ol EGPE | | 220-548-6 | 2807-30-9 | Xn; R21 Xi; R36 | Xn R: 21-36 S: (2-)/26-36/37-46 | | |
| 603-105-00-5 | furan | E | 203-727-3 | 110-00-9 | F+; R12 R19 Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 Xn; R20/22-48/22 Xi; R38 R52-53 | F+; T R: 45-12-19-20/22-38-48/22-68-52/53 S: 53-45-61 | | |
| 604-001-00-2 | fenol carbolic acid monohydroxybenzene phenylalcohol | | 203-632-7 | 108-95-2 | Mut. kat. 3; R68 T; R23/24/25 Xn; R48/20/21/22 C; R34 | T; C R: 23/24/25-34-48/20/21/22-68 S: (1/2-)/24/25-26-28-36/37/39-45 | C ≥ 10 %; T; R23/24/25-48/20/21/22-34-68 3 % ≤ C < 10 %; C; Xn; R20/21/22-34-68 1 % ≤ C < 3 %; Xn; R36/38-68 | |
| 604-009-00-6 | benzen-1,2,3-triol pyrogallol | | 201-762-9 | 87-66-1 | Mut. kat. 3; R68 Xn; R20/21/22 R52-53 | Xn R: 20/21/22-68-52/53 S: (2-) 36/37-61 | C ≥ 25 %; Xn; R20/21/22-68-52/53 10 % ≤ C < 25 %; Xn; R20/21/22-68 1 % ≤ C < 10 %; Xn; R68 | |
| 604-010-00-1 | benzen-1,3-diol resorcinol | | 203-585-2 | 108-46-3 | Xn; R22 Xi; R36/38 | Xn; N R: 22-36/38-50 | C ≥ 25 %; Xn, N; R22-36/38-50 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-----------|--|---|---|-----------------------|
| | | | | | N; R50 | S: (2-)26-61 | 20 % ≤ C < 25 %: Xn; R22-36/38 10 % ≤ C < 20 %: Xn; R22 | |
| 604-012-00-2 | 4-chlor-2-methylfenol 4-chlor-o-kresol | | 216-381-3 | 1570-64-5 | T; R23 C; R35 N; R50 | T; C; N R: 23-35-50 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61 | C ≥ 25 %: T, C, N; R23-35-50 10 % ≤ C < 25 %: C; R20-35 5 % ≤ C < 10 %: C; R20-34 3 % ≤ C < 5 %: Xn; R20-36/37/38 1 % ≤ C < 3 %: Xi; R36/37/38 | |
| 604-013-00-8 | 2,3,4,6-tetrachlorfenol | | 200-402-8 | 58-90-2 | T; R25 Xi; R36/38 N; R50-53 | T; N R: 25-36/38-50/53 S: (1/2-)26-28-37-45-60-61 | C ≥ 25 %: T, N; R25-36/38-50/53 20 % ≤ C < 25 %: T, N; R25-51/53 5 % ≤ C < 20 %: T, N; R25-36/38-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R22-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R22-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: R52/53 | |
| 604-014-00-3 | 4-chlor-3-methylfenol 4-chlor-m-kresol 4-chloro-3-methylphenol | | 200-431-6 | 59-50-7 | Xn; R21/22 Xi; R41 R43 N; R50 | Xn; N R: 21/22-41-43-50 S: (2-)26-36/37/39-61 | C ≥ 25 %: Xn, N; R21/22-41-43-50 10 % ≤ C < 25 %: Xn; R21/22-41-43 5 % ≤ C < 10 %: Xn; R21/22-36-43 1 % ≤ C < 5 %: Xi; R43 | |
| 604-015-00-9 | 3,3',4,4',6,6'-hexachlor-2,2'-methylendianilin 2,2'-methylenbis(3,4,6-trichlorfenol) hexachlorfenol | | 200-733-8 | 70-30-4 | T; R24/25 N; R50-53 | T; N R: 24/25-50/53 S: (1/2-)20-37-45-60-61 | C ≥ 25 %: T, N; R24/25-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R24/25-51/53 2 % ≤ C < 2,5 %: T; R24/25-52/53 0,25 % ≤ C < 2 %: Xn; R21/22-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R21/22 | |
| 604-017-00-X | 2,4,5-trichlorfenol | | 202-467-8 | 95-95-4 | Xn; R22 Xi; R36/38 N; R50-53 | Xn; N R: 22-36/38-50/53 S: (2-)26-28-60-61 | C ≥ 25 %: Xn, N; R22-36/38-50/53 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-36/38-51/53 5 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R36/38-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---|--|--|-----------------------|
| 604-030-00-0 | 2,2-bis(4-hydroxyfenyl)propan bisfenol A | | 201-245-8 | 80-05-7 | Repr. kat. 3; R62 Xi; R37-41 R43 | Xi R: 37-41-43-62 S: (2)-26-36/37-39-46 | | |
| 605-002-00-0 | 1,3,5-trioxan trioxymethylen | | 203-812-5 | 110-88-3 | F; R11 Repr. kat. 3; R63 Xi; R37 | F; Xn R: 11-37-63 S: (2)-36/37-46 | | |
| 605-016-00-7 | glyoxal...% ethandial...% | B | 203-474-9 | 107-22-2 | Mut. kat. 3; R68 Xn; R20 Xi; R36/38 R43 | Xn R: 20-36/38-43-68 S: (2)-36/37 | C ≥ 10 %: Xn; R20-36/38-43-68 1 % ≤ C < 10 %: Xn; R43-68 | |
| 605-020-00-9 | saftol5-allyl-2H-1,3-benzodioxol | E | 202-345-4 | 94-59-7 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 Xn; R22 | T R: 45-22-68 S: 53-45 | | |
| 605-022-00-X | glutaral pentandial glutaraldehyd | | 203-856-5 | 111-30-8 | T; R23/25 C; R34 R42/43 N; R50 | T; N R: 23/25-34-42/43-50 S: (1/2)-26-36/37/39-45-61 | C ≥ 50 %: T, N; R23/25-34-42/43-50 25 % ≤ C < 50 %: T; R22-23-34-42/43 10 % ≤ C < 25 %: C; R20/22-34-42/43 2 % ≤ C < 10 %: Xn; R20/22-37/38-41-42/43 1 % ≤ C < 2 %: Xn; R36/37/38-42/43 0,5 % ≤ C < 1 %: Xi; R36/37/38-43 | |
| 605-025-00-6 | chloroethanal chloroacetaldehyd | | 203-472-8 | 107-20-0 | Karc. kat. 3; R40 T+; R26 T; R24/25 C; R34 N; R50 | T+; N R: 24/25-26-34-40-50 S: (1/2)-26-28-36/37/39-45-61 | C ≥ 25 %: T+; N; R24/25-26-34-40-50 10 % ≤ C < 25 %: T+; R21/22-26-34-40 7 % ≤ C < 10 %: T+; R21/22-26-36/37/38-40 5 % ≤ C < 7 %: T; R21/22-23-36/37/38-40 3 % ≤ C < 5 %: T; R21/22-23-40 1 % ≤ C < 3 %: T; R23-40 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20 | |
| 606-037-00-4 | triadimefon (ISO) 1-(4-chlorfenoxy)-3,3-dimethyl-1-(1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-on | | 256-103-8 | 43121-43-3 | Xn; R22 R43 N; R51-53 | Xn; N R: 22-43-51/53 S: (2)-24-37-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|------------------|----------------|---|--|--|-----------------------|
| 606-048-00-4 | 2'-anilino-6'-(dipentylamino)-3'-methylspiro[isobenzofuran-1(1H),9'-xanthen]-3-on | | 406-480-1 | — | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 607-004-00-7 | trichloroctová kyselina | | 200-927-2 | 76-03-9 | C: R35 N: R50-53 | C: N R: 35-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61 | C ≥ 25 %: C, N; R35-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R35-51/53 5 % ≤ C < 10 %: C, N; R34-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi, N; R36/37/38-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R36/37/38-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53 | |
| 607-019-00-9 | methyl-chlorformiát | | 201-187-3 | 79-22-1 | F: R11 T+: R26 Xn: R21/22 C: R34 | F: T+ R: 11-21/22-26-34 S: (1/2-)26-14-28-36/37-39-36/37/39-45-46-63 | | |
| 607-049-00-2 | mekoprop (ISO) a jeho soli 2-(4-chlor-2-methylfenoxy)propanová kyselina 230-386-8 [1] 202-264-4 [2] | | 7085-19-0 [1] | 93-65-2 [2] | Xn: R22 Xi: R38-41 N: R50-53 | Xn: N R: 22-38-41-50/53 S: (2-)1 3-26-37/39-60-61 | C ≥ 25 %: Xn, N; R22-38-41-50-53 20 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R38-41-50-53 10 % ≤ C < 20 %: Xi, N; R41-50-53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36-50-53 0,25 % ≤ C < 5 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53 | |
| 607-053-00-4 | MCPB (ISO) 4-(4-chlor-2-methylfenoxy)butanová kyselina | | 202-365-3 | 94-81-5 | N: R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 607-061-00-8 | akrylová kyselina prop-2-enová kyselina | D | 201-177-9 | 79-10-7 | R10 Xn: R20/21/22 C: R35 N: R50 | C: N R: 10-20/21/22-35-50 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61 | C ≥ 25 %: C, N; R20/21/22-35-50 10 % ≤ C < 25 %: C; R35 5 % ≤ C < 10 %: C; R34 1 % ≤ C < 5 %: Xi; R36/37/38 | |
| 607-064-00-4 | benzyl-chlorformiát | | 207-925-0 | 501-53-1 | C: R34 N: R50-53 | C: N R: 34-50/53 S: (1/2-)26-45-60-61 | C ≥ 25 %: C, N; R34-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R34-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36/37/38-51/53 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-----------|---|---|---|-----------------------|
| 607-072-00-8 | 2-hydroxyethyl-akrylát | D | 212-454-9 | 818-61-1 | T; R24 C; R34 R43 N; R50 | T; N R: 24-34-43-50 S: (1/2-)26-36/39-45-61 | 2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53 C ≥ 2,5 %: T; R24-34-43-50 10 % ≤ C < 25 %: T; R24-34-43 5 % ≤ C < 10 %: T; R24-36/38-43 2 % ≤ C < 5 %: T; R24-43 0,2 % ≤ C < 2 %: Xn; R21-43 | |
| 607-086-00-4 | diallyl-ftalát | | 205-016-3 | 131-17-9 | Xn; R22 N; R50-53 | Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)24/25-60-61 | C ≥ 2,5 %: Xn; N; R22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53 | |
| 607-091-00-1 | trifluoracetová kyselina...% | B | 200-929-3 | 76-05-1 | Xn; R20 C; R35 R52-53 | C R: 20-35-52/53 S: (1/2-)9-26-27-28-45-61 | C ≥ 2,5 %: C; R20-35-52/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R20-35 5 % ≤ C < 10 %: C; R34 1 % ≤ C < 5 %: Xi; R36/38 | |
| 607-094-00-8 | peroxyoctová kyselina | | 201-186-8 | 79-21-0 | R10 O; R7 Xn; R20/21/22 C; R35 N; R50 | O; C; N R: 7-10-20/21/22-35-50 S: (1/2-)3/7-14-36/37/39-45-61 | C ≥ 2,5 %: C; N; R20/21/22-35-50 10 % ≤ C < 25 %: C; R20/21/22-35 5 % ≤ C < 10 %: C; R34 1 % ≤ C < 5 %: Xi; R36/37/38 | |
| 607-107-00-7 | 2-ethylhexyl-akrylát | D | 203-080-7 | 103-111-7 | Xi; R37/38 R43 | Xn R: 37/38-43 S: (2-)36/37-46 | C ≥ 2,0 %: Xi; R37/38-43 1 % ≤ C < 2,0 %: Xi; R43 | |
| 607-113-00-X | isobutyl-methakrylát | D | 202-613-0 | 97-86-9 | R10 Xi; R36/37/38 R43 N; R50 | Xi; N R: 10-36/37/38-43-50 S: (2-)24-37-61 | C ≥ 2,5 %: Xi; N; R36/37/38-43-50 20 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/37/38-43 1 % ≤ C < 2,0 %: Xi; R43 | |
| 607-116-00-6 | cyklohexyl-akrylát | D | 221-319-3 | 3066-71-5 | Xi; R37/38 N; R51-53 | Xi; N R: 37/38-51/53 S: (2-)61 | C ≥ 2,5 %: Xi; N; R37/38-51/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi; R37/38-52/53 2,5 % ≤ C < 10 %: R52/53 | |
| 607-133-00-9 | alkyl-, aryl- nebo alkyaryl-akryláty (estery), s výjimkou akrylátů jmenovitě uvedených jinde v této příloze | A | — | — | Xi; R36/37/38 N; R51-53 | Xi; N R: 36/37/38-51/53 S: (2-)26-28-61 | C ≥ 2,5 %: Xi; N; R36/37/38-51/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/37/38-52/53 2,5 % ≤ C < 10 %: R52/53 | |
| 607-151-00-7 | propargit (ISO) 2-(4-tert-butylfenoxi) | | 219-006-1 | 2312-35-8 | Karc. kat. 3; R40 T; R23 | T; N R: 23-38-40-41-50/53 | C ≥ 2,5 %: T; N; R23-38-40-41-50-53 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---|--|--|-----------------------|
| | cyklohexyl-prop-2-yn-1-yl-sulfát | | | | Xi; R38-41 N; R50-53 | S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61 | 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20-38-40-41-50-53 10 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R20-40-41-50-53 5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20-40-36-50-53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R20-40-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: Xn, N; R40-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn, N; R40-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53 | |
| 607-189-00-4 | propan-1,3-diamintetraoctová kyselina | | 400-400-9 | 1939-36-2 | Xn; R22 Xi; R41 N; R50-53 | Xn; N R: 22-41-50/53 S: (2-)22-26-39-60-61 | | |
| 607-244-00-2 | isookryl-akrylát isookryl-prop-2-enoát/2,2,4-trimethylpentyldiakrylát | | 249-707-8 | 29590-42-9 | Xi; R36/37/38 N; R50-53 | Xi; N R: 36/37/38-50/53 S: (2-)26-28-60-61 | C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37/38-50/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R36/37/38-51/53 2,5 % ≤ C < 10 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53 | |
| 607-245-00-8 | terc-butyl-akrylát | D | 216-768-7 | 1663-39-4 | F; R11 Xn; R20/21/22 Xi; R37/38 R43 N; R52-53 | F; Xn R: 11-20/21/22-37/38-43-52/53 S: (2-)16-25-37-61 | C ≥ 25 %: Xn; R20/21/22-37/38-43-52-53 20 % ≤ C < 25 %: Xi; R37/38-43 1 % ≤ C < 20 %: Xi; R43 | |
| 607-247-00-9 | dodecyl-methakrylát | | 205-570-6 | 142-90-5 | Xi; 36/37/38 N; R50-53 | Xi; N R: 36/37/38-50/53 S: (2-)26-28-60-61 | C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37/38-50/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R36/37/38-51/53 2,5 % ≤ C < 10 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,50 %: R52/53 | |
| 607-249-00-X | tripropylenglykol-diakrylát(methylethylen)bis[oxy(methylethylen)]diakrylát | | 256-032-2 | 42978-66-5 | Xi; R36/37/38 R43 N; R51-53 | Xi; N R: 36/37/38-43-51/53 S: (2-)24-37-61 | C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37/38-43-51/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/37/38-43-52/53 2,5 % ≤ C < 10 %: Xi; R43-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43 | |
| 608-003-00-4 | akrylonitril | D E | 203-466-5 | 107-13-1 | F; R11 Karc. kat. 2; R45 | F; T; N R: 45-11-23/24/25-37/38-41-43-51/53 | C ≥ 25 %: T, N; R45-23/24/25-37/38-41-43-51/53 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-----------|---|--|---|-----------------------|
| 608-006-00-0 | bromoxynil (ISO) a jeho soli 3, 5-dibrom-4-hydroxybenzozonitril bromoxynil phenol | | 216-882-7 | 1689-84-5 | Repr. kat. 3; R63 T+; R26 T; R25 R43 N; R50-53 | 37/38-41-43-51/53 S: 9-16-53-45-61 | 20 % ≤ C < 25 %: T; R45-23/24/25-37/38-41-43-52/53 10 % ≤ C < 20 %: T; R45-23/24/25-41-43-52/53 5 % ≤ C < 10 %: T; R45-23/24/25-36-43-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T; R45-23/24/25-43-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23/24/25-43 0,2 % ≤ C < 1 %: T; R45-20/21/22 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45 | |
| 608-007-00-6 | ioxynil (ISO) a jeho soli 4-hydroxy-3,5-dijodobenzonitril | | 216-881-1 | 1689-83-4 | Repr. kat. 3; R63 T; R23/25 Xn; R21-48/22 Xi; R36 N; R50-53 | T; N R: 25-26-43-63-50/53 S: (1/2-)27/28-36/37-45-63-60-61 | C ≥ 25 %: T+; N; R25-26-43-63-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+; N; R22-26-43-63-50-53 5 % ≤ C < 7 %: T; N; R22-23-43-63-50-53 3 % ≤ C < 5 %: T; N; R22-23-43-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: T; N; R23-43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; N; R23-43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20-51-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20-52-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: R52-53 | |
| 608-010-00-2 | methakrylonitril 2-methylprop-2-enitril | D | 204-817-5 | 126-98-7 | F; R11 T; R23/24/25 R43 | F; T R: 11-23/24/25-43 S: (1/2-)9-16-18-29-45 | C ≥ 1 %: T; R23/24/25-43 0,2 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22-43 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|---------------|----------------------------|--|--|--|-----------------------|
| 608-014-00-4 | chlorthalomil (ISO) tetrachlorisofthalonitril | | 217-588-1 | 1897-45-6 | Karc. kat. 3; R40 T+; R26 Xi; R41 Xi; R37 R43 N; R50-53 | T+; N R: 26-37-40-41-43-50/53 S: (2-) 28-36/37/39-45-60-61 | C ≥ 20 %: T+, N; R26-37-40-41-43-50-53 10 % ≤ C < 20 %: T+, N; R26-40-41-43-50-53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R26-40-36-43-50-53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R23-40-36-43-50-53 2,5 % ≤ C < 5 %: T, N; R23-40-43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: T, N; R23-40-43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20-51-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20-52-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: R52-53 | |
| 608-017-00-0 | bromoxyniloktanoát (ISO) (2,6-dibrom-4-kyanfenyl)-oktanoát | | 216-885-3 | 1689-99-2 | Repr. kat. 3; R63 T; R23 Xn; R22 R43 N; R50-53 | T; N R: 22-23-43-63-50/53 S: (1/2-) 36/37-45-63-60-61 | 1 % ≤ C < 2,5 %: N; R43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 C ≥ 2,5 %: T, N; R22-23-43-63-50-53 5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20-43-63-50-53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R20-43-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: N; R43-50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53 | |
| 608-018-00-6 | ioxyniloktanoát (ISO) (2,6-dijod-4-kyanfenyl)-oktanoát | | 223-375-4 | 3861-47-0 | Repr. kat. 3; R63 T; R25 Xi; R36 R43 N; R50-53 | T; N R: 25-36-43-63-50/53 S: (1/2-) 26-36/37-45-60-61 | C ≥ 25 %: T, N; R25-36-43-63-50-53 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-36-43-63-50-53 5 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R22-43-63-50-53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R22-43-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: N; R43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: N; R43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53 | |
| 608-021-00-2 | 3-[(2-[(diaminomethyliden)amino]thiazol-4-yl)methyl]sulfanyl]propannitril | | 403-710-2 | 76823-93-3 | Xn; R22 R43 | Xn R: 22-43 S: (2-) 22-24-37 | | |
| 609-007-00-9 | 2,4-dinitrotoluen dinitrotoluen technický | E | 204-450-0 [1] | 121-14-2 [1] 25321-14-6 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 | T; N R: 45-23/24/25-48/22- | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|---------------|------------|---|--|---------------------|-----------------------|
| | [1] dinitrotoluen [2] | | 246-836-1 [2] | [2] | Repr. kat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R51-53 | 62-68-51/53 S: 53-45-61 | | |
| 609-023-00-6 | dimokap (ISO) [4-(1-methylheptyl)-2,6-dinitrofenyl]-but-2-enoát, [4-(1-ethylhexyl)-2,6-dinitrofenyl]-but-2-enoát, [4-(1-propylpentyl)-2,6-dinitrofenyl]-but-2-enoát; [2-(1-methylheptyl)-4,6-dinitrofenyl]-but-2-enoát, [2-(1-ethylhexyl)-4,6-dinitrofenyl]-but-2-enoát, [2-(1-propylpentyl)-4,6-dinitrofenyl]-but-2-enoát (směs) | E | 254-408-0 | 39300-45-3 | Repr. kat. 2; R61 Xn; R20-48/22 Xi; R38 R43 N; R50-53 | T; N R: 61-20-22-38-43-48/22-50/53 S: 53-45-60-61 | | |
| 609-043-00-5 | kvintozen (ISO) pentaclomitrobenzen | | 201-435-0 | 82-68-8 | R43 N; R50-53 | Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)/3-24-37-60-61 | | |
| 609-049-00-8 | 2-methyl-1,3-dinitrobenzen | E | 210-106-0 | 606-20-2 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 Repr. kat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 R52-53 | T R: 45-23/24/25-48/22-62-52/53 S: 53-45-61 | | |
| 609-050-00-3 | 1-methyl-2,3-dinitrobenzen | E | 210-013-5 | 602-01-7 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 Repr. kat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R50-53 | T; N R: 45-23/24/25-48/22-62-68-50/53 S: 53-45-60-61 | | |
| 609-051-00-9 | 4-methyl-1,2-dinitrobenzen | E | 210-222-1 | 610-39-9 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 Repr. kat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R51-53 | T; N R: 45-23/24/25-48/22-62-68-51/53 S: 53-45-61 | | |
| 609-052-00-4 | 3,5-dinitrotoluen | E | 210-566-2 | 618-85-9 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 Repr. kat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 R52-53 | T R: 45-23/24/25-48/22-62-68-52/53 S: 53-45-61 | | |
| 609-055-00-0 | 2,5-dinitrotoluen | E | 210-581-4 | 619-15-8 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 Repr. kat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R51-53 | T; N R: 45-23/24/25-48/22-62-68-51/53 S: 53-45-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|--|---|--|-----------------------|
| 609-056-00-6 | 2,2-dibrom-2-nitroethan-1-ol | | 412-380-9 | 69094-18-4 | E; R2 Karc. kat. 3; R40 Xn; R22-48/22 C; R35 R43 N; R50-53 | E; C; N R: 2-22-35-40-43-48/22-50/53 S: (1/2-2)23-26-35-36/37/39-45-60-61 | C ≥ 25 %; C, N; R22-35-40-43-48/22-50/53 10 % ≤ C < 25 %; C, N; R22-35-40-43-48/22-51/53 5 % ≤ C < 10 %; C, N; R34-40-43-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %; Xn, N; R36/37/38-40-43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; Xn; R36/37/38-40-43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %; R52/53 | |
| 610-005-00-5 | 1-chlor-4-nitrobenzen | | 202-809-6 | 100-00-5 | Karc. kat. 3; R40 Mut. kat. 3; R68 T; R23/24/25 Xn; R48/20/21/22 N; R51-53 | T; N R: 23/24/25-40-48/20/21/22-68-51/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61 | | |
| 611-001-00-6 | azobenzen | E | 203-102-5 | 103-33-3 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 Xn; R20/22-48/22 N; R50-53 | T; N R: 45-20/22-48/22-68-50/53 S: 53-45-60-61 | | |
| 611-060-00-8 | směs: natrium-5-[8-[4-(4-[7-(3,5-dikarboxylatofenylazo)-8-hydroxy-3,6-disulfonato-1-naftylamino]-6-hydroxy-1,3,5-triazin-2-yl)]-2,5-dimethylpiperazin-1-yl]-6-hydroxy-1,3,5-triazin-2-ylamino]-1-hydroxy-3,6-disulfonato-2-naftylazo]-isofthalát, amonium-5-[8-[4-(4-[7-(3,5-dikarboxylatofenylazo)-8-hydroxy-3,6-disulfonato-1-naftylamino]-6-hydroxy-1,3,5-triazin-2-yl)]-2,5-dimethylpiperazin-1-yl]-6-hydroxy-1,3,5-triazin-2-ylamino]-1-hydroxy-3,6-disulfonato-2-naftylazo]-isofthalát a 5-[8-[4-(4-[7-(3,5-dikarboxylatofenylazo)-8-hydroxy-3,6-disulfonato-1-naftylamino]-6-hydroxy-1,3,5-triazin-2-yl)]-2,5-dimethylpiperazin-1-yl]-6-hydroxy-1,3,5-triazin-2-ylamino]-1-hydroxy-3,6-disulfonato-2-naftylazo]-isofthalát | | 413-180-4 | — | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2-)22-26-39 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|--|---|---|---|---|-----------------------|
| 611-063-00-4 | ylamino]-1-hydroxy-3,6-disulfonato-2-naftylazo]-isofthalová kyselina. | | 413-590-3 | 164058-22-4 | Karc. kat. 2; R45 T R: 45 S: 53-45 | | | |
| 612-008-00-7 | {5-[(8-acetamido-3,6-disulfonato-2-naftylazo]-5'-[(6-benzamido-3-sulfonato-2-naftylazo)]bifenyl-3,4,3',4'-tetrolato)měďnatý komplex, trisodná sůl | | 200-539-3 | 62-53-3 | Karc. kat. 3; R40 Mut. kat. 3; R68 T; R23/24/25-48/23/24/25 Xi; R41 R43 N; R50 | T; N R: 23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-68-50 S: (1/2-)26-27-36/37/39-45-46-61-63 | C ≥ 25 %; T, N; R23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-50-68 10 % ≤ C < 25 %; T; R20/21/22-40-41-43-48/23/24/25-68 1 % ≤ C < 10 %; T; R20/21/22-40-43-48/23/24/25-68 0,2 % ≤ C < 1 %; Xn; R48/20/21/22 | |
| 612-009-00-2 | anilín, soli | A | — | — | Karc. kat. 3; R40 Mut. kat. 3; R68 T; R23/24/25-68-50 /24/25 Xi; R41 R43 N; R50 | T; N R: 23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-68-50 S: (1/2-)26-27-36/37/39-45-61-63 | C ≥ 25 %; T, N; R23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-50-68 10 % ≤ C < 25 %; T; R20/21/22-40-41-43-48/23/24/25-68 1 % ≤ C < 10 %; T; R20/21/22-40-43-48/23/24/25-68 0,2 % ≤ C < 1 %; Xn; R48/20/21/22 | |
| 612-010-00-8 | chloraniliny (s výjimkou chloranilinů uvedených jinde v této příloze) | C | — | — | T; R23/24/25 R33 N; R50-53 | T; N R: 23/24/25-33-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61 | | |
| 612-022-00-3 | naftalen-2-amin-2-naftylamin | E | 202-080-4 | 91-59-8 | Karc. kat. 1; R45 Xn; R22 N; R51-53 | T; N R: 45-22-51/53 S: 53-45-61 | C ≥ 25 %; T, N; R45-22-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %; T; R45-52/53 0,01 % ≤ C < 2,5 %; T; R45 | |
| 612-023-00-9 | fenylhydrazin [1] fenylhydrazinium-chlorid [2] fenylhydrazin-hydrochlorid [3] fenylhydrazinium-sulfát (2:1) [4] | E | 202-873-5 [1] 200-444-7 [2] 248-259-0 [3] 257-622-2 [4] | 100-63-0 [1] 59-88-1 [2] 27140-08-5 [3] 52033-74-6 [4] | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 T; R23/24/25-48/23/24/25 Xi; R36/38 R43 N; R50 | T; N R: 45-23/24/25-36/38-43-48/23/24/25-68-50 S: 53-45-61 | | |
| 612-025-00-X | methyl-nitroaminy, | C | — | — | T; R23/24/25 | T; N | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|---|---|---|---|---|-----------------------|
| 612-035-00-4 | s výjimkou methyl-nitroamilimů uvedených jinde v této příloze | E | 201-963-1 | 90-04-0 | R33 N; R51-53 | R: 23/24/25-33-51/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61 | | |
| 612-042-00-2 | 2- methoxyanilino-anisidin | E | 202-199-1 | 92-87-5 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 T; R23/24/25 | T R: 45-23/24/25-68 S: 53-45 | C ≥ 2,5 %; T; N; R45-22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %; T; N; R45-51/53 0,01 % ≤ C < 2,5 %; T; R45 | |
| 612-051-00-1 | benzidin 4,4'-diaminobifenylyl bifenylyl-4,4'-diamin bifenylyl-4,4'-diyl-diamin | E | 202-974-4 | 101-77-9 | Karc. kat. 2; R45Mut. kat. 3; R68 T; R39/23/24/25 Xn; R48/20/21/22 R43 N; R51-53 | T; N R: 45-39/23/24/25-43-48/20/21/22-68-51/53 S: 53-45-61 | | |
| 612-054-00-8 | N,N-diethylanilin | | 202-088-8 | 91-66-7 | T; R23/24/25 R33 N; R51-53 | T; N R: 23/24/25-33-51/53 S: (1/2-)28-37-45-61 | C ≥ 2,5 %; T; N; R23/24/25-33-51/53 5 % ≤ C < 25 %; T; R23/24/25-33-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %; Xn; R20/21/22-33-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %; Xn; R20/21/22-33 | |
| 612-056-00-9 | N,N-dimethyl-p-toluidin [1] N,N-dimethyl-m-toluidin [2] N,N-dimethyl-o-toluidin [3] | C | 202-805-4 [1] 204-495-6 [2] 210-199-8 [3] | 99-97-8 [1] 121-72-2 [2] 609-72-3 [3] | T; R23/24/25 R33 R52-53 | T R: 23/24/ 25-33-52/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61 | C ≥ 2,5 %; T; R23/24/25-33-52-53 5 % ≤ C < 25 %; T; R23/24/25-33-52/53 1 % ≤ C < 5 %; Xn; R20/21/22-33 | |
| 612-059-00-5 | triethylentetramin 2,2'-(ethylendimino)di(ethan-1-amin) | | 203-950-6 | 112-24-3 | Xn; R21 C; R34 R43 R52-53 | C R: 21-34-43-52/53 S: (1/2-)26-36/37-45-61 | C ≥ 2,5 %; C; R21-34-43-52/53 10 % ≤ C < 25 %; C; R34-43 5 % ≤ C < 10 %; Xi; R36/38-43 1 % ≤ C < 5 %; Xi; R43 | |
| 612-060-00-0 | 3,6,9-triazaundekan-1,11-diamin tetraethylenpentamin | | 203-986-2 | 112-57-2 | Xn; R21/22 C; R34 R43 N; R51-53 | C; N R: 21/22-34-43-51/53 51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61 | C ≥ 2,5 %; C; N; R21/22-34-43-51/53 10 % ≤ C < 25 %; C; R34-43-52/53 5 % ≤ C < 10 %; Xi; R36/38-43-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %; Xi; R43-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %; Xi; R43 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|--|---|---|---|-----------------------|
| 612-064-00-2 | 3,6,9,12-tetraazatetradekan-1,14-diamin pentaethylhexamin | | 223-775-9 | 4067-16-7 | C; R34 R43 N; R50-53 | C; N R: 34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61 | C ≥ 25 %: C, N; R34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R34-43-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36/38-43-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi, N; R43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53 | |
| 612-065-00-8 | polyethylenpolyaminy, s výjimkou polyethylenpolyaminů uvedených jinde v této příloze | — | — | Xn; R21/22 C; R34 R43 N; R50-53 | C ≥ 25 %: C, N; R21/22-34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R34-43-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36/38-43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53 | | | |
| 612-066-00-3 | dicyklohexylamin | | 202-980-7 | 101-83-7 | Xn; R22 C; R34 N; R50-53 | C; N R: 22-34-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61 | C ≥ 25 %: C, N; R22-34-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R34-51/53 2,5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36/38-51/53 2 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R36/38-52/53 0,25 % ≤ C < 2 %: R52/53 | |
| 612-067-00-9 | 3-(aminomethyl)-3,5,5-trimethylcyklohexan-1-amin | | 220-666-8 | 2855-13-2 | Xn; R21/22 C; R34 R43 R52-53 | C R: 21/22-34-43-52/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61 | C ≥ 25 %: C; R21/22-34-43-52/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R34-43-52/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/38-43-52/53 1 % ≤ C < 5 %: Xi; R43 | |
| 612-077-00-3 | dimethylnitrosamin N-nitrosodimethylamin | E | 200-549-8 | 62-75-9 | Karc. kat. 2; R45 T+; R26 T; R25-48/25 N; R51-53 | T+; N R: 45-25-26-48/25-51/53 S: 53-45-61 | C ≥ 25 %: T+; N; R45-25-26-48/25-51/53 10 % ≤ C < 25 %: T+; R45-22-26-48/25-52/53 7 % ≤ C < 10 %: T+; R45-22-26-48/22-52/53 3 % ≤ C < 7 %: T; R45-22-23-48/22-52/53 2, 5 % ≤ C < 3 %: T; R45-23-48/22-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23-48/22 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|--------------------------------|---|---|--|--|-----------------------|
| 612-086-00-2 | amitraz (ISO) N,N-bis[N-(2,4-dimethylfenyloxy)formimidoyl]methanamin | | 251-375-4 | 33089-61-1 | Xn; R22-48/22 R43 N; R50-53 | Xn; N R: 22-43-48/22-50/53 S: (2-)22-60-24-61-36/37 | 0,1 % ≤ C < 1 %; T; R45-20 0,001 % ≤ C < 0,1 %; T; R45 C ≥ 25 %; Xn, N; R22-43-48/22-50-53 10 % ≤ C < 25 %; Xn, N; R43-48/22-50-53 2,5 % ≤ C < 10 %; N; R43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %; N; R43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %; N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; R52-53 | |
| 612-087-00-8 | guazatin 1,1'-[iminodi(oktan-8,1,1-diyloxy)]guanidin | | 236-855-3 | 13516-27-3 | T+; R26 Xn; R21/22 Xi; R37/38-41 N; R50-53 | T+; N R: 21/22-26-37/38-41-50/53 S: (1/2-)26-28-36/37/39-38-45-46-60-61-63 | | |
| 612-094-00-6 | 4-[2-chlor-4-(trifluormethyl)fenoxyl]-2-fluoranilinium-chlorid | | 402-190-4 | — | T; R48/25 Xn; R22-48/20 Xi; R41 R43 N; R50-53 | T; N R: 22-41-43-48/20-48/25-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61 | | |
| 612-121-00-1 | polyethylenpolyaminy HEPA | | 268-626-9 | 68131-73-7 | Xn; R21/22 C; R34 R43 N; R50-53 | C; N R: 21/22-34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61 | C ≥ 25 %; C, N; R21/22-34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %; C, N; R34-43-51/53 5 % ≤ C < 10 %; Xi, N; R36/38-43-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %; Xi, N; R43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; Xi; R43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %; R52/53 | |
| 612-136-00-3 | N-fenyl-N'-isopropyl-1,4-fenylendiamin | | 202-969-7 | 101-72-4 | Xn; R22 R43 N; R50-53 | Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)24-37-60-61 | C ≥ 25 %; Xn, N; R22-43-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %; Xi, N; R43-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; Xi; R43-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %; Xi; R43 | |
| 612-151-00-5 | toluendiamin, technický, směs [2] a [3] methylbenzendiamin [1] | E | 246-910-3 [1] 202-453-1 [2] | 25376-45-8 [1] 95-80-7 [2] 823-40-5 [3] | Karc. kat. 2; R45 T; R25 Xn; R20/21 Xi; R36 | T; N R: 45-20/21-25-36-43-51/53 S: 53-45-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|--------------------------------|----------------------------------|---|--|--|-----------------------|
| 613-009-00-5 | 4-methylbenzen-1,3-diamin [2] 2-methylbenzen-1,3-diamin [3] | | 212-513-9 [3] | | R43 N; R51-53 | | | |
| 613-009-00-5 | 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazin kvanurchlorid | | 203-614-9 | 108-77-0 | T+; R26 Xn; R22 C; R34 R43 R14 | T+; C R: 14-22-26-34-43 S: (1/2-)26-28-36/37/38-43 | C ≥ 25 %: T+; R22-26-34-43 10 % ≤ C < 25 %: T+; R26-34-43 7 % ≤ C < 10 %: T+; R26-36/37/38-43 5 % ≤ C < 7 %: T; R23-36/37/38-43 1 % ≤ C < 5 %: T; R23-43 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20 | |
| 613-011-00-6 | amitrol (ISO) 1,2,4-triazol-3-amin | | 200-521-5 | 61-82-5 | Repr. kat. 3; R63 Xn; R48/22 N; R51-53 | Xn; N R: 48/22-63-51/53 S: (2-)13-36/37-61 | | |
| 613-033-00-6 | 2-methylaziridin propylenimin | E | 200-878-7 | 75-55-8 | F; R11 Karc. kat. 2; R45 T+; R26/27/28 Xi; R41 N; R51-53 | F; T+; N R: 45-11-26/27/28-41-51/53 S: 53-45-61 | C ≥ 25 %: T+; N; R45-26/27/28-41-51/53 10 % ≤ C < 25 %: T+; R45-26/27/28-41-52/53 7 % ≤ C < 10 %: T+; R45-26/27/28-36-52/53 5 % ≤ C < 7 %: T; R45-23/24/25-36-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T; R45-23/24/25-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23/24/25 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-20/21/22 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45 | |
| 613-040-00-4 | azakonazol (ISO) 1-[[2-(2,4-dichlorfenyl)-1,3-dioxolan-2-yl]methyl]-1H-1,2,4-triazol | | 262-102-3 | 60207-31-0 | Xn; R22 | Xn R: 22 S: (2-)46 | | |
| 613-043-00-0 | imazalil-sulfát (ISO), práškový 1-[2-(allyloxy)-2-(2,4-dichlorfenyl)ethyl]-1H-imidazol-1-ium-hydrogensulfát [1]; (±)-1-[2-(allyloxy)-2-(2,4-dichlorfenyl)ethyl]-1H-imidazol-1-ium-hydrogensulfát [2] | | 261-351-5 [1] 281-291-3 [2] | 58594-72-2 [1] 83918-57-4 [2] | Xn; R22 R43 N; R50-53 | Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)24/25-37-46-60-61 | | |
| 613-048-00-8 | karbendazim (ISO) | | 234-232-0 | 10605-21-7 | Mut. kat. 2; R46 | T; N | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|--|--|---|-----------------------|
| 613-049-00-3 | methyl-N-(benzimidazol-2-yl)karbamát | | 241-775-7 | 17804-35-2 | Repr. kat. 2; R60-61 N; R50-53 | R: 46-60-61-50/53 S: 53-45-60-61 | | |
| 613-051-00-4 | benomyl (ISO) methyl-N-[1-(butylkarbamoyl)benzimidazol-2-yl]karbamát | | 218-661-0 | 2212-67-1 | Mut. kat. 2; R46 Repr. kat. 2; R60-61 Xi; R37/38 R43 N; R50-53 | T; N R: 46-60-61-37/38-43-50/53 S: 53-45-60-61 | C ≥ 20 %; T, N; R46-60-61-37/38-43-50-53 2,5 % ≤ C < 20 %; T, N; R46-60-61-43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %; T, N; R46-60-61-43-51-53 0,5 % ≤ C < 1 %; T, N; R46-60-61-51-53 0,25 % ≤ C < 0,5 %; T, N; R46-51-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %; T; R46-52-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %; R52-53 | |
| 613-058-00-2 | molinát (ISO) S-ethyl-hexahydroazepin-1-karbothioát S-ethyl perhydroazepin-1-carbothioate | | 258-067-9 | 52645-53-1 | Karc. kat. 3; R40 Repr. kat. 3; R62 Xn; R20/22 Xn; R48/22 R43 N; R50-53 | T; N R: 20/22-40-43-48/22-63-50/53 S: (2-) 36/37-46-60-61 | C ≥ 25 %; Xn, N; R20/22-40-43-48/22-62-50-53 10 % ≤ C < 25 %; Xn, N; R40-43-48/22-62-50-53 5 % ≤ C < 10 %; Xn, N; R40-43-62-50-53 1 % ≤ C < 5 %; Xn, N; R40-43-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %; N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; R52-53 | |
| 613-075-00-5 | permethrin (ISO) 3-fenoxybenzyl-[3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyklopropan-1-karboxylát] | | 401-570-7 | 89415-87-2 | Xn; R20/22 R43 N; R50-53 | Xn; N R: 20/22-43-50/53 S: (2-) 13-24-36/37/39-60-61 | C ≥ 25 %; Xn, N; R20/22-43-50-53 1 % ≤ C < 25 %; N; R43-50-53 0,025 % ≤ C < 1 %; N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %; R52-53 | |
| 613-088-00-6 | 1,2-dichlor-5-ethyl-5-methylimidazolidin-2,4-dion | | 220-120-9 | 2634-33-5 | O; R8 T; R23 C; R34 Xn; R22 R43 N; R50 | O; T; N R: 8-22-23-34-43-50 S: (1/2-) 8-26-36/37/39-45-61 | C ≥ 25 %; Xn, N; R22-38-41-43-50 | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|--|---|---|-----------------------|
| 613-1112-00-5 | 2-oktyltetrahydroisothiazol-3-on | | 247-761-7 | 26530-20-1 | T: R23/24 Xn: R22 C: R34 R43 N: R50-53 | T: N R: 22-23/24-34-43-50/53 S: (1/2)/26-36/37/39-45-60-61 | C ≥ 25 %: T, N; R22-23/24-34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R20/21-34-43-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/21-36/38-43-51/53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R20/21-43-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: Xi, N; R43-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52/53 0,05 % ≤ C < 0,25 %: Xi; R43 | |
| 613-124-00-0 | fenpropimorf (ISO) cis-4-[3-(4- <i>tert</i> -butylfenyl)-2-methylpropyl]-2,6-dimethylmorfolin | | 266-719-9 | 67564-91-4 | Repr. kat. 3; R63 Xn: R22 Xi: R38 N: R51-53 | Xn: N R: 22-38-63-51/53 S: (2)/36/37-46-61 | | |
| 613-129-00-8 | metamitron (ISO) 4-amino-6-fenyl-3-methyl-1,2,4-triazin-5(4H)-on | | 255-349-3 | 41394-05-2 | Xn: R22 N: R50 | Xn: N R: 22-50 S: (2)/61 | | |
| 613-167-00-5 | směs (3:1): 5-chloro-2-methylisothiazol-3(2H)-on [číslo ES 247-500-7] a 2 methyl 2H-isothiazol 3 one [EC no. 220-239-6] (3:1) mixture of: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin 3 one [EC no. 247-500-7] a 2-methylisothiazol-3(2H)-on [číslo ES 220-239-6] | | — | 55965-84-9 | T: R23/24/25 C: R34 R43 N: R50-53 | T: N R: 23/24/25-34-43-50/53 S: (2)/26-28-36/37/39-45-60-61 | C ≥ 25 %: T, N; R23/24/25-34-43-50/53 3 % ≤ C < 25 %: C, N; R20/21/22-34-43-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: C, N; R34-43-51/53 0,6 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R34-43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,6 %: Xi; R33/38-43-52/53 0,06 % ≤ C < 0,25 %: Xi; R36/38-43 0,0015 % ≤ C < 0,06 %: Xi; R43 | |
| 613-175-00-9 | epoxikonazol (ISO) 1-[(2RS,3RS)-3-(2-chlorofenyl)-2,3-epoxy-2-(4-fluorfenyl)propyl]-1H-1,2,4-triazol | | 406-850-2 | 133855-98-8 | Karc. kat. 3; R40 Repr. kat. 3; R62 Repr. kat. 3; R63 N: R51-53 | Xn: N R: 40-62-63-51/53 S: (2)/36/37-46-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|---|---|---|--|--|-----------------------|
| 615-001-00-7 | methyl-iso-kyanát | | 210-866-3 | 624-83-9 | F+; R12 Repr. kat. 3; R63 T+; R26 T; R24/25 R42/43 Xi; R37/38-41 | F+; T+ R: 12-24/25-26-37/38-41-42/43-63 S: (1/2-)26-27/28-36/37/39-45-63 | | |
| 615-004-00-3 | thiokyanáty | A | — | — | Xn; R20/21/22 R32 R52-53 | Xn R: 20/21/22-32-52/53 S: (2-)13-61 | | |
| 615-006-00-4 | 2-methyl- <i>m</i> -phenylene diisocyanate toluene-2,4-di-isocyanate [1] 4-methyl- <i>m</i> -phenylene diisocyanate toluene-2,6-di-isocyanate [2] <i>m</i> -tolylidene diisocyanate toluene diisocyanate [3] | | 202-039-0 [1] 209-544-5 [2] 247-722-4 [3] | 91-08-7 [1] 584- 84-9 [2] 26471- 62-5 [3] | Karc. kat. 3; R40 T+; R26 Xi; R36/37/38 R42/43 R52-53 | T+ R: 26-36/37/38-40-42/43-52/53 S: (1/2-)23-36/37-45-61 | C ≥ 25 %: T+; R26-36/37/38-40-42/43-52/53 20 % ≤ C < 25 %: T+; R26-36/37/38-40-42/43 7 % ≤ C < 20 %: T+; R26-40-42/43 1 % ≤ C < 7 %: T; R23-40-42/43 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20-42 | |
| 615-008-00-5 | 3-(isokyanatomethyl)-3,5,5-trimethylcyklohexylisokyanát isoforondiisokyanát | | 223-861-6 | 4098-71-9 | T; R23 Xi; R36/37/38 R42/43 N; R51-53 | T; N R: 23-36/37/38-42/43-51/53 S: (1/2-)26-28-38-45-61 | C ≥ 25 %: T, N; R23-36/37/38-42/43-51/53 20 % ≤ C < 25 %: T; R23-36/37/38-42/43-52/53 2,5 % ≤ C < 20 %: T; R23-42/43-52/53 2 % ≤ C < 2,5 %: T; R23-42/43 0,5 % ≤ C < 2 %: Xn; R20-42/43 | 2 |
| 615-015-00-3 | isobornyl-thiokyanatoacetát (1,7,7-trimethylbicyklo[2,2,1]heptan-2-yl)-2-thiokyanatoacetát | | 204-081-5 | 115-31-1 | Xn; R22 N; R50-53 | Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)24/25-60-61 | | |
| 616-015-00-6 | alachlor (ISO) 2',6'-diethyl-N-(methoxymethyl)chloracetamid | | 240-110-8 | 15972-60-8 | Karc. kat. 3; R40 Xn; R22 R43 N; R50-53 | Xn; N R: 22-40-43-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61 | C ≥ 25 %: Xn, N; R22-40-43-50-53 1 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R40-43-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53 | |
| 616-024-00-5 | 2'-chlor-2-(5,5-dimethyl-2,4-dioxoxazolidin-1-yl)-5'-[2-(2,4-di- <i>tert</i> - | | 402-260-4 | — | R53 | R: 53 S: 61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---|---|---|-----------------------|
| 617-002-00-8 | pentylfenoxybutanamido]-4,4-dimethyl-3-oxopentanilid (2-fenylpropan-2-yl)hydroperoxid kumenhydroperoxid | | 201-254-7 | 80-15-9 | O: R7 T: R23 Xn: R21/22-48/20/22-51/53 C: R34 N: R51-53 | O: T; N R: 7-21/22-23-34-48/20/22-51/53 S: (1/2-3)/7-14-36/37/39-45-50-61 | C ≥ 25 %: T; N; R21/22-23-34-48/20/22-51/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R20-34-48/20/22-52/53 3 % ≤ C < 10 %: Xn; R20-37/38-41-52/53 2,5 % ≤ C < 3 %: Xi; R36/37-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R36/37 | |
| 617-004-00-9 | (1,2,3,4-tetrahydro-1-naftyl)hydroperoxid | | 212-230-0 | 771-29-9 | O: R7 Xn: R22 C: R34 N: R50-53 | O: C; N R: 7-22-34-50/53 S: (1/2-3)/7-14-26-36/37/39-45-60-61 | C ≥ 25 %: C; N; R22-34-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C; N; R34-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi; N; R36/37/38-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53 | |
| 648-043-00-X | kreosotový olej, acenafténová frakce, acenaftenu prostá; redestilát prachého oleje [Olej, který zbude po odstranění acenaftenu krystalizačním procesem z acenafténového oleje z černouhelného dehtu. Je složen převážně z naftalenu a alkylnaftalenů.] | H | 292-606-9 | 90640-85-0 | Karc. kat. 2; R45 | T R: 45 S: 53-45 | | |
| 648-080-00-1 | zbytky (dehtářské), destilace kreosotového oleje; redestilát prachého oleje [Zbytek z frakční destilace prachého oleje s přibližným rozmezím teploty varu 270 °C až 330 °C. Je složen převážně z dvoujaderných aromatických a heterocyklických uhlovodíků.] | H | 295-506-3 | 92061-93-3 | Karc. kat. 2; R45 | T R: 45 S: 53-45 | | |
| 648-098-00-X | kreosotový olej, acenafténová frakce; prací olej [Složité směs uhlovodíků získaná destilací černouhelného dehtu. Obsahuje především aromatické uhlovodíky] | H | 292-605-3 | 90640-84-9 | Karc. kat. 2; R45 | T R: 45 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|-------------------|------------------------|---------------------|-----------------------|
| 648-099-00-5 | kreosotový olej; prací olej [Složité směs uhlovodíků získaná destilací černouhelného dehtu. Obsahuje především aromatické uhlovodíky a může obsahovat patrné množství fenolů a dehtových bází. Destiluje v rozmezí teplot přibližně 200 °C až 325 °C.] | H | 263-047-8 | 61789-28-4 | Karc. kat. 2; R45 | T R: 45 S: 53-45 | | |
| 648-100-00-9 | kreosotový olej, vysokovroucí destilát; prací olej [Vysokovroucí destilační frakce získaná z vysokoteplotní karbonizace černého uhlí, která je dále rafinována za účelem odstranění nadbytečných krystalických podílů. Je složena převážně z kreosotového oleje s některými normálními polyjadernými aromatickými uhlovodíky, které jsou součástí odstraňených destilátů černouhelného dehtu. Při přibližně 5 °C neobsahuje krystaly.] | H | 274-565-9 | 70321-79-8 | Karc. kat. 2; R45 | T R: 45 S: 53-45 | | |
| 648-101-00-4 | kreosot; prací olej [Destilát černouhelného dehtu získaný z vysokoteplotní karbonizace uhlí. Je složen převážně z aromatických uhlovodíků, fenolů a dehtových bází.] | H | 232-287-5 | 8001-58-9 | Karc. kat. 2; R45 | T R: 45 S: 53-45 | | |
| 648-102-00-X | extrakční zbytky (černouhelné), kyselina kreosotového oleje; extrakční zbytek pracího oleje [Složité směs uhlovodíků z bázi prosté frakce z destilace černouhelného dehtu, s rozmezím teploty varu přibližně 250 °C až 280 °C. Obsahuje převážně bifenyly a | H | 310-189-4 | 122384-77-4 | Karc. kat. 2; R45 | T R: 45 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 648-138-00-6 | isomery dimethylnaftalenu.] kresotový olej, nízkovroucí destilát; prací olej [Nízkovroucí destilační frakce získaná z vysokoteplotní karbonizace černého uhlí, která je dále rafinována za účelem odstranění přebytkových krystalických podílů. Je složena převážně z kresotového oleje s odstraněnými některými běžnými podíly polyjaderných aromatických složek, které jsou složkami destilátu černouhelného dehtu. Při asi 38 °C neobsahuje krystaly.] | H | 274-566-4 | 70321-80-1 | Karc. kat. 2; R45 | T R: 45 S: 53-45 | | |
| 649-001-00-3 | extrakty (ropné), rozpouštědlové z lehkého naftenického destilátu | H | 265-102-1 | 64742-03-6 | Karc. kat. 2; R45 | T R: 45 S: 53-45 | | |
| 649-002-00-9 | extrakty (ropné), rozpouštědlové z těžkého parafinového destilátu | H | 265-103-7 | 64742-04-7 | Karc. kat. 2; R45 | T R: 45 S: 53-45 | | |
| 649-003-00-4 | extrakty (ropné), rozpouštědlové z lehkého parafinového destilátu | H | 265-104-2 | 64742-05-8 | Karc. kat. 2; R45 | T R: 45 S: 53-45 | | |
| 649-004-00-X | extrakty (ropné), rozpouštědlové z těžkého naftenického destilátu | H | 265-111-0 | 64742-11-6 | Karc. kat. 2; R45 | T R: 45 S: 53-45 | | |
| 649-005-00-5 | extrakty (ropné), rozpouštědlové z lehkého vakuového plynového oleje | H | 295-341-7 | 91995-78-7 | Karc. kat. 2; R45 | T R: 45 S: 53-45 | | |
| 649-006-00-0 | uhlovodíky C26-C55, bohaté na aromáty | H | 307-753-7 | 97722-04-8 | Karc. kat. 2; R45 | T R: 45 S: 53-45 | | |
| 649-002-00-6 | plyny (ropné), hlavový destilát depropanizeru katalytického krakovského benzínu; bohatý na C3, prostý kyselin; rafinovaný plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z frakcionace katalyticky krakovských uhlovodíků, zbavených kyselých nečistot. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů v rozsahu C2 až C4, převážně C3.] | H K | 270-755-0 | 68477-73-6 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-063-00-1 | plyny (ropné) z katalytického krakování, rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná destilací produktů z katalytického krakovacího procesu. Je složena převážně z alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozsahu C1 až C6.] | H K | 270-756-6 | 68477-74-7 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-064-00-7 | plyny (ropné) z katalytického krakování bohaté na C1-C5, rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků vyráběná destilací produktů z katalytického krakování. Obsahuje alifatické uhlovodíky C1 až C6, převážně C1 až C5.] | H K | 270-757-1 | 68477-75-8 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-065-00-2 | plyny (ropné), hlavní destilát ze stabilizéru katalytický polymerovaného benzinu, bohatý na C2-4; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z frakční stabilizace katalyticky polymerovaných benzinových frakcí. Je složena z alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů v rozsahu C2 až C6, převážně C2 až C4.] | H K | 270-758-7 | 68477-76-9 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-066-00-8 | plyny (ropné), katalytický reforming, bohaté na C1-4; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků získaných destilací produktů z katalytického reformingu. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů v rozsahu C1 až C6, převážně C1 až C4.] | H K | 270-760-8 | 68477-79-2 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-067-00-3 | plyny (ropné), nástřík olefinů | H K | 270-765-5 | 68477-83-8 | Karc. kat. 1; R45 | T | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| | a parafinů C3-5 do alkylace; rafinérský plyn [Složité směs olefinických a parafinických uhlovodíků s počtem uhlikových atomů v rozsahu C3 až C5, které jsou používány jako nástřík do alkylace. Okolní teplota obvykle překračují kritickou teplotu těchto směsí.] | | | | Mut. kat. 2; R46 | R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-068-00-9 | plyny (ropné), bohaté na C4; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná destilací produktů z katalytického frakcionačního procesu. Je složena z alifatických uhlovodíků s počtem uhlikových atomů v rozsahu C3 až C5, převážně C4.] | H K | 270-767-6 | 68477-85-0 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-069-00-4 | plyny (ropné), hlavové destiláty z deetanizéru; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků produkovaná destilací plynové a benzinové frakce z katalytického krakovacího procesu. Obsahuje převážně ethan a ethylen.] | H K | 270-768-1 | 68477-86-1 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-070-00-X | plyny (ropné), hlavové destiláty z deisobutanizéru; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků produkovaná atmosférickou destilací butan-butylenového nástříku. Je složena z alifatických uhlovodíků s počtem uhlikových atomů převážně v rozsahu C3 až C4.] | H K | 270-769-7 | 68477-87-2 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-071-00-5 | plyny (ropné), depropanizérové suché, bohaté na propén; rafinérský plyn [Složité směs] | H K | 270-772-3 | 68477-90-7 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-072-00-0 | uhlovodíků produkovaná destilací plynové a benzinové frakce z katalytického krakovacího procesu. Je složena převážně z propylenu s malým podílem ethanu a propanu.] | H K | 270-773-9 | 68477-91-8 | Karc. kat. 1: R45 Mut. kat. 2: R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-073-00-6 | plyny (ropné), hlavové destiláty z depropanizéru; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků produkovaná destilací produktů z plynové a benzinové frakce z katalytického krakovacího procesu. Je složena z alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozsahu C2 až C4.] | H K | 270-777-0 | 68477-94-1 | Karc. kat. 1: R45 Mut. kat. 2: R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-074-00-1 | plyny (ropné), nástřík jednotky rekurace plynu; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná frakcionací různých uhlovodíkových proudů. Je složena převážně z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů v rozmezí C1 až C4, převážně propanu.] | H K | 270-778-6 | 68477-95-2 | Karc. kat. 1: R45 Mut. kat. 2: R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-075-00-7 | plyny (ropné), frakce isomerizovaného benzínu, bohatého na C4, sirovodíku prosté; rafinérský plyn | H K | 270-782-8 | 68477-99-6 | Karc. kat. 1: R45 Mut. kat. 2: R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-076-00-2 | zbytkový plyn (ropný), refluxní kolona frakcionace katalyticky krakovaného přečištěného oleje a tepelně krakovaného vakuového zbytku; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná frakcionací z katalyticky krakovaného přečištěného oleje a tepelně krakovaného vakuového zbytku. Je složena převážně z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C6.] | H K | 270-802-5 | 68478-21-7 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-077-00-8 | zbytkový plyn (ropný), stabilizační absorber katalyticky krakovaného benzínu; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná ze stabilizace katalyticky krakovaného benzínu. Je složena převážně z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C6.] | H K | 270-803-0 | 68478-22-8 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-078-00-3 | zbytkový plyn (ropný), kombinovaná frakcionační jednotka – katalytický krak, katalytický reforming a hydrogenační odsíření; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z dělení produktů z katalytického krakování, katalytického reformování a hydrogenačního odsíření, podrobená procesu k odstranění kyselých nečistot. Je složena převážně z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 270-804-6 | 68478-24-0 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-079-00-9 | zbytkový plyn (ropný), frakcionační stabilizátor katalyticky reformovaného benzínu; rafinerský plyn [Složité směs | H K | 270-806-7 | 68478-26-2 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-080-00-4 | uhlovodíků získaná z frakcionační stabilizace katalyticky reformovaného benzínu. Je složena převážně z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C4.] | H K | 270-813-5 | 68478-32-0 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-081-00-X | zbytkový plyn (ropný), směsný proud nasyceného plynu z jednotky zpracování plynů, bohatý na C4; rafinářský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z frakcionační stabilizace primárního benzínu, destilace zbytkového plynu a zbytkového plynu ze stabilizéru katalyticky reformovaného benzínu. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů v rozmezí C3 až C6, převážně butanu a isobutanu.] | H K | 270-814-0 | 68478-33-1 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-082-00-5 | zbytkový plyn (ropný), tepelné krakování vakuových zbytků; rafinářský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná tepelným krakováním vakuových zbytků. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 270-815-6 | 68478-34-2 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-083-00-0 | uhlovodíky, bohaté na C3-4, ropný destilát; rafinářský plyn | H K | 270-990-9 | 68512-91-4 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-084-00-6 | [Složité směs uhlovodíků produkovaná z ropy destilací a kondenzací. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlikových atomů převážně v rozmezí C3 až C5, převážně C3 až C4.] | H K | 271-000-8 | 68513-15-5 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-085-00-1 | plyny (ropné), výstupy z depropanizéru hydrokraku, bohaté na uhlovodíky; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná frakcionací široké frakce primárního benzínu. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlikových atomů převážně v rozmezí C2 až C6.] | H K | 271-001-3 | 68513-16-6 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-086-00-7 | plyny (ropné), lehké podíly ze stabilizéru primárního benzínu; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná stabilizací lehkého primárního benzínu. Je složena z nasycených alifatických uhlovodíků s počtem uhlikových atomů převážně v rozmezí C2 až C6.] | H K | 271-002-9 | 68513-17-7 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-087-00-2 | zbytky (ropné), alkylační separátor, bohaté na C4; rafinerský plyn | H K | 271-010-2 | 68513-66-6 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-088-00-8 | uhlovodíky, C1-4; rafinérský plyn [Složité zbytky z destilace proudů z různých rafinérských operací. Je složen z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů v rozmezí C4 až C5, převážně butanu, s teplotou varu v rozmezí přibližně -11,7 °C až 27,8 °C.] | H K | 271-032-2 | 68514-31-8 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-089-00-3 | uhlovodíky, C1-4, slazené; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků vznikající při tepelném krakování v absorberu a destilaci ropy. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C4 a s teplotou varu v rozmezí přibližně -164 °C až -0,5 °C.] | H K | 271-038-5 | 68514-36-3 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-090-00-9 | uhlovodíky, C1-3; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C3 a s teplotou varu v rozmezí přibližně -164 °C až -42 °C.] | H K | 271-259-7 | 68527-16-2 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-091-00-4 | uhlovodíky, C1-4, | H K | 271-261-8 | 68527-19-5 | Karc. kat. 1; R45 | T | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| | debutanizérová frakce; rafinerský plyn | | | | Mut. kat. 2; R46 | R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-092-00-X | Gases (petroleum), C ₁₋₅ , wet Petroleum gas [A complex combination of hydrocarbons produced by the distillation of crude oil and/or the cracking of tower gas oil. It consists of hydrocarbons having carbon numbers predominantly in the range of C ₁ through C ₅ .] | H K | 271-624-0 | 68602-83-5 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-093-00-5 | uhlovodíky, C2-4; rafinerský plyn | H K | 271-734-9 | 68606-25-7 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-094-00-0 | uhlovodíky, C3; rafinerský plyn | H K | 271-735-4 | 68606-26-8 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-095-00-6 | plyny (ropné), nástřik na alkylici; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků produkovaná katalytickým krakováním plynového oleje. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C3 až C4.] | H K | 271-737-5 | 68606-27-9 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-096-00-1 | plyny (ropné), výstup z frakcionace destilačních zbytků z depropanizéru; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z frakcionace destilačních zbytků z depropanizéru. Je složena převážně z butanu, isobutanu a butadienu.] | H K | 271-742-2 | 68606-34-8 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-097-00-7 | plyny (ropné), rafinerní směs; rafinerský plyn [Složité směs získávaná z různých rafinerních procesů. Je složena z vodíku, sirovodíku a uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 272-183-7 | 68783-07-3 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-098-00-2 | plyny (ropné), katalytické | H K | 272-203-4 | 68783-64-2 | Karc. kat. 1; R45 | T | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| | krakování; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků produkovaná destilací produktů z katalytického krakování. Je složena převážně z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C3 až C5.] | | | | Mut. kat. 2; R46 | R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-099-00-8 | plyny (ropné), C2-C4, slazené; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná slazením ropného destilátu za účelem přeměny merkaptanů nebo odstranění kyselých nečistot. Je složena převážně z nasycených a nenasycených uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C2 až C4 a s rozmezím bodu varu přibližně -51 °C až -34 °C.] | H K | 272-205-5 | 68783-65-3 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-100-00-1 | plyny (ropné), výstup z frakční destilace ropy; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků vyráběná frakcionací ropy. Obsahuje nasycené alifatické uhlovodíky s počtem uhlíků převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 272-871-7 | 68918-99-0 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-101-00-7 | plyny (ropné), výstup z dehexanizeru; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná destilačním dělením směsi benzinových frakcí. Je složena převážně z nasycených alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 272-872-2 | 68919-00-6 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-102-00-2 | plyny (ropné), výstup ze stabilizátoru frakční destilace primárního lehkého benzínu; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná frakční destilací primárního lehkého benzínu. Je složena z nasycených alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 272-878-5 | 68919-05-1 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-103-00-8 | plyny (ropné), odplyný ze striperu odsíťovacího předčistění benzínu Unifiner; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků produkovaná odsíťováním benzínu Unifiner a stripováním získaného benzínu. Je složena z nasycených alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C4.] | H K | 272-879-0 | 68919-06-2 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-104-00-3 | plyny (ropné), výstup katalytického reformingu primárního těžkého benzínu; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná katalytickým reformingem primárního těžkého benzínu a frakční destilací veškerého výstupu. Je složena z methanu, ethanu a propanu.] | H K | 272-882-7 | 68919-09-5 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-105-00-9 | plyny (ropné), hlavové destiláty z fluidního katalytického krakovacího splitteru; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků produkovaná frakční destilací naplně na podíl C3-C4. Je složena z uhlovodíků C3.] | H K | 272-893-7 | 68919-20-0 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-106-00-4 | plyny (ropné), primární výstup stabilizační kolony; | H K | 272-883-2 | 68919-10-8 | Karc. kat. 1; R45 | T | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| | rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z frakční destilace kapaliny z první věže při destilaci ropy. Je složena z nasycených alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C4.] | | | | Mut. kat. 2; R46 | R: 45 S: 53-45 | | |
| 649-107-00-X | plyny (ropné), debutanizer katalyticky krakovaného benzínu; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z frakční destilace katalyticky krakovaného benzínu. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C4.] | H K | 273-169-3 | 68952-76-1 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-108-00-5 | zbytkový plyn (ropný), ze stabilizace katalyticky krakovaného destilátu a benzínu; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z frakční destilace katalyticky krakovaného benzínu a destilátu. Je složena převážně z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C4.] | H K | 273-170-9 | 68952-77-2 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-109-00-0 | zbytkový plyn (ropný), absorber tepelně krakovaného destilátu, plynového oleje a benzínu; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z dělení tepelně krakovaných destilátů, těžkého benzínu a plynového oleje. Je složena převážně z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C6.] | H K | 273-175-6 | 68952-81-8 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-110-00-6 | zbytkový plyn (ropný), stabilizační kolona tepelně krakovaných uhlovodíků, koksování ropy; | H K | 273-176-1 | 68952-82-9 | Karc. kat. 1; R45 | T | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| | rafinerský plyn [Složitá směs uhlovodíků získaná z frakční stabilizace tepelně krakovaných uhlovodíků z koksování ropy. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C6.] | | | | Mut. kat. 2; R46 | R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-111-00-1 | plyny (ropné), lehký pyrolyzní butadienový koncentrát; rafinerský plyn [Složitá směs uhlovodíků produkovaných destilací produktů z tepelného krakování. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně C4.] | H K | 273-265-5 | 68955-28-2 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-112-00-7 | plyny (ropné), hlavový destilát ze stabilizační kolony katalytického reformingu primárního těžkého benzínu; rafinerský plyn [Složitá směs uhlovodíků získaná katalytickým reformingem primárního těžkého benzínu a frakční destilací veskeré vytékající látky. Je složena z nasycených alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C2 až C4.] | H K | 273-270-2 | 68955-34-0 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-113-00-2 | uhlovodíky, C4; rafinerský plyn | H K | 289-339-5 | 87741-01-3 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-114-00-8 | alkany, C1-4; bohaté na C3; rafinerský plyn | H K | 292-456-4 | 90622-55-2 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-115-00-3 | plyny (ropné), pyrolyza, bohaté na C3; rafinerský plyn [Složitá směs uhlovodíků získaná | H K | 295-404-9 | 92045-22-2 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|--|----------------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-116-00-9 | destilací produktů pyrolýzy. Je složená převážně z propylenu s čas- tečným obsahem propanu s roz- mezím teploty varu přibližně od -70 °C do 0 °C.] | H K | 295-405-4 | 92045-23-3 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-117-00-4 | ropné plyny, zkapalněné, slazené, frakce C4; rafinerský plyn [Složita směs uhlovodíků získávaná slazením zkapalněné směsi ropných plynů za účelem oxidace thiolů nebo odstranění kyselých nečistot. Obsahuje převážně nasycené a nenasycené uhlovodíky C4.] | HKS | 295-463-0 | 92045-80-2 | F+; R12 Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | F+; T R: 12-45-46 S: 53-45 | | |
| 649-119-00-5 | rafinát (ropné), pyrolýzní C4 frakce extrahovaná octanem amo- nomědným, C3-5 a C3-5 nenasy- cené, butadienu prosté; rafinerský plyn | H K | 307-769-4 | 97722-19-5 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-120-00-0 | plyny (ropné), nástřik do amino- vého systému; rafinerský plyn [Nástřik plynu do aminového systému za účelem odstranění siro- vodíku. Obsahuje vodík. Rovněž může být přítomen oxid uhelnatý, oxid uhličitý, | H K | 270-746-1 | 68477-65-6 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-121-00-6 | sirovodík a alifatické uhlovodíky s počtem uhlíkových atomů převážně v rozsahu C1 až C5.] plyny (ropné), výstup hydrosulfurizace benzenové jednotky; rafinérský plyn [Výstupní plyn z benzenové jednotky. Je složen převážně z vodíku. Rovněž může být přítomen oxid uhelnatý a uhlovodíky s počtem uhlíkových atomů převážně v rozsahu C1 až C6, včetně benzenu.] | H K | 270-747-7 | 68477-66-7 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-122-00-1 | plyny (ropné), recykl benzenové jednotky, bohatý na vodík; rafinérský plyn [Složitá směs uhlovodíků získaná recyklací plynů z benzenové jednotky. Je složena převážně z vodíku s různými malými množstvími oxidu uhelnatého a uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů v rozsahu C1 až C6.] | H K | 270-748-2 | 68477-67-8 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-123-00-7 | plyny (ropné), směsný olej, bohatý na vodík a dusík; rafinérský plyn [Složitá směs uhlovodíků získaná destilací směsného oleje. Je složena převážně z vodíku a dusíku s různými malými množstvími oxidu uhelnatého, oxidu uhličitého a alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozsahu C1 až C5.] | H K | 270-749-8 | 68477-68-9 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-124-00-2 | plyny (ropné), hlavové destiláty ze stripéru katalyticky reformovaného benzínu; rafinérský plyn [Složitá směs uhlovodíků získaná ze stabilizace katalyticky reformovaného | H K | 270-759-2 | 68477-77-0 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-125-00-8 | benzinu, je složena z vodíku a nasycených uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozsahu C1 až C4.] plyny (ropné), C6-8 recykl katalytického reformingu; rafinerský plyn [Složitiá směs uhlovodíků produkovaná katalytickým reformingem nástríku C6-8 a recyklovaná pro zachování vodíku. Je složena převážně z vodíku. Může obsahovat malá množství oxidu uhelnatého, oxidu uhličitého, dusíku a uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozsahu C1 až C6.] | H K | 270-761-3 | 68477-80-5 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-126-00-3 | plyny (ropné), katalytický reforming C6-8; rafinerský plyn [Složitiá směs uhlovodíků produkovaná katalytickým reformingem nástríku C6-8. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů v rozsahu C1 až C5 a vodíku.] | H K | 270-762-9 | 68477-81-6 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-127-00-9 | plyny (ropné), C6-8 recykl katalytického reformingu, bohatý na vodík; rafinerský plyn | H K | 270-763-4 | 68477-82-7 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-128-00-4 | plyny (ropné), C2-vratný podíl; rafinerský plyn [Složitiá směs uhlovodíků získaná extrakcí vodíku z plynového proudu, který je složen převážně z vodíku s malými množstvími dusíku, oxidu uhelnatého, methanu, ethanu a ethylenu.] | H K | 270-766-0 | 68477-84-9 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| | Je složena převážně z uhlovodíků, jako je methan, ethan a ethylen s malými množstvími vodíku, dusíku a oxidu uhelnatého.] | | | | | | | |
| 649-1129-00-X | plyny (ropné), suchý kyselý plyn, výstup plynové zahušovací jednotky; rafinérský plyn [Složité směs suchých plynů z plynové koncentrační jednotky. Je složena z vodíku, sirovodíku a uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C3.] | H K | 270-774-4 | 68477-92-9 | Karc. kat. 1: R45 Mut. kat. 2: R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-1130-00-5 | plyny (ropné), destilace z plynového koncentračního reabsorbéru; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků produkovaná destilací produktů ze směsi plynových proudů v plynovém koncentračním reabsorbéru. Je složena převážně z vodíku, oxidu uhelnatého, oxidu uhličitého, dusíku, sirovodíku a uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů v rozmezí C1 až C3.] | H K | 270-776-5 | 68477-93-0 | Karc. kat. 1: R45 Mut. kat. 2: R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-1131-00-0 | plyny (ropné), výstup absorbéru vodíku; rafinérský plyn [Složité směs, získaná absorbcí vodíku z vodíkem bohatého proudu. Je složena z vodíku, oxidu uhelnatého, dusíku a methanu, s malým množstvím C2 uhlovodíků.] | H K | 270-779-1 | 68477-96-3 | Karc. kat. 1: R45 Mut. kat. 2: R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-1132-00-6 | plyny (ropné), bohaté vodíkem; rafinérský plyn [Složité směs, separovaná jako plyn chlazením z uhlovodíkových plynů. Je složena převážně z vodíku s různými malými množstvími | H K | 270-780-7 | 68477-97-4 | Karc. kat. 1: R45 Mut. kat. 2: R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-133-00-1 | oxidu uhelnatého, dusíku a methanu a C2 uhlovodíků.] plyny (ropné), recykl hydrogenuvaného směsného oleje, bohaté vodíkem-dusíkem; rafinérský plyn [Složité směs získaná z recyklovaného hydrogenovaného směsného oleje. Je složena převážně z vodíku a dusíku, s různými malými množstvími oxidu uhelnatého, oxidu uhličitého a uhlovodíků převážně v rozsahu C1 až C5 uhlovodíků.] | H K | 270-781-2 | 68477-98-5 | Karc. kat. 1: R45 Mut. kat. 2: R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-134-00-7 | plyny (ropné), recykl, bohatý vodíkem; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z recyklovaných reaktorových plynů. Je složena převážně z vodíku různými malými množstvími oxidu uhelnatého, oxidu uhličitého, dusíku, sirovodíku a nasycených alifatických uhlovodíků s počtem uhlikových atomů převážně v rozsahu C1 až C5.] | H K | 270-783-3 | 68478-00-2 | Karc. kat. 1: R45 Mut. kat. 2: R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-135-00-2 | plyny (ropné), z reformingu, vodíkem bohaté; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z reformingu. Je složena převážně z vodíku s různým malým množstvími oxidu uhelnatého a alifatických uhlovodíků s počtem uhlikových atomů převážně v rozsahu C1 až C5.] | H K | 270-784-9 | 68478-01-3 | Karc. kat. 1: R45 Mut. kat. 2: R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-136-00-8 | plyny (ropné), reformingová hydrogenace; rafinérský plyn [Složité směs získaná z reformingové hydrogenace. Je složena převážně z vodíku, methanu a ethanu, | H K | 270-785-4 | 68478-02-4 | Karc. kat. 1: R45 Mut. kat. 2: R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-137-00-3 | s různým malým množstvím sirovodíku a alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C3 až C5.] | H K | 270-787-5 | 68478-03-5 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-138-00-9 | plyny (ropné), z reformingové hydrogenace, bohaté vodíkem – methanem; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z reformingové hydrogenace. Je složena převážně z vodíku a methanu s různým malým množstvím oxidu uhelnatého, oxidu uhličitého, dusíku a nasycených alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C2 až C5.] | H K | 270-788-0 | 68478-04-6 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-139-00-4 | plyny (ropné), destilát z tepelného krakování; rafinerský plyn [Složité směs získaná z reformingové hydrogenace. Je složena převážně z vodíku s různým malým množstvím oxidu uhelnatého a alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 270-789-6 | 68478-05-7 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-140-00-X | zbytkový plyn (ropný), absorber refrakcionace katalytického kraku; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná | H K | 270-805-1 | 68478-25-1 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-141-00-5 | koncový plyn (ropný), separátor katalyticky reformovaného benzinu; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z katalytického reformingu primárního benzínu. Je složena z vodíku a uhlovodíků s počtem atomů převážně v rozmezí C1 až C6.] | H K | 270-807-2 | 68478-27-3 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-142-00-0 | koncový plyn (ropný), separátor katalyticky reformovaného benzinu; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná stabilizací katalyticky reformovaného benzínu. Je složena z vodíku a uhlovodíků s počtem uhlikových atomů převážně v rozmezí C1 až C6.] | H K | 270-808-8 | 68478-28-4 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-143-00-6 | koncový plyn (ropný), separátor hydrogenační jednotky krakovského destilátu; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná hydrogenací krakovských destilátů v přítomnosti katalyzátoru. Je složena z vodíku a nasycených alifatických uhlovodíků s počtem uhlikových atomů převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 270-809-3 | 68478-29-5 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-144-00-1 | koncový plyn (ropný), separátor hydrogenačně odsířeného primárního benzínu; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z hydrogenačního | H K | 270-810-9 | 68478-30-8 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-145-00-7 | odsíťování primárního benzínu. Je složena z vodíku a nasycených alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C6.] | H K | 270-999-8 | 68513-14-4 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-146-00-2 | plyny (ropné), hlavové destiláty ze stabilizéru katalytický reformovaného primárního benzínu; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků získaných katalytickým reformingem primárního benzínu, následovaným frakcionací veškerého výtoku. Je složena z vodíku, methanu, ethanu a propanu.] | H K | 271-003-4 | 68513-18-8 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-147-00-8 | plyny (ropné), nízkotlaké odflašování výstupu z reformingu; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků vznikající při nízkotlaké mřížkové destilaci výtoku z reformingového reaktoru. Je složena převážně z vodíku a různého malého množství methanu, ethanu a propanu.] | H K | 271-005-5 | 68513-19-9 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-148-00-3 | plyny (ropné), výstup z destilace ropného rafinérského plynu; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků oddělená destilací plynného proudu obsahujícího vodík, oxid uhelnatý, oxid uhličitý a uhlovodíky | H K | 271-258-1 | 68527-15-1 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-149-00-9 | s počtem uhlíkových atomů v rozmezí C1 až C6, nebo získaného krakováním ethanu a propanu. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů v rozmezí C1 až C2, vodíku, dusíku a oxidu uhelnatého.] | H K | 271-623-5 | 68602-82-4 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-150-00-4 | plyny (ropné), hlavové z depentanizéru hydrogenace benzenové jednotky; rafinérský plyn [Složité směs získaná hydrogenací meziproduktů z benzenové jednotky v přítomnosti katalyzátoru, s následnou depentanizací. Je složena převážně z vodíku, ethanu, propanu a rozdílného malého množství dusíku, oxidu uhelnatého, oxidu uhličitého a uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C6. Může obsahovat stopové množství benzenu.] | H K | 271-625-6 | 68602-84-6 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-151-00-X | ropné produkty, rafinérské plyny; rafinérský plyn [Složité směs složená převážně z vodíku s různým malým množstvím methanu, ethanu a propanu.] | H K | 271-750-6 | 68607-11-4 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-152-00-5 | plyny (ropné), hydrokrakovací nízkotlakový separátor; rafinérský plyn [Složité směs získaná ze separace kapalina-pára výstupu hydrokrakovacího reaktoru. Je složena převážně z vodíku a nasycených uhlovladků s počtem uhlovladků atomů převážně v rozmezí C1 až C3.] | H K | 272-182-1 | 68783-06-2 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-153-00-0 | plyny (ropné), rafinérské, nízkotlakový separátor; rafinérský plyn [Složité směs získaná z různých operací rafinace ropy. Je složena z vodíku a uhlovladků s počtem uhlovladků atomů převážně v rozmezí C1 až C3.] | H K | 272-338-9 | 68814-67-5 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-154-00-6 | plyny (ropné), výstup ze separátoru produktů platformeru; rafinérský plyn [Složité směs získaná z chemické přeměny naftěných na aromáty. Je složena převážně z vodíku a nasycených alifatických uhlovladků s počtem uhlovladků atomů převážně v rozmezí C2 až C4.] | H K | 272-343-6 | 68814-90-4 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-155-00-1 | plyny (ropné), výstup ze separátoru depentanizeru hydrogenovaného kyselého petroleje; rafinérský plyn [Složité směs uhlovladků získaná při stabilizaci hydrogenovaného petroleje v depentanizeru. Je složena převážně z vodíku, methanu, ethanu a propanu s různým malým množstvím dusíku, sirovodíku, oxidu uhelnatého a uhlovladků s počtem uhlovladků atomů převážně v rozmezí C4 až C5.] | H K | 272-775-5 | 68911-58-0 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-156-00-7 | plyny (ropné), odpařovací kolona hydrogenovaného kyselého petroleje; rafinerský plyn [Složité směs získaná z odpařovací kolony mřížkové destilace jednotky hydrogenace kyselého petroleje v přítomnosti katalyzátoru. Je složena převážně z vodíku a methanu s různým malým množstvím dusíku, oxidu uhelnatého a uhlovládků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C2 až C5.] | H K | 272-776-0 | 68911-59-1 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-157-00-2 | plyny (ropné), výstup z unifinového odsířovacího striperu; rafinerský plyn [Složité směs stripovaná z kapalného produktu odsířovacího procesu Unifining. Je složena ze sírovodíku, methanu, ethanu a propanu.] | H K | 272-873-8 | 68919-01-7 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-158-00-8 | plyny (ropné), výstup z frakcionace fluidního katalytického kraku; rafinerský plyn [Složité směs produkována frakcionací hlavových produktů fluidního katalytického krakovacího procesu. Je složena převážně z vodíku, sírovodíku, dusíku a uhlovládků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 272-874-3 | 68919-02-8 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-159-00-3 | plyny (ropné), výstup pracího sekundárního absorberu fluidního katalytického kraku; rafinerský plyn [Složité směs produkována práním hlavového plynu z fluidního katalytického krakování. Je složena z vodíku, dusíku, methanu, ethanu a propanu.] | H K | 272-875-9 | 68919-03-9 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-160-00-9 | plyny (ropné), výstup ze stripéru jednotky hydrogenačního odsíření těžkého destilátu; rafinérský plyn [Složité směs stripovaná z kapalných produktů hydrogenačního odsíření těžkého destilátu. Je složena z vodíku, sirovodíku a nasycených alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 272-876-4 | 68919-04-0 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-161-00-4 | plyny (ropné), výstup ze stabilizační kolony platformeru, frakční dělení lehké frakce; rafinérský plyn [Složité směs z frakčního dělení lehké frakce z platinových reaktorů platformerové jednotky. Je složena z vodíku, methanu, ethanu a propanu.] | H K | 272-880-6 | 68919-07-3 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-162-00-X | plyny (ropné), výstup z odpařovací kolony destilace ropy; rafinérský plyn [Složité směs z první věže při destilaci ropy. Je složena z dusíku a nasycených alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 272-881-1 | 68919-08-4 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-163-00-5 | plyny (ropné), výstup ze stripovací kolony mazutu; rafinérský plyn [Složité směs získaná frakční destilací redukované ropy. Je složena z vodíku a uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C4.] | H K | 272-884-8 | 68919-11-9 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-164-00-0 | plyny (ropné), výstup z unifinového stripéru; rafinérský plyn [Směs vodíku a methanu získaná | H K | 272-885-3 | 68919-12-0 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-165-00-6 | frakcionační produktů z jednotky Unifining.] koncový plyn (ropný), separátor katalytického hydrogenačního odsíření benzínu; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z hydrogenačního odsíření benzínu. Je složena z vodíku, methanu, ethanu a propanu.] | H K | 273-173-5 | 68952-79-4 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-166-00-1 | koncový plyn (ropný), hydrogenační odsíření primárního benzínu; rafinerský plyn [Složité směs získaná z hydrogenačního odsíření primárního benzínu. Je složena z vodíku a uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 273-174-0 | 68952-80-7 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-167-00-7 | plyny (ropné), výstup z houbového absorberu, frakcionace hlavového destilátu z fluidního katalytického kraku a odsíření plynového oleje; rafinerský plyn [Složité směs získaná z frakcionace produktů z fluidního katalytického krakování a odsíření plynového oleje. Je složena z vodíku a uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C4.] | H K | 273-269-7 | 68955-33-9 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-168-00-2 | plyny (ropné), destilace surové ropy a katalytické krakování; rafinerský plyn [Složité směs produkovaná destilací ropy a katalytickým krakováním. Je složena z vodíku, sírovodíku, dusíku, oxidu uhelnatého a parafinických a olefinických uhlovodíků | H K | 273-563-5 | 68989-88-8 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-169-00-8 | s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C6.] plyny (ropné), výstup z diethanolaminové pračky plynového oleje; rafinérský plyn [Složité směs produkovaná odsířením plynových olejů diethanolaminem. Je složena převážně ze sírovodíku, vodíku a alifatických uhlíkových s počtem uhlíkových atomů v rozmezí C1 až C5.] | H K | 295-397-2 | 92045-15-3 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-170-00-3 | plyny (ropné), odpady z hydrogenačního odsíření plynového oleje; rafinérský plyn [Složité směs získaná separací kapalné fáze z odpadů z hydrogenační reakce. Je složena převážně z vodíku, sírovodíku a alifatických uhlíkových s počtem uhlíkových atomů v rozmezí C1 až C3.] | H K | 295-398-8 | 92045-16-4 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-171-00-9 | plyny (ropné), profukovací plyn z hydrogenačního odsíření plynového oleje; rafinérský plyn [Složité směs plynů získaných z reformeru a z profukovacích plynů z hydrogenačního reaktoru. Je složena převážně z vodíku a alifatických uhlíkových s počtem uhlíkových atomů v rozmezí C1 až C4.] | H K | 295-399-3 | 92045-17-5 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-172-00-4 | plyny (ropné), výstup odpadů z odpařovací kolony mžikové destilace hydrogenačního reaktoru; rafinérský plyn [Složité směs plynů získaná z mžikové destilace odpadů po hydrogenační reakci. Je složena převážně z vodíku a alifatických uhlíkových s počtem uhlíkových atomů v rozmezí C1 až C6.] | H K | 295-400-7 | 92045-18-6 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-173-00-X | plyny (ropné), zbytkový plyn vysokotlaký z pyrolýzy benzínu; rafinérský plyn [Složité směs získaná jako směs nekondenzovatelných podílů z produktu pyrolýzy benzínu a rovněž jako zbytkové plyny při přípravě následných produktů. Je složena převážně z vodíku a parafinických a olefinických uhlovodíků s počtem uhlikových atomů převážně v rozmezí C1 až C5, k nimž může být přimíchán rovněž zemní plyn.] | H K | 295-401-2 | 92045-19-7 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-174-00-5 | plyny (ropné), výstup odplyněný z visbreakingu zbytku; rafinérský plyn [Složité směs získaná při snižování viskozity zbytku v peci. Je složena převážně ze širovodíku a parafinických a olefinických uhlovodíků s počtem uhlikových atomů převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 295-402-8 | 92045-20-0 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-177-00-1 | plyny (ropné), C3-4; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků produkovaných destilací produktů z krakování ropy. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlikových atomů v rozmezí C3 až C4, převážně propanu a propylenu, a s rozmezím teploty varu přibližně -51 °C až -1 °C.] | H K | 268-629-5 | 68131-75-9 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-178-00-7 | koncový plyn (ropný), z frakčního absorberu katalyticky krakovaného destilátu a katalyticky krakovaného benzínu; | H K | 269-617-2 | 68307-98-2 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-179-00-2 | rafinerský plyn [Složitá směs uhlovodíků z destilace produktů z katalyticky krakovaných destilátů a katalyticky krakované benzinové frakce. Je složena převážně z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů v rozmezí C1 až C4.] | H K | 269-618-8 | 68307-99-3 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-180-00-8 | koncový plyn (topný), frakční stabilizační kolona katalyticky reformované benzinové frakce; rafinerský plyn [Složitá směs uhlovodíků z produktů frakční stabilizace polymerované benzinové frakce. Je složena převážně z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C4.] | H K | 269-619-3 | 68308-00-9 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-181-00-3 | koncový plyn (topný), hydrogennační striper krakovaného destilátu; rafinerský plyn [Složitá směs uhlovodíků získaná hydrogenací tepelně krakovaných destilátů v přítomnosti katalyzátoru. Je složena převážně z nasycených uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C6.] | H K | 269-620-9 | 68308-01-0 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-182-00-9 | koncový plyn (topný), hydrogennáči odsíření primárního destilátu, sirovodíku prostý; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků z katalyticky hydrogennáči odsířených primárních destilátů, z nichž byl sirovodík odstraněn aminovým procesem. Je složena převážně z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C4.] | H K | 269-630-3 | 68308-10-1 | Karc. kat. 1: R45 Mut. kat. 2: R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-183-00-4 | koncový plyn (topný), absorbér katalytického krakování plynového oleje; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků získaných destilací produktů z katalytického krakování plynového oleje. Je složena převážně z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 269-623-5 | 68308-03-2 | Karc. kat. 1: R45 Mut. kat. 2: R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-184-00-X | koncový plyn (topný), jednotka rekuperace plynu; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků z destilace produktů různých uhlovodíkových proudů. Je složena převážně z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 269-624-0 | 68308-04-3 | Karc. kat. 1: R45 Mut. kat. 2: R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-185-00-5 | koncový plyn (topný), deethanizér rekuperace plynu; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků z destilace produktů různých uhlovodíkových proudů. Je složena převážně z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C4.] | H K | 269-625-6 | 68308-05-4 | Karc. kat. 1: R45 Mut. kat. 2: R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-186-00-0 | koncový plyn (ropný), frakční kolona hydrogenačně odsířeného destilátu a hydrogenačně odsířeného benzínu, prostý kyselin; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná frakční destilací hydrogenačně odsířeného benzínu a destilačních uhlovodíkových proudů, dorařinovaných za účelem odstranění kyselých nečistot. Je složena především z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 269-626-1 | 68308-06-5 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-187-00-6 | koncový plyn (ropný), striper hydrogenačně odsířeného vakuového plynového oleje, sirovodíku prostý; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná stripovací stabilizací katalyticky hydrogenačně odsířeného vakuového plynového oleje, z něhož byl odstraněn sirovodík aminovým procesem. Je složena především z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C6.] | H K | 269-627-7 | 68308-07-6 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-188-00-1 | koncový plyn (ropný), stabilizační kolona lehkého primárního benzínu, sirovodíku prostý; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z frakční stabilizace lehkého primárního benzínu, z něhož byl sirovodík odstraněn aminovým procesem. Je složena z vodíku a uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C5.] | H K | 269-629-8 | 68308-09-8 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-189-00-7 | koncový plyn (ropný), deethanizér nástřiku do propan-propylenové alkylace; | H K | 269-631-9 | 68308-11-2 | Karc. kat. 1; R45 | T | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| | rafinerský plyn [Složité směs získaná destilací reakčních produktů propanu s pro-pylenem. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C4.] | | | | Mut. kat. 2; R46 | R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-190-00-2 | koncový plyn (ropný), hydroge-nační odsíření vakuového ply-nového oleje, sirovodíku prostý; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků, zís-kaných z katalytického hydrogenač-ního odsíření vakuového ply-nového oleje, z níž byl sirovodík odstraněn aminovým procesem. Je složena převážně z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C6.] | H K | 269-632-4 | 68308-12-3 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-191-00-8 | plyny (ropné), katalyticky krako-vané hlavové destiláty; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků produkto-vaná destilací produktů katalytic-kého krakování. Je složena z uhlo-vodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C3 až C5, s rozmezím teploty varu přibližně -48 °C až 32 °C.] | H K | 270-071-2 | 68409-99-4 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-193-00-9 | alkany C1-2; rafinerský plyn | H K | 270-651-5 | 68475-57-0 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-194-00-4 | alkany C2-C3; rafinerský plyn | H K | 270-652-0 | 68475-58-1 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-195-00-X | alkany C3-4; rafinerský plyn | H K | 270-653-6 | 68475-59-2 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|--|---------------------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-196-00-5 | alkany C4-5; rafinerský plyn | H K | 270-654-1 | 68475-60-5 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | S: 53-45 T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-197-00-0 | topné plyny; rafinerský plyn [Směs lehkých plynů. Je složena převážně z vodíku a/nebo nízkomolekulárních uhlovodíků.] | H K | 270-667-2 | 68476-26-6 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-198-00-6 | topné plyny, hlavové destiláty ropy; rafinerský plyn [Složité směs lehkých plynů produkovaná/vyráběná destilací ropy a katalytickým reformingem/ reformováním (těžkého) benzínu. Je složena z vodíku a uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C4, s rozmezím teploty varu přibližně -217 °C až -12 °C.]/ topné plyny, destiláty ropy Složitá směs lehkých plynů vyráběná destilací ropy a katalytickým reformováním benzínu. Obsahuje vodík a uhlovodíky, převážně C1 až C4, a má rozmezí bodu varu přibližně od -217 °C do -12 °C (od -423 °F do -10 °F). | H K | 270-670-9 | 68476-29-9 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-199-00-1 | uhlovodíky C3-4; rafinerský plyn | H K | 270-681-9 | 68476-40-4 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-200-00-5 | uhlovodíky C4-5; rafinerský plyn | H K | 270-682-4 | 68476-42-6 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-201-00-0 | uhlovodíky, C2-4, bohaté na C3; rafinerský plyn | H K | 270-689-2 | 68476-49-3 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-202-00-6 | ropné plyny, zkapačně; rafinerský plyn [Složité směs uhlovodíků vyráběná destilací surové ropy. Obsahuje uhlovodíky s počtem uhlíků převážně C3 až C7, a více přibližně v rozmezí teplot od -40 °C do 80 °C (od -40 °F do 176 °F).] | HKS | 270-704-2 | 68476-85-7 | F+; R12 Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | F+; T R: 12-45-46 S: 53-45 | | |
| 649-203-00-1 | ropné plyny, zkapačně, slazené; rafinerský plyn | HKS | 270-705-8 | 68476-86-8 | F+; R12 Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | F+; T R: 12-45-46 S: 45-53 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-204-00-7 | [Složité směs uhlovodíků získávaná slazením zkapalněné směsi ropných plynů za účelem přeměny merkaptanů nebo odstranění kyselých nečistot.] Je složena z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C3 až C7 a s rozmezím teploty varu přibližně -40 °C až 80 °C | H K | 270-724-1 | 68477-33-8 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-205-00-2 | plyny (ropné), C3-4, bohaté na isobutan; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků z destilace nasycených a nenasycených uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů obvykle v rozmezí C3 až C6, převážně butanu a isobutanu. Je složena z nasycených a nenasycených uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů v rozmezí C3 až C4, převážně isobutanu.] | H K | 270-726-2 | 68477-35-0 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-206-00-8 | destiláty (ropné), C3-6, bohaté na piperylen; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků z destilace nasycených a nenasycených alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů obvykle v rozmezí C3 až C6. Je složena z nasycených a nenasycených uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů v rozmezí C3 až C4, převážně piperylenů.] | H K | 270-750-3 | 68477-69-0 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-207-00-3 | plyny (ropné), C2-3; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků z destilace produktů z katalytické frakcionace. Obsahuje převážně ethan, ethylen, propan a propylen.] | H K | 270-751-9 | 68477-70-3 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-208-00-9 | plyny (ropné), zbytková frakce z depropanizéru katalyticky krakovaného plynového oleje, bohatá na C4, kyselin prostá; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z frakcionace uhlovodíkového proudu katalyticky krakovaného plynového oleje a rafinovaná za účelem odstranění sirovodíku a dalších kyselých složek. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů v rozmezí C3 až C5, převážně C4.] | H K | 270-752-4 | 68477-71-4 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-209-00-4 | plyny (ropné), zbytková frakce z debutanizéru katalyticky krakovaného benzinu, bohatá na C3-5; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná ze stabilizace katalyticky krakovaného benzinu. Je složena z alifatických uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C3 až C5.] | H K | 270-754-5 | 68477-72-5 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R46 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |
| 649-210-00-X | koncový plyn (ropný), stabilizátor frakcionace isomerizovaného benzinu; rafinérský plyn [Složité směs uhlovodíků získaná z frakční stabilizace produktů z isomerizovaného benzinu. Je složena převážně z uhlovodíků] | H K | 269-628-2 | 68308-08-7 | Karc. kat. 1; R45 Mut. kat. 2; R45 | T R: 45-46 S: 53-45 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|-------------------|------------------------------|---------------------|-----------------------|
| 649-224-00-6 | s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C1 až C4.] paliva, nafta motorová; plynový olej – nespecifikovaný [Složité směs uhlovodíků produkovaných destilací ropy. Je složena z uhlovodíků s počtem uhlíkových atomů převážně v rozmezí C9 až C20 a s rozmezím teploty varu přibližně 163 °C až 357 °C.] | H N | 269-822-7 | 68334-30-5 | Karc. kat. 3; R40 | Xn R: 40 S: (2-3)6/37" | | |

PŘÍLOHA 1C

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|--|--|---|----------------------------|
| „005-009-00-3 | tetrabutylamonium- butyltrifenyloborát | | 418-080-4 | 120307-06-4 | R43 N: R50-53 | Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-56-61 | | |
| 005-010-00-9 | N,N-dimethylamlinium- tetraakis(pentafluorfenyl)borát | | 422-050-6 | 118612-00-3 | Karc. kat. 3; R40 Xn; R22 Xi; R38-41 | Xn R: 22-38-40-41 S: (2-)22-26-36/37/39 | | |
| 005-012-00-X | diethyl(4-{1,5,5-tris[4- (diethylamino)fenyl]penta-2,4-dien- 1-yliden}cyklohexa-2,5-dien-1- yliden) amonium-butyltrifenyloborát | | 418-070-1 | 141714-54-7 | R43 N: R50-53 | Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61 | | |
| 011-007-00-3 | propoxykarbazon-natrium (ISO) | | — | — | N: R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | C ≥ 2,5 %; N: R50/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; N: R51/53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; R52/53 | |
| 013-009-00-X | butylethyldihydridohlinitan sodný (NaBu _{0,5} Et _{1,5} AlH ₂) | | 418-720-2 | — | F; R11 R14/15 R17 Xn; R20 C; R35 | F; C R: 11-14/15-17-20-35 S: (1/2-)6-16-26-30- 36/37/39-43-45 | | |
| 014-026-00-5 | dichlor[3-(3-chlor-4- fluorfenyl)propyl]methylsilan | | 407-180-3 | — | C; R35 | C R: 35 S: (1/2-)26-36/37/39-45 | | |
| 014-027-00-0 | chlor[3-(3-chlor-4- fluorfenyl)propyl]dimethylsilan | | 410-270-5 | — | C; R35 | C R: 35 S: (1/2-)8-26-28- 36/37/39-45 | | |
| 014-028-00-6 | α-([3-(akryloyloxy)propyl] dimethoxysilyloxy)-ω-([3- (akryloyloxy) propyl] dimethoxysilyl)poly(dimethylsiloxan) | | 415-290-8 | — | R43 | Xi R: 43 S: (2-)24-37 | | |
| 014-029-00-1 | methylbis[[4-methylpentan-2- yliden)amino]oxy]vinylsilan | | 421-870-1 | — | Repr. kat. 3; R62 Xn; R22-48/22 | Xn R: 22-48/22-62 S: (2-)36/37 | | |
| 014-030-00-7 | dimethyl[1,1'-(dimethylsilylindyl) di(1,2,3,3a,7a-η)-1H-inden-1- yl)]hafnium | | 422-060-0 | 137390-08-0 | T+; R28 | T+ R: 28 S: (1/2-)6-22-28- 36/37-45 | | |
| 014-031-00-2 | diisopropyl dimethoxysilan | | 421-540-7 | 18230-61-0 | R10 Xi; R38 R43 R52-53 | Xi R: 10-38-43-52/53 S: (2-)24-37-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|---|--|---|----------------------------|
| 014-032-00-8 | dicyklopentylidimethoxysilan | | 404-370-8 | 126990-35-0 | Xi; R38-41 N; R50-53 | Xi; N R: 38-41-50/53 S: (2)-26-37/39-60-61 | | |
| 015-180-00-6 | (R-(R*,S*))-[2-[(4-fenylbutyl)fosfanyl]-2-[2-methyl-1-(propanoyloxy)propoxy]octová kyselina, sůl s (-)-cinchonidinem (1:1) | | 415-820-8 | 137590-32-0 | Xi; R41 R43 R52-53 | Xi R: 41-43-52/53 S: (2)-24-26-37/39-61 | | |
| 015-181-00-1 | fosfin fosfan | | 232-260-8 | 7803-51-2 | F+; R12 R17 T+; R26 C; R34 N; R50 | F+; T+; N R: 12-17-26-34-50 S: (1/2)-28-36/37-45-61-63 | | |
| 015-184-00-8 | solí glyfosátu (ISO), s výjimkou solí uvedených jinde v této příloze | | — | — | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 015-186-00-9 | chlorpyrifos-methyl (ISO) | | 227-011-5 | 5598-13-0 | R43 N; R50-53 | Xi; N R: 43-50/53 S: (2)-36/37-60-61 | C ≥ 1 %; N; R43-50-53 0,0025 % ≤ C < 1 %; N; R50-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %; N; R51-53 0,000025 % ≤ C < 0,00025 %; R52-53 | |
| 015-187-00-4 | směs: tetranatrium-[[[2-hydroxyethyl]imino]bis(methylen)]bisfosfonát-N-oxid trinatrium-[[[2-oxido-2,4-dioxo-1,4λ ³ ,2λ ³ -oxazafosfinan-4-yl)methyl]fosfonát | | 417-540-1 | — | Xi; R41 N; R51-53 | Xi; N R: 41-51/53 S: (2)-26-39-61 | | |
| 015-189-00-5 | fenylbis(2,4,6-trimethylbenzoyl)fosfinoxid | | 423-340-5 | 162881-26-7 | R43 R53 | Xi R: 43-53 S: (2)-22-24-37-61 | | |
| 016-086-00-8 | tetranatrium-10-amino-6,13-dichlor-3-[[3-[[4-(2,5-disulfonatoanilino)-6-fluor-1,3,5-triazin-2-yl]amino]propyl]amino]-5,12-dioxa-7,14-diazapentacen-4,11-disulfonát | | 402-590-9 | 109125-56-6 | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2)-22-26-39 | | |
| 016-087-00-3 | směs: S,S',S'-tetrafenyl-[sulfanyldi(4,1-fenylen)]disulfonium-bis(hexafluorofosfát) | | 403-490-8 | 74227-35-3 | Xi; R36 R43 N; R50-53 | Xi; N R: 36-43-50/53 S: (2)-24-26-37-60-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|-----------------------------|--|---------------------|----------------------------|
| 016-088-00-9 | difenyl[4-(fenylsulfanyl)fenyl] sulfonium-hexafluorofosfát 4-methyl-1,3-dioxol-2-on propyl/en-karbonát | | 407-280-7 | 71297-11-5 | R52-53 | R: 52/53 S: 61 | | |
| 016-089-00-4 | 4-[bis[4-(diethylamino)fenyl] methyl]benzen-1,2- dimethansulfonová kyselina | | 413-840-1 | — | E: R2 F: R11 R53 | E R: 2-11-53 S: (2-3)3-35-40-61 | | |
| 016-090-00-X | směs esterů 3,3',3'-tetramethyl- 1,1'-spirobiindan-5',6,6',7, 7'-hexolu a 6-diazo-5-oxo-5,6-dihydronaftalen- 1-sulfonové kyseliny | | 415-040-8 | 14653-91-9 | Xn; R22 Xi; R37-41 | Xn R: 22-37-41 S: (2-2)6-39 | | |
| 016-091-00-5 | (<i>tert</i> -alkyl C12-14)amonium-1- amino-9,10-dioxo-4-(2,4,6- trimethylanilino)-9, 10-dihydroanthracen-2-sulfonát | | 414-110-5 | — | Xi; R41 N: R50-53 | Xi; N R: 41-50/53 S: (2-2)6-39-60-61 | | |
| 016-093-00-6 | směs (2:1): 4-(7-hydroxy-2,4,4- trimethylchroman-2-yl) benzen- 1,3-diol-tris(6-diazo-5-oxo-5,6- dihydronaftalen-1-sulfonát) 4-(7-hydroxy-2,4,4- trimethylchroman-2-yl)benzen-1,3- diol-bis(6-diazo-5-oxo-5,6- dihydronaftalen-1-sulfonát) | | 414-770-4 | 140698-96-0 | F: R11 Karc. kat. 3; R40 | F; Xn R: 11-40 S: (2-7-3)6/37 | | |
| 016-095-00-7 | směs: produkt reakce 4,4'- methylbis[2-(4-hydroxybenzyl)- 3,6-dimethylfenolu] a 6-diazo-5- oxo-5,6-dihydronaftalen-1- sulfonátu (1:2) produkt reakce 4,4'-methylbis [2-(4-hydroxybenzyl)-3,6- dimethylfenolu] a 6-diazo-5- oxo-5,6-dihydronaftalen-1- sulfonátu (1:3) | | 417-980-4 | — | F: R11 Karc. kat. 3; R40 | F; Xn R: 11-40 S: (2-7-3)6/37 | | |
| 016-096-00-2 | thifensulfuron-methyl (ISO) methyl-3-[N-[N-(4-methoxy-6- methyl-1,3,5-triazin-2- yl)karbamoyl]sulfamoyl]thiofen-2- karboxylát | | — | 79277-27-3 | N; R50-53 | N | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|---------------------------------------|---|---------------------|----------------------------|
| 017-015-00-3 | [2-(aminomethyl)fenyl]acetylchlorid- hydrochlorid | | 417-410-4 | 61807-67-8 | Xn; R22 C; R35 R43 | R: 50/53 S: 60-61 C R: 22-35-43 S: (1/2)-26-36/37/39-45 | | |
| 017-016-00-9 | trifenylmethylfosfonium-chlorid | | 418-400-2 | 10311-15-8 | Xn; R21/22 Xi; R38-41 N; R51-53 | Xn; N R: 21/22-38-41-51/53 S: (2)-22-26- 36/37/39-61 | | |
| 017-017-00-4 | (Z)-dokos-13-enylbis (2-hydroxyethyl)methylamonium- chlorid | | 426-210-6 | 120086-58-0 | C; R34 N; R50-53 | C; N R: 34-50/53 S: (2)-26- 36/37/39-45-60-61 | | |
| 017-018-00-X | [2,3-bis(stearoyloxypropyl)] trimethylamonium-chlorid | | 405-660-7 | — | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 017-019-00-5 | 1-(3,4-dimethoxyfenyl)-6,7- dimethoxy-1,2,3,4- tetrahydroisochinolin-hydrochlorid | | 415-110-8 | 54417-53-7 | Xn; R22 R52-53 | Xn R: 22-52/53 S: (2)-22-61 | | |
| 017-020-00-0 | ethyl(propoxy)aluminiumchlorid | | 421-790-7 | — | C; R35 F; R14/15 | C; F R: 14/15-35 S: (1/2)-16-23-26-30- 36/37/39-43-45 | | |
| 017-021-00-6 | (dihydroxypropyl) (dokosanamidopropyl) dimethylamonium-chlorid | | 423-420-1 | 136920-10-0 | Xi; R41 R43 N; R50-53 | Xi; N R: 41-43-50/53 S: (2)-26- 36/37/39-60-61 | | |
| 020-003-00-0 | směs: dikalcium-bis(5-dodecyl-2- hydroxybenzyl)methylamin- dihydroxid trikalcium-tris(5-dodecyl-2- hydroxybenzyl)methylamin- trihydroxid polykalcium-(5-dodecyl-2- hydroxybenzyl)methylamin- hydroxid | | 420-470-4 | — | Xi; R36/38 R43 | Xi R: 36/38-43 S: (2)-24-26-37 | | |
| 024-019-00-9 | Hlavní složka: acetoacetamid / 3-aminofenol (ATAN-MAP); | | 419-230-1 | — | R43 R52-53 | Xi R: 43-52/53 S: (2)-22-24-37-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k příprávkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-----------|---------------|--|---------------------|-----------------------|
| | {6-[(amino-hydroxyfenyl)azo]-5'-(fenylsulfamoyl)-3-sulfonatonafalen-2-azobenzén-1,2'-diolato}(6-(1-(fenylkarbamoyl)ethyl)azo)-5'-(fenylsulfamoyl)-3-sulfonatonafalen-2-azobenzén-1,2'-diolato}chromitan trisodný vedlejší produkt 1: acetoacetanilid / acetoacetanilid (ATAN-ATAN);bis(6-[[1-(fenylkarbamoyl)ethyl]azo]-5'-(fenylsulfamoyl)-3-sulfonatonafalen-2-azobenzén-1,2'-diolato}chromitan trisodný vedlejší produkt 2:3-aminofenol / 3-aminofenol (MAP-MAP); bis(6-[[amino-hydroxyfenyl]azo]-5'-(fenylsulfamoyl)-3-sulfonatonafalen-2-azobenzén-1,2'-diolato}chromitan trisodný | | | | | | | |
| 024-020-00-4 | bis (6-amino-2-[[4-[(2-hydroxy-1-naftyl)azo]benzensulfonamido]-3'-nitro-5'-sulfonatopyrimidin-5-azobenzén-2',4'-diolato] chromitan trisodný | | 418-220-4 | — | R43 R52-53 | Xi R: 43-52/53 S: (2)-2-24-37-61 | | |
| 025-005-00-5 | směs: (trisulfonatoftalocyanin-2,9,31-diido)manganatý komplex, trisodná sůl (tetrasulfonatoftalocyanin-2,9,31-diido)manganatý komplex, tetrasodná sůl (pentasulfonatoftalocyanin-2,9,31-diido)manganatý komplex, pentasodná sůl | | 417-660-4 | — | N: R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|--|--|---------------------|----------------------------|
| 029-012-00-4 | [[[N-[3-(trimethylamonioprofyl)sulfamoyl]methyl)sulfonato]tolocyanin-2,9,31-diid]médnatý komplex | | 407-340-2 | 124719-24-0 | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2-)26-39 | | |
| 029-013-00-X | trinatrium-2-((α -[3-[[4-chloro-6-[[2-[2-(vinylsulfonyl)ethoxy]ethyl]amino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-2-oxido-5-sulfonato]fenyl)azo)benzyliden)hydrázino)-4-sulfonato]benzoát, médnatý komplex | | 407-580-8 | 130201-51-3 | Xi; R41 R52-53 | Xi R: 41-52/53 S: (2-)24-37-61 | | |
| 030-011-00-6 | fosforečnan zinečnatý | | 231-944-3 | 7779-90-0 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 030-013-00-7 | oxid zinečnatý | | 215-222-5 | 1314-13-2 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 034-003-00-3 | seleničitan sodný | | 233-267-9 | 10102-18-8 | T+; R28 T; R23 R31 R43 N; R51-53 | T+; N R: 23-28-31-43-51/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61 | | |
| 053-005-00-5 | (4-isopropylfenyl)(4-methylfenyl)odonium-tetraakis(pentafluorfenyl)borát | | 422-960-3 | 178233-72-2 | Xn; R21/22-48/22 N; R50-53 | Xn; N R: 21/22-48/22-50/53 S: (2-)22-36/37-60-61 | | |
| 601-056-00-4 | směs isomerů: 1,1-difenyloethan 2,2-difenylopropan | | 405-470-4 | — | Xi; R38 N; R50-53 | Xi; N R: 38-50/53 S: (2-)37-60-61 | | |
| 601-057-00-X | {3-[4-(dimethylamino)benzamido]propyl}dodecyldimethylamonium-tosylát | | 421-130-8 | 156679-41-3 | Xi; R41 R43 N; R50-53 | Xi; N R: 41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61 | | |
| 601-058-00-5 | di-(-)-p-menthen | | 417-870-6 | — | Xi; R38 R43 N; R50-53 | Xi; N R: 38-43-50/53 S: (2-)23-24-37-60-61 | | |
| 601-059-00-0 | methyl-2-benzyliden-3-oxobutanoát | | 420-940-9 | 15768-07-7 | Xi; R36/38 N; R51-53 | Xi; N R: 36/38-51/53 S: (2-)26-37/39-61 | | |
| 601-060-00-6 | hydroxy-3,6-disulfo-8- | | 417-610-1 | 155522-09-1 | R43 | Xi R: 43 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkám |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|---|---|---------------------|----------------------------|
| 601-061-00-1 | aminonaphthalene-7-yl(azo)phenylamino]-1,3,5-triazin-2ylamino]ethane; x = 7,755 y = 0,245 | | 418-960-8 | — | C: R34 R43 N: R51-53 | S: (2-)22-24-37 | | |
| 601-062-00-7 | α-[(2-hydroxyethyl)methylamino]acetyl]-propyl)-ω-(nonylfenoxy)poly[oxy(methylethylen)] | | 417-030-9 | 151006-59-6 | R53 | C: N R: 34-43-51/53 S: (1/2-)26-28-36/37/39-45-61 | R: 53 S: 61 | |
| 601-063-00-2 | směs: rozvětvený triakontan rozvětvený dotriakontan rozvětvený tetriakontan rozvětvený hexatriakontan | | 417-060-2 | 151006-61-0 | Xn; R20 R53 | Xn R: 20-53 S: (2-)61 | | |
| 601-064-00-8 | rozvětvený hexatriakontan | | 417-070-7 | 151006-62-1 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 601-065-00-3 | směs: (1'α,3'α,6'α)-2,2,3',7',7'-pentamethylspiro[1,3-dioxan-5,2'-norkaran (1'α,3'β,6'α)-2,2,3',7',7'-pentamethylspiro[1,3-dioxan-5,2'-norkaran] | | 416-930-9 | — | Xn; R48/22 Xi; R41 N: R51-53 | Xn; N R: 41-48/22-51/53 S: (2-)22-26-37/39-61 | | |
| 601-066-00-9 | 1-ethyl-4-(trans-4-heptylciklohexyl)benzen | | 426-820-2 | 78531-60-9 | R43 R53 | Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61 | | |
| 601-067-00-4 | triethyl-arsenát | | 427-700-2 | 15606-95-8 | Karc. kat. 1; R45 T; R23/25 N: R50-53 | T: N R: 45-23/25-50/53 S: 53-45-60-61 | | |
| 601-068-00-X | 3,4-diacetoxabut-1-en but-3-en-1,2-diyldiacetát | | 421-720-5 | 18085-02-4 | Xn; R22 | Xn R: 22 S: (2-) | | |
| 601-069-00-5 | 1-[2-(1,3-dioxany)ethyl]-2-ethylpyridinium-bromid | | 422-680-1 | — | R52-53 | R: 52/53 S: 61 | | |
| 601-071-00-6 | 1-(dimethoxymethyl)-2-nitrobenzen | | 423-830-9 | 20627-73-0 | R43 N: R51-53 | Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61 | | |
| 601-073-00-7 | 1-brom-3,5-difluorbenzen | | 416-710-2 | 461-96-1 | R10 | Xn; N | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|--|-------------------|--------------------------------|--------------------------------|---|---|---------------------|----------------------------|
| 601-074-00-2 | směs: 1-methyl-4-(2,2,3-trimethylcyclopent-3-en-1-yl)-2-oxabicyklo[2.2.2]oktan 5-methyl-1-(2,2,3-trimethylcyclopent-3-en-1-yl)-6-oxabicyklo[3.2.1]oktan 3,6',6',6'-a-tetramethyl-4',5',6',6'-a-tetrahydro-2'H,3'aH-cyklopentia[b]furan 4,6',6',6'-a-tetramethyl-4',5',6',6'-a-tetrahydro-2'H,3'aH-spiro[cyklohex-3-en-1,3'-cyklopentia[b]furan] | | 422-040-1 | — | Xn; R22-48/22 Xi; R38 R43 N; R50-53 Xi; R36/38 N; R51-53 | R: 10-22-38-43-48/22-50/53 S: (2)-24-36/37-60-61 Xi; N R: 36/38-51/53 S: (2)-26-37-61 | | |
| 602-093-00-9 | α,α,α,4-tetrachlorotoluene p-chlorobenzotrchloride | E | 226-009-1 | 5216-25-1 | Karc. kat. 2; R45 Repr. kat. 3; R62 T; R48/23 Xn; R21/22 Xi; R37/38 | T R: 45-21/22-37/38-48/23-62 S: 53-45 | | |
| 602-094-00-4 | diphenylether; octabromo derivate | | 251-087-9 | 32536-52-0 | Repr. kat. 2; R61 Repr. kat. 3; R62 | T R: 61-62 S: 53-45 | | |
| 602-096-00-5 | malachitová zeleň, hydrochlorid [1] malachitová zeleň, oxalát [2] | | 209-322-8 [1] 219-441-7 [2] | 569-64-2 [1] 18015-76-4 [2] | Xn; R22 Xi; R41 Repr. kat. 3; R63 N; R50-53 | Xn; N R: 22-41-63-50/53 S: (2)-26-36/37-39-46-60-61 | | |
| 602-097-00-0 | 1-brom-9-[[4,4,5,5,5-pentafluorpentyl)sulfanyl]nonan | | 422-850-5 | 148757-89-5 | R43 N; R50-53 | Xi; N R: 43-50/53 S: (2)-24-37-60-61 | | |
| 603-167-00-3 | 3,3',5,5'-tetra- <i>tert</i> -butylbifenyl-2,2'-diol | | 407-920-5 | 6390-69-8 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 603-168-00-9 | 3-[(2-ethylhexyl)oxy]propan-1,2-diol | | 408-080-2 | 70445-33-9 | Xi; R41 R52-53 | Xi R: 41-52/53 S: (2)-26-39-61 | | |
| 603-169-00-4 | (±)- <i>trans</i> -4-(4-fluorfenyl)-3-(hydroxymethyl)-1-methylpiperidin | | 415-550-0 | 109887-53-8 | Xn; R22 Xi; R41 N; R51-53 | Xn; N R: 22-41-51/53 S: (2)-22-26-39-61 | | |
| 603-170-00-X | směs: 2-methyl-1-(6-methylbicyklo[2.2.1]hept-5-en-2- | | 415-990-3 | 67739-11-1 | Xi; R36 N; R51-53 | Xi; N R: 36-51/53 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkám |
|----------------|--|-------------------|--------------------------------|---|---|---|---------------------|----------------------------|
| | yl)pent-1-en-3-ol 2-methyl-1-(1-methylbicyklo [2.2.1]hept-5-en-2-yl)-pent-1- en-3-ol 2-methyl-1-(5-methylbicyklo[2.2.1] hept-5-en-2-yl)pent-1-en-3-ol | | | | | S: (2-)26-61 | | |
| 603-171-00-5 | thiazol-5-ylmethanol | | 414-780-9 | 38585-74-9 | Xi; R41 R52-53 | Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61 | | |
| 603-172-00-0 | 2-[2-[4-(dibenzof[b,f][1,4] thiazepin-1-yl)piperazin-1- yl]ethoxy]ethan- 1-ol-hydrogen-fumarát | | 415-180-1 | — | Xn; R22 Xi; R41 N; R51-53 | Xn; N R: 22-41-51/53 S: (2-)22-26-39-61 | | |
| 603-173-00-6 | 4,4-dimethyl-3,5,8-trioxabicyklo [5.1.0]oktan | | 421-750-9 | 57280-22-5 | Xi; R36 R43 | Xi R: 36-43 S: (2-)26-36/37 | | |
| 603-174-00-1 | 4-cyklohexyl-2-methylbutan-2-ol | | 420-630-3 | 83926-73-2 | Xi; R41 N; R51-53 | Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61 | | |
| 603-175-00-7 | 2-[2-(hexyloxy)ethoxy]ethan-1-ol DEGHE Diethylen glykolmonohexylether 3,6-dioxa-1-dodecanol hexyl carbitol 3,6-dioxadodecan-1-ol | | 203-988-3 | 112-59-4 | Xn; R21 Xi; R41 | Xn R: 21-41 S: (2-)26-36/37-46 | | |
| 603-176-00-2 | 1,2-bis(2-methoxyethoxy)ethan TEGDME triethylen glykoldimethylether triglym | | 203-977-3 | 112-49-2 | R19 Repr. kat. 2; R61 Repr. kat. 3; R62 | T R: 61-19-62 S: 53-45 | | |
| 603-177-00-8 | 1-ethoxypropan-2-ol [1] 2PG1EEA propylen glykolmonoethylether [1] 2-ethoxy-1-methylethyl-acetát [2] 1-ethoxypropan-2-yl-acetát [2] 2PG1EEA [2] | | 216-374-5 [1] 259-370-9 [2] | 1569-02- 4 [1] 54839-24- 6 [2] | R10 R67 | R: 10-67 S: (2-)24 | | |
| 603-178-00-3 | 2-(hexyloxy)ethan-1-ol ethylen glykolmonohexylether n-hexylglycol | | 203-951-1 | 112-25-4 | Xn R21/22 C; R34 | C R: 21/22-34 S: (1/2-)26-36/37/39-45 | | |
| 603-179-00-9 | ergocalciferol | | 200-014-9 | 50-14-6 | T+; R26 | T+ | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|---------------------------------------|--|---|-----------------------|
| | vitamin D ₂ | | | | T; R24/25-48/25 | R: 24/25-26-48/25 S: (1/2-)28-36/37-45 | | |
| 603-180-00-4 | cholekalCIFEROL vitamin D ₃ | | 200-673-2 | 67-97-0 | T+; R26 T; R24/25-48/25 | T+ R: 24/25-26-48/25 S: (1/2-)28-36/37-45 | | |
| 603-181-00-X | 2-methoxy-2-methylpropan (<i>tert</i> -butyl)methyl ether MTBE | | 216-653-1 | 1634-04-4 | F; R11 Xi; R38 | F; Xi R: 11-38 S: (2-)9-16-24 | | |
| 603-183-00-0 | 2-[2-(2-butoxyethoxy)ethoxy]ethanol TEGBE triethylene glycol monobutyl ether butoxytriethylene glycol | | 205-592-6 | 143-22-6 | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2-)26-39-46 | C ≥ 30 %: Xi; R41 20 % ≤ C < 30 %: Xi; R36 | |
| 603-184-00-6 | 2-(hydroxymethyl)-2-[(2-hydroxy-3-(isooktadecyloxy)propoxy]methyl]propan-1,3-diol | | 416-380-1 | 146925-83-9 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 603-185-00-1 | 2,4-dichlor-3-ethyl-6-nitrofenol | | 420-740-1 | 99817-36-4 | T; R25 Xi; R41 R43 N; R50-53 | T; N R: 25-41-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61 | | |
| 603-186-00-7 | <i>trans</i> -(5RS,6SR)-6-amino-2,2-dimethyl-1,3-dioxepan-5-ol | | 419-050-3 | 79944-37-9 | R43 | Xi R: 43 S: (2-)22-24/25-26-37 | | |
| 603-187-00-2 | 2,2'-[(4,6-bis(4-[2-(1-methylpyridinium-4-yl)vinyl]anilino)-1,3,5-triazin-2-yl)imino]diethan-1-ol-dichlorid | | 419-360-9 | 163661-77-6 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 603-189-00-3 | směs komplexů titanu s 2,2'-oxydiethanolem, amonium-laktátem, 1,1',1''-nitroloxi(propan-2-olem) a ethylenglykolem | | 405-250-8 | — | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 603-191-00-4 | 2-[4,6-bis(2,4-dimethylfenyloxy)-1,3,5-triazin-2-yl]-5-[3-[(2-ethylhexyloxy]-2-hydroxypropoxy]fenol | | 419-740-4 | 137658-79-8 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 603-195-00-6 | 2-[4-fenyl-6-(4-methoxyfenyl)-1,3,5-triazin-2-yl]fenol | | 430-810-3 | 154825-62-4 | R52-53 | R: 52/53 S: 61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkám |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|---|--|--|----------------------------|
| 603-196-00-1 | 7-ethylindol-3-ethanol 2-(7-ethylindol-3-yl)ethan-1-ol | | 431-020-1 | 41340-36-7 | Xn; 22-48/22 N; R51-53 | Xn; N R: 22-48/22-51/53 S: (2)-36/37/39-61 | | |
| 603-197-00-7 | 1-(4-chlorfenyl)-4,4-dimethyl-3- [[1H-1,2,4-triazol-1- yl)methyl]pentan- 3-ol | | 403-640-2 | 107534-96-3 | Repr. kat. 3; R63 Xn; R22 N; R51-53 | Xn; N R: 22-51/53-63 S: (2)-22-36/37-61 | | |
| 603-199-00-8 | etoxazol (ISO) | | — | 153233-91-1 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | C ≥ 0,25 %; N; R50/53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; N; R51/53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; R52/53 | |
| 604-065-00-1 | 4,4',4''-(butan-1,1,3- trilyl)tris(2-cyklohexyl-5- methylfenol) | | 407-460-5 | 111850-25-0 | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 604-066-00-7 | směs: 2- <i>tert</i> - butyl-4-dodecyl-6- (5-dodecyl-2-hydroxybenzyl) fenol (C41) a 2,2'-metylenbis(6- <i>tert</i> - butyl-4-dodecylfenol) (C45) 2,6-di- <i>tert</i> -butyl-4- dodecylfenol a 2- <i>tert</i> - butyl-4-dodecylfenol 2,6-bis(3- <i>tert</i> -butyl-5- dodecyl-2-hydroxybenzyl)- 4-dodecylfenol a 2-(3- <i>tert</i> -butyl-5- dodecyl- 2-hydroxybenzyl)-4-dodecyl- 6-(5-dodecyl- 2-hydroxybenzyl)fenol | | 414-550-8 | — | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 604-067-00-2 | směs: 2,2'-((2- hydroxyethyl)imino)bis(metylen)bis(4- dodecylfenol) oligo(formaldehyd-co-4- dodecylfenol-co-2-aminoethanol), dimer oligo(formaldehyd-co-4- dodecylfenol-co-2-aminoethanol), vyšší oligomer | | 414-520-4 | — | Xi; R38-41 N; R50-53 | Xi; N R: 38-41-50/53 S: (2)-26-37/39-60-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|--|---|--|----------------------------|
| 604-068-00-8 | (±)-4-(1-hydroxy-2-[[3-(4-hydroxyfenyl)-1-methylpropyl]amino]ethyl]fenol-hydrochlorid | | 415-170-5 | 99095-19-9 | Xn; R20/22 R43 | Xn R: 20/22-43 S: (2-)24-26-37 | | |
| 604-069-00-3 | 2-sek-butyl-4-terc-butylfenol | | 421-740-4 | 51390-14-8 | C; R34 N; R51-53 | C; N R: 34-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61 | | |
| 604-070-00-9 | triclosan 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxy-diphenyl-ether 5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol | | 222-182-2 | 3380-34-5 | Xi; R36/38 N; R50-53 | Xi; N R: 36/38-50/53 S: 26-39-46-60-61 | C ≥ 20 %; Xi, N; R36/38-50/53 0,25 % ≤ C < 20 %; N; R50/53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; N; R51/53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; R52/53 | |
| 605-031-00-9 | směs: 2,2-dimethoxyacetaldehyd 2,2-dimethoxyethanal voda (volná a hydrátová) | | 421-890-0 | — | R43 | Xi R: 43 S: (2-)24-37 | | |
| 606-062-00-0 | tetrahydrothiopyran-3-karbaldehyd | | 407-330-8 | 61571-06-0 | Repr. kat. 2; R61 Xi; R41 R52-53 | T R: 61-41-52/53 S: 53-45-61 | | |
| 606-063-00-6 | (E)-3-(2-chlorfenyl)-2-(4-fluorfenyl)propenal(E)-3-(2-chlorfenyl)-2-(4-fluorfenyl)akrylaldehyd | | 410-980-5 | 112704-51-5 | Xi; R36 R43 | Xi R: 36-43 S: (2-)24-26-37 | | |
| 606-064-00-1 | pregn-5-en-3,20-dion-bis(ethylenketal) 3,3;20,20-bis(ethylendioxy)pregn-5-en | | 407-450-0 | 7093-55-2 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 606-065-00-7 | 1-(4-morfolinofenyl)butan-1-on | | 413-790-0 | — | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 606-066-00-2 | (E)-5-[(4-chlorfenyl)methyliden]-2,2-dimethylcyklopentan-1-on | | 410-440-9 | 131984-21-9 | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 606-067-00-8 | směs: 1-(1,1-dimethyl-2,3,6,7,8,9-hexahydro-1H-benzo[g]inden-4-yl)ethan-1-on | | 414-870-8 | 96792-67-5 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkám |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|--|--|---------------------|----------------------------|
| 606-068-00-3 | 1-(1,1-dimethyl-2,3,5,6,7,8-hexahydro-1H-benzof[<i>h</i>]inden-4-yl)ethan-1-on 1-(1,1-dimethyl-2,3,6,7,8,9-hexahydro-1H-benzof[<i>g</i>]inden-5-yl)ethan-1-on 1-(3,3-dimethyl-2,3,6,7,8,9-hexahydro-1H-benzof[<i>g</i>]inden-5-yl)ethan-1-on | | 415-770-7 | 1638-05-7 | Xn; R48/22 R43 R52-53 | Xn R: 43-48/22-52/53 S: (2-)22-36/37-61 | | |
| 606-069-00-9 | 1',1',5',5'-tetramethyloktahydro-2'-[2,4a]methanonafalen] | | 415-460-1 | 154171-77-4 | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 24-61 | | |
| 606-070-00-4 | 5-(3-butyryl-2,4,6-trimethylfenyl)-2-[1-(ethoxymino)propyl]-3-hydroxycyklohex-2-en-1-on | | 414-790-3 | 138164-12-2 | Repr. kat. 3; R62-63 Xn; R22 Xi; R38 N; R50-53 | Xn; N R: 22-38-62-63-50/53 S: (2-)22-36/37-60-61 | | |
| 606-071-00-X | 5',5'-dimethylspiro[androsta-1,4-dien-17,2'-[1,3]dioxan]-3-on | | 421-050-3 | 13258-43-0 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 22-60-61 | | |
| 606-072-00-5 | 3-acetyl-1-fenylpyrrolidin-2,4-dion | | 421-600-2 | 719-86-8 | Xn; R48/22 N; R51-53 | Xn; N R: 48/22-51/53 S: (2-)22-36/37-61 | | |
| 606-073-00-0 | bis[4-(dimethylamino)fenyl]methanon Michlerův keton | | 202-027-5 | 90-94-8 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 Xi; R41 | T R: 45-41-68 S: 53-45 | | |
| 606-075-00-1 | 1-benzyl-5-ethoxymidazolidin-2,4-dion | | 417-340-4 | 65855-02-9 | Xn; R22 | Xn R: 22 S: (2-)22 | | |
| 606-076-00-7 | 2,5-dioxopyrrolidin-1-yl-chinolin-2-karboxylát | | 418-630-3 | 136465-99-1 | Xi; R41 R43 | Xi R: 41-43 S: (2-)24-26-37/39 | | |
| 606-077-00-2 | (3S,4S)-3-hexyl-4-((R)-2-hydroxytridecyl)oxetan-2-on | | 418-650-2 | 104872-06-2 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 606-078-00-8 | 1-oktylazepin-2-on | | 420-040-6 | 59227-88-2 | C; R34 R43 N; R51-53 | C; N R: 34-43-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61 | | |
| 606-079-00-3 | 2-butyryl-1,2-benzoisothiazol-3(2H)-on 2-butyrylbenzo[d]isothiazol-3(2H)-on | | 420-590-7 | — | C; R34 R43 | C; N R: 34-43-50/53 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|---|-------------------|---|-------------|-----------------------------|---|---------------------|----------------------------|
| 606-080-00-9 | produkt reakce 5,7-di- <i>tert</i> -butyl-3-hydroxybenzofuran-2(3H)-onu s 1,2-dimethylbenzenem (<i>o</i> -xylenem) | | 417-100-9 | — | N; R50-53 R53 | S: (1/2-7)26-36/37/39-45-60-61 R: 53 S: 61 | | |
| 606-081-00-4 | 3β-acetoxy-5α-brom-6β-hydroxyandrostan-17-on | | 419-790-7 | 4229-69-0 | R43 R52-53 | Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-36/37-61 | | |
| 606-082-00-X | směs: butan-2-on-oxim bis[(butan-2-ylidenamino)oxy]diethoxysilan | | 406-930-7 | 96-29-7 | T; R48/22 R43 R52-53 | T R: 43-48/25-52/53 S: (1/2-)25-36/37-45-61 | | |
| 606-083-00-5 | 2-chlor-5- <i>sek</i> -hexadecylbenzen-1,4-diol | | 407-750-1 | — | Xi; R36/38 R43 R52-53 | Xi R: 36/38-43-52/53 S: (2-)24-26-37-61 | | |
| 606-084-00-0 | 1-fenyl-3-(4-methoxybenzo[<i>b</i>]furan-5-yl)propan-1,3-dion | | 414-540-3 | 484-33-3 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 606-085-00-6 | (1 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-2-azabicyklo[2.2.1]hept-5-en-3-on | | 418-530-1 | 79200-56-9 | Xn; R22 Xi; R41 R43 | Xn R: 22-41-43 S: (2-)24-26-37/39 | | |
| 606-086-00-1 | 1-(3,3-dimethylcyklohexyl)pent-4-en-1-on | | 422-330-8 | 56973-87-6 | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 606-087-00-7 | 6-ethyl-5-fluorpyrimidin-4(3H)-on | | 422-460-5 | 137234-87-8 | Xn; R22 N; R50-53 | Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)60-61 | | |
| 606-088-00-2 | 2,4,4,7-tetramethyl-6-en-3-on | | 422-520-0 | 74338-72-0 | Xi; R38 N; R51-53 | Xi; N R: 38-51/53 S: (2-)37-61 | | |
| 606-089-00-8 | směs: 1,4-diamino-2-chlor-3-fenoxyanthracen-9,10-chinon 1,4-diamino-2,3-difenoxyanthracen-9,10-chinon | | 423-220-2 | 12223-77-7 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 606-091-00-9 | 6-chlor-5-(2-chlorethyl)indol-2(3H)-on | | 421-320-0 | 118289-55-7 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 606-092-00-4 | směs: (<i>E,Z</i>)-1-oxacyklohexadec-12-en-2-on (<i>E,Z</i>)-pentadec-11-eno-1,5-lakton (<i>E,Z</i>)-1-oxacyklohexadec-13-en-2-on | | (<i>E,Z</i>)-pentadec-12-eno-15-lakton 422-320-3 | 111879-80-2 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|-----------------------------|---|---------------------|----------------------------|
| 607-379-00-7 | směs: 2-[N-(2-hydroxyethyl)stearamido]ethyl-stearát natrium-bis[2-(stearoyloxyethyl)amino]methansulfonát natrium-bis(2-hydroxyethylamino)methansulfonát N,N-bis(2-hydroxyethyl)stearamid | | 401-230-8 | 55349-70-7 | R52-53 | R: 52/53 S: 61 | | |
| 607-380-00-2 | směs: amonium-dihexyl-sulfonatosukcinát amonium-hexyl-oktyl-sulfonatosukcinát | | 407-320-3 | — | Xi: R38-41 R52-53 | Xi R: 38-41-52/53 S: (2)-26-37/39-61 | | |
| 607-381-00-8 | směsné triestery 2,2-bis(hydroxymethyl)butan-1-olu s alkanovými kyselinami C7 a 2-ethylhexanovou kyselinou | | 413-710-4 | — | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 607-382-00-3 | 2-(4-amino-2-nitroanilino)benzoová kyselina | | 411-260-3 | 117907-43-4 | Xi: R41 R43 R52-53 | Xi R: 41-43-52/53 S: (2)-24-26-37/39-61 | | |
| 607-383-00-9 | směs: 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-4-yl-hexadekanoát 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-4-yl-palmitát 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-4-yl-oktadekanoát 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-4-yl-stearát | | 415-430-8 | 86403-32-9 | Xi: R41 R43 N: R50-53 | Xi: N R: 41-43-50/53 S: (2)-24-26-37/39-60-61 | | |
| 607-384-00-4 | směs: alkyl(rozvětvený C14-C15)-3-(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)propanoát alkyl(rozvětvený C15)-3-(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)propanoát alkyl(rozvětvený C13)-3-(3,5-di-terc-butyl-4-hydroxyfenyl)propanoát | | 413-750-2 | 171090-93-0 | R53 | R: 53 S: 61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k příprávkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|--------------------------------|--|---------------------|-----------------------|
| 607-385-00-X | kopolymer vinylalkoholu a vinylacetátu částečně acetalizovaný 4-[2-(4-formylfenyl)vinyl]-1-methylpyridinium-methyl-sulfátem | | 414-590-6 | 125229-74-5 | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 607-386-00-5 | směs: tetradekanová kyselina (42,5 – 47,5 %) estery oligo(1-7)laktátů s tetradekanovou kyselinou (52,5 – 57,5 %) | | 412-580-6 | 174591-51-6 | Xi; R38-41 R43 N; R50-53 | Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61 | | |
| 607-387-00-0 | směs: dodekanová kyselina (35 – 40 %) estery oligo(1-7)laktátů s dodekanovou kyselinou (60 – 65 %) | | 412-590-0 | 58856-63-6 | Xi; R38-41 R43 N; R50-53 | Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61 | | |
| 607-388-00-6 | 4-(ethylamino)-3-nitrobenzoová kyselina | | 412-090-2 | 2788-74-1 | Xn; R22 R43 R52-53 | Xn R: 22-43-52/53 S: (2-)22-24-37-61 | | |
| 607-389-00-1 | trinatrium-3-[bis(karboxylatomethyl)amino]-2-hydroxypropanoát | | 414-130-4 | 119710-96-2 | Xn; R22 | Xn R: 22 S: (2-)22 | | |
| 607-390-00-7 | 6-nitro-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalin | | 414-270-6 | 41959-35-7 | Xn; R22 N; R51-53 | Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)22-61 | | |
| 607-391-00-2 | dimethyl-cyklopropan-1,1-dikarboxylát | | 414-240-2 | 6914-71-2 | R52-53 | R: 52/53 S: 61 | | |
| 607-392-00-8 | 2-fenoxyethyl-4-[(2-hydroxy-5-kyan-1,4-dimethyl-6-oxo-1,6-dihydropyridin-3-yl)azo]benzoát | | 414-260-1 | 88938-37-8 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 607-393-00-3 | 7-amino-8-oxo-3-[(Z)-prop-1-en-1-yl]-5-thia-1-azabicyklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboxylová kyselina | | 415-750-8 | 106447-44-3 | R43 | Xi R: 43 S: (2-)22-24-37 | | |
| 607-394-00-9 | 5-methylpyrazin-2-karboxylová kyselina | | 413-260-9 | 5521-55-1 | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2-)26-39 | | |
| 607-395-00-4 | směs: natrium-allyl-tridecylsulfonatosukcinát natrium-allyl-dodecylsulfonatosukcinát | | 410-230-7 | — | C; R34 R43 N; R51-53 | C; N R: 34-43-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61 | | |
| 607-396-00-X | bis(1,2,2,6,6-pentamethylpiperidin-4-yl)-2-(4- | | 414-840-4 | 147783-69-5 | N; R50-53 | N R: 50/53 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|---|-------------------|-------------|------------------------------------|--|----------|---------------------|----------------------------|
| 607-397-00-5 | methoxybenzyliden)malonát směs: kalcium-alkylsalicyláty (alkyly C10-C14 a C18-C30 rozvětvené) kalcium-alkylfenoláty (alkyly C10-C14 a C18-C30 rozvětvené) kalcium-alkylbenzenthiooláty (alkyly C10-C14 a C18-C30 rozvětvené) | 415-930-6 | — | R43 | S: 22-60-61 Xi R: 43 S: (2-3)6/37 | | | |
| 607-398-00-0 | ethyl-N-(5-chlor-3-[(4-(diethylamino)-2-methylfenyl]imino)-4-methyl-6-oxocyclohexa-1,4-dien-1-yl])karbamát | 414-820-5 | 125630-94-6 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | | |
| 607-399-00-6 | 3-methylbut-3-en-1-yl-2,2-dimethylpropanoát | 415-610-6 | 104468-21-5 | Xi; R38 R52-53 | Xi R: 38-52/53 S: (2-3)7-61 | | | |
| 607-400-00-X | methyl-3-[(dibutylthiokarbamoyl)sulfanyl]propanoát | 414-400-1 | 32750-89-3 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | | |
| 607-401-00-5 | ethyl-3-hydroxy-5-oxocyclohex-3-en-1-karboxylát | 414-450-4 | 88805-65-6 | Xi; R38-41 R43 | Xi R: 38-41-43 S: (2-2)4-26-37/39 | | | |
| 607-402-00-0 | methyl-N-(fenoxykarbonyl)-L-valinát | 414-500-5 | 153441-77-1 | R52-53 | R: 52/53 S: 61 | | | |
| 607-403-00-6 | směs: bis(((1S,2S,4S)-1-benzyl-4-[(<i>tert</i> -butoxykarbonyl)amino]-5-fenyl-2-hydroxypentyl)amonium)sukcinát isopropylalkohol | 414-810-0 | — | Xn; R48/22 Xi; R41 N; R50-53 | Xn; N R: 41-48/22-50/53 S: (2-2)2-26-36/39-60-61 | | | |
| 607-404-00-1 | směs: (E)-3,7-dimethylokta-2,6-dien-1-ylhydrogen-sukcinát (Z)-3,7-dimethylokta-2,6-dien-1-ylhydrogen-sukcinát bis((E)-3,7-dimethylokta-2,6-dien-1-yl)-sukcinát bis((Z)-3,7-dimethylokta-2,6-dien-1-yl)-sukcinát | 415-190-4 | — | R43 | Xi R: 43 S: (2-2)4-37 | | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|--|--|---------------------|----------------------------|
| 607-405-00-7 | 2-hexyldecyl-4-hydroxybenzoát | | 415-380-7 | 148348-12-3 | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 607-406-00-2 | kalium-2,5-dichlorbenzoát | | 415-700-5 | — | Xn; R22 Xi; R41 | Xn R: 22-41 S: (2)-26-39 | | |
| 607-407-00-8 | ethyl-hydrogen-(2-thienylmethyl) malonát | | 415-680-8 | 143468-96-6 | Xi; R38-41 R43 | Xi R: 38-41-43 S: (2)-24-26-37/39 | | |
| 607-408-00-3 | kalium-N-(4-fluorfenyl)glycinát | | 415-710-1 | — | Xn; R48/22 Xi; R41 R43 R52-53 | Xn R: 41-43-48/22-52/53 S: (2)-22-26-36/37/39-61 | | |
| 607-409-00-9 | směs: (3R)-3-((1S)-(1 α ,2 α ,6 β)-2,6-dimethyl-1-(((S)-2-methylbutanoyloxy)-1,2,4a,7,8,8a-hexahydro-1-naftyl)-3,5-dihydroxypentanová kyselina inertní biomasa z <i>Aspergillus terreus</i> | | 415-840-7 | — | R43 R52-53 | Xi R: 43-52/53 S: (2)-36/37-61 | | |
| 607-410-00-4 | 2-(dimethylamino)ethyl-hydrogen-hexadec-2-en-1-ylsukcinát | | 415-880-5 | — | Xi; R38-41 R43 N; R50-53 | Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2)-24-26-37/39-60-61 | | |
| 607-411-00-X | (S)-oxiranylmethyl-tosylát | | 417-210-7 | 70987-78-9 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 Xi; R41 R43 N; R51-53 | T; N R: 45-41-43-51/53 S: 53-45-61 | | |
| 607-412-00-5 | ethyl-(1-kyanoklohexyl)acetát | | 415-970-4 | 133481-10-4 | Xn; R22-48/22 R52-53 | Xn R: 22-48/22-52/53 S: (2)-36/37-61 | | |
| 607-413-00-0 | trans-4-fenyl-L-prolin | | 416-020-1 | 96314-26-0 | Repr. kat. r 3; R62 R43 | Xn R: 43-62 S: (2)-22-36/37 | | |
| 607-414-00-6 | tris(2-ethylhexyl)-4,4',4''-(1,3,5-triazin-2,4,6-triyltrinitrimino)tribenzoát | | 402-070-1 | 88122-99-0 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 607-415-00-1 | poly(methyl-methakrylát-co-butyl-methakrylát-co-[4- | | 419-590-1 | — | F; R11 R43 | F; Xi R: 11-43 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkám |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|--|--|---------------------|----------------------------|
| 607-416-00-7 | (akryloyloxy)butyl-isopropenyl(α,α-dimethylbenzyl)karbamát]-co-maleinanhydrid) | | 420-730-7 | — | N; R50-53 | S: (2-)24-37-43 | | |
| 607-418-00-8 | N-[3-(dodecyloxy)propyl]-1-hydroxy-5-[[isobutyloxy)karbonyl]amino]-4-(2-[(karboxymethyl)sulfany]ethoxy)-2-naftamid | | 420-170-3 | 26218-04-2 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 607-419-00-3 | 5-[1-(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-2-yliden)propan-2-yliden]-4,4'-dioxo-2'-thioxo-2,5'-bithiazolidinyliden-3,3'-dioctová kyselina | | 422-240-9 | 166596-68-5 | Xi; R41 R43 | Xi R: 41-43 S: (2-)26-36/37/39 | | |
| 607-420-00-9 | 2,2-bis(hydroxymethyl)butanová kyselina | | 424-090-1 | 10097-02-6 | Xi; R41 R52-53 | Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61 | | |
| 607-421-00-4 | (±)-cis/trans-cypermethrin (40/60) (RS)-(3-fenoxifynyl)kvanmethylo-(1RS,3RS;1RS,3SR)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyklopropan-1-karboxylát | | 257-842-9 | 52315-07-8 | Xn; R20/22 Xi; R37 N; R50-53 | Xn; N R: 20/22-37-50/53 S: (2-)24-36/37/39-60-61 | | |
| 607-422-00-X | α-cypermethrin (ISO) | | 257-842-9 | 67375-30-8 | T; R25 Xn; R48/22 Xi; R37 N; R50-53 | T; N R: 25-37-48/22-50/53 S: (2-)36/37/39-45-60-61 | | |
| 607-423-00-5 | estery mekopropu (ISO) a mekopropu-P (ISO) | | — | — | Xn; R22 R43 N; R50-53 | Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)13-36/37-60-61 | | |
| 607-424-00-0 | trifloxystrobin (ISO) methyl-(E)-α-(methoxyimino)-2-[[E)-(1-[3-(trifluormethyl)fenyl]ethyliden)amino]oxy]methyl]benzen-1-acetát | | — | 141517-21-7 | R43 N; R50-53 | Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-46-60-61 | | |
| 607-425-00-6 | metalaxyl (ISO) methyl-N-(2,6-dimethylfenyl)-N-(methoxyacetyl)-DL-alaninát | | 260-979-7 | 57837-19-1 | Xn; R22 R43 R52-53 | Xn R: 22-43-52/53 S: (2-)13-24-37-46-61 | | |
| 607-426-00-1 | směs: | | 284-032-2 | 84777-06-0 | Repr. kat. 2; R60-61 | T; N | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|---|-------------------|--|--|---|--|---------------------|----------------------------|
| | dipentyl-ftalát (rozvětvený a neroz- větvený) [1] isopentyl-pentyl-ftalát [2] dipentyl-ftalát [3] diisopentyl-ftalát [4] | | [1] - [2] 205-017-9 [3] 210-088-4 [4] | [1] - [2] 131-18-0 [3] 605-50-5 [4] | N; R50 | R: 60-61-50 S: 53-45-61 | | |
| 607-427-00-7 | bromoxnol heptanoát (ISO) 2,6-dibrom-4-kyanfenyl-heptanoát | | 260-300-4 | 56634-95-8 | Repr. kat. 3; R63 Xn; R20/22 R43 N; R50-53 | Xn; N R: 20/22-43-63-50/53 S: (2-3)6/37-46-60-61 | | |
| 607-430-00-3 | benzyl-butyl-ftalát BBP | | 201-622-7 | 85-68-7 | Repr. kat. 2; R61 Repr. kat. 3; R62 N; R50-53 | T; N R: 61-62-50/53 S: 53-45-60-61 | | |
| 607-431-00-9 | prallethrin (ISO) ETOC [2-methyl-4-oxo-3-(prop-2-yn-1- yl)cyclopent-2-en-1-yl]-2,2- dimethyl-3-(2-methylprop-1-en-1- yl)cyclopropan-1-karboxylát | | 245-387-9 | 23031-36-9 | T; R23 Xn; R22 N; R50-53 | T; N R: 22-23-50/53 S: (1/2)45-60-61 | | |
| 607-432-00-4 | S-metolchlor (ISO) směs: (S)-2-chlor- N-(2-ethyl-6-methylfenyl)-N-(2- methoxy-1-methylethyl)acetamid (80 – 100 %) [1] S-metolchlor (R)-2-chlor-N-(2- ethyl-6-methylfenyl)-N-(2-methoxy- 1-methylethyl)acetamid (0 – 20 %) [2] | | - [1] - [2] | 87392-12- 9 [1] 178961- 20-1 [2] | R43 N; R50-53 | Xn; N R: 43-50/53 S: (2-2)4-37-60-61 | | |
| 607-433-00-X | (±)-cis/trans-cypermethrin (ISO) (80:20) (RS)-(3-fenoxyfenyl)kvanmethyl- (1RS,3RS;1RS,3SR)-3-(2,2- dichlorvinyl)-2, 2-dimethylcyclopropan-1- karboxylát | | 257-842-9 | 52315-07-8 | Xn; R22 Xi; R37/38 R43 N; R50-53 | Xn; N R: 22-37/38-43-50/53 S: (2-3)6/37/39-60-61 | | |
| 607-434-00-5 | mekoprop-P (ISO) (R)-2-(4-chlor-2- methylfenoxy)propanová kyselina | | 240-539-0 | 16484-77-8 | Xn; R22 Xi; R41 N; R51-53 | Xn; N R: 22-41-51/53 S: (2-1)3-26-37/39-46-61 | | |
| 607-435-00-0 | (1R,2S,5R)-2-isopropyl-5- methylcyclohexyl-2,2- dihydroxyacetát | | 416-810-6 | 111969-64-3 | Xn; R48/22 Xi; R41 N; R51-53 | Xn; N R: 41-48/22-51/53 S: (2-2)2-26-36/39-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k příprávkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|-------------------------|---|---------------------|-----------------------|
| 607-436-00-6 | 3-(2-ethyl-4-methylimidazol-1-yl)-2-hydroxypropyl-2,2-dimethyloktanóat | | 417-350-9 | — | Xi; R38-41 N; R50-53 | Xi; N R: 38-41-50/53 S: (2-)26-28-37/39-60-61 | | |
| 607-437-00-1 | 3-(4-aminofenyl)-2-kyanakrylová kyselina | | 417-480-6 | — | R43 | Xi R: 43 S: (2-)22-24-37 | | |
| 607-438-00-7 | methyl-2-(sulfamoylmethyl)benzoát | | 419-010-5 | — | Xn; R22 Xi; R36 | Xn R: 22-36 S: (2-)22-26 | | |
| 607-439-00-2 | methyl-tetrahydro-2-furoát | | 420-670-1 | 37443-42-8 | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2-)26-39 | | |
| 607-440-00-8 | methyl-2-sulfamoyl-6-(trifluormethyl)pyridin-3-karboxylát | | 421-220-7 | 144740-59-0 | R43 N; R51-53 | Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)22-24-37-61 | | |
| 607-441-00-3 | 3-[(3-(N-[2-(dodecyloxy)-5-methylfenyl]karbamoyl)-4-hydroxy-1-naftyl)sulfanyl]propanová kyselina | | 421-490-6 | 167684-63-1 | R53 | R: 53 S: 57-61 | | |
| 607-442-00-9 | benzyl-[(4-fenylbutyl)hydroxyfosfany]lacetát | | 416-050-5 | 87460-09-1 | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2-)26-36/39 | | |
| 607-443-00-4 | bis(2,4-di- <i>tert</i> -butyl-6-methylfenyl)-ethylfosfát | | 416-140-4 | 145650-60-8 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 607-444-00-X | směs: <i>cis</i> -cyklohexan-1,4-diyl-dimethyl-dibenzoát <i>trans</i> -cyklohexan-1,4-diyl-dimethyl-dibenzoát | | 416-230-3 | 35541-81-2 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 607-445-00-5 | ferrum(III)-tritosylát | | 420-960-8 | 77214-82-5 | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2-)24-26-39 | | |
| 607-446-00-0 | methyl-2-(4-[(2-chlor-4-nitrofenyl)azo]-3-propanamidoanilino)propanoát | | 416-240-8 | 155522-12-6 | R43 R53 | Xi R: 43-53 S: (2-)22-24-37-61 | | |
| 607-447-00-6 | natrium-4-[4-[(4-hydroxyfenyl)azo]anilino]-3-nitrobenzen-1-sulfonát | | 416-370-5 | 156738-27-1 | R43 R52-53 | Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61 | | |
| 607-448-00-1 | 2,3,5,6-tetrafluorbenzová kyselina | | 416-800-1 | 652-18-6 | Xi; R38-41 | Xi R: 38-41 S: (2-)22-26-37/39 | | |
| 607-449-00-7 | směs: | | 417-080-1 | — | E; R2 | E; Xi; N | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k příprávkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|-------------------|---|---------------------|-----------------------|
| 607-450-00-2 | 4,4',4''-[(2,4,6-trioxohexahydro-1,3,5-triazin-1,3,5-triyl)tris(methylen(3,5,5-trimethylcyklohexan-3,1-diyl)imino)karbonyloxyethylen(ethylimino)]tribenzen-1-diazonium-diazonium-tris(disobutylnaftalensulfonát) 4,4',4''-[(turylenbis[(1,5,5-trimethylcyklohexan-3,1-diyl)methylen(2,4,6-trioxohexahydro-1,3,5-triazin-1,3,5-triyl)])]tetrakis(methylen(3,5,5-trimethylcyklohexan-3,1-diyl)imino)karbonyloxyethylen(ethylimino)]tetrabenzen-1-diazonium-tetrakis(disobutylnaftalensulfonát) | | 419-040-9 | 89604-92-2 | R43 N: R50-53 | R: 2-43-50/53 S: (2-2)4-35-37-60-61 | | |
| 607-451-00-8 | terc-butyl-2-(Z)-[1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(benzothiazol-2-ylsulfanyl)-2-oxoethyliden]amino]oxy)-2-methylpropanoát | | 417-640-5 | 161935-19-9 | Xi: R41 R43 | Xi R: 41-43 S: (2-2)2-24-26-37/39 | | |
| 607-453-00-9 | [(benzylimino)bis(2-hydroxypropan-3,1-diyl)]-bis(2,2-dimethyloktanoát) | | 418-100-1 | 172964-15-7 | R43 R53 | Xi R: 43-53 S: (2-2)4-37-61 | | |
| 607-454-00-4 | směs: trans-2-isopropyl-1,3-dioxan-5-karboxylová kyselina cis-2-isopropyl-1,3-dioxan-5-karboxylová kyselina | | 418-170-3 | — | Xi: R41 R52-53 | Xi R: 41-52/53 S: (2-2)5-26-39-61 | | |
| 607-455-00-X | natrium/lithium-1-amino-4-[(3-[(4-chlor-6-(2,5-di | | 419-520-8 | 172890-93-6 | R43 | Xi | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|---------------------------------------|--|---------------------|-----------------------|
| | sulfonatoamino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino)-2,2-dimethylpropyl)amino]-9,10-dioxo-9,10-dihydroanthracen-2-sulfonát | | | | | R: 43 S: (2)22-24-37 | | |
| 607-456-00-5 | hexadecyl-3-amino-4-chlorbenzoát | | 419-700-6 | 143269-74-3 | N: R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 607-457-00-0 | tetranatrium-dihydrogen-5,5'-dihydroxy-6,6'-bis[(1-sulfonato-2-naftyl)azo]-4,4'-[1,4-fenyl]bis(imino)[6-[4-(2-aminoethyl)piperazin-1-yl]-1,3,5-triazin-4,2-dijl]imino]dinaftalen-2,7-disulfonát | | 420-350-1 | 172277-97-3 | Xi: R41 N: R51-53 | Xi: N R: 41-51/53 S: (2)26-39-61 | | |
| 607-458-00-6 | směs: 2,2'-(propan-2,2-dijl)bis[(2,6-dibrom-4,1-fenyl)oxy]diethanolmonoakrylát 2,2'-(propan-2,2-dijl)bis[(2,6-dibrom-4,1-fenyl)oxy]diethanol-diakrylát 2,2'-(propan-2,2-dijl)bis[(2,6-dibrom-4,1-fenyl)oxy]diethanol | | 420-850-1 | — | N: R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 607-459-00-1 | isopentyl-4-[(1-[2-(2-isopropoxyethoxy)-2-oxoethyl]-5-kyan-4-methyl-2,6-dioxo-1,2,3,6-tetrahydropyridin-3-yliden]hydrazino)benzoát | | 418-930-4 | — | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 607-460-00-7 | 3-(tridecyloxy)propylamonium-oktadec-9-enoát | | 418-990-1 | — | Xn: R48/22 Xi: R36/38 N: R50-53 | Xn: N R: 36/38-48/22-50/53 S: (2)23-26-37/39-60-61 | | |
| 607-461-00-2 | směs: pentanatrium-2-[(4-[4-(3-methyl-6-sulfonato-4-[(2-sulfonato)fenyl]azo)-1-naftyl]azo)anilino]-6-(3-[(2-sulfonatooxy)ethyl]sulfonyl)anilino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino)-benzen-1,4-disulfonát pentanatrium-2-[(4-[4-[(3-methyl-7-sulfonato-4-[(2-sulfonato | | 421-160-1 | — | R52-53 | R: 52/53 S: 61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|------------|-------------|------------------------------|---------------------|----------------------------|
| 607-462-00-8 | fenyl]azo]-1-naftyl]azo)anilino)- 6-(3-[[2-(sulfonatooxy)ethyl] sulfony]anilino)-1,3,5-triazin-2- yl]amino)-benzen-1,4-disulfonát | | 421-230-1 | 88230-35-7 | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 607-463-00-3 | směs: hexyl-acetát 2-methylpentyl-acetát 3-methylpentyl-acetát 4-methylpentyl-acetát a směs jiných rozvětvených alkyl(C6)-acetátů | | 421-260-5 | 362-03-8 | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 24/25-61 | | |
| 607-464-00-9 | směs: 7-chlor-1-ethyl-6-fluor-4- oxo-1, 4-dihydrochinolin-3- karboxylová kyselina 5-chlor-1-ethyl-6-fluor-4-oxo-1,4- dihydrochinolin-3-karboxylová kyselina | | 421-280-4 | 68077-26-9 | R52-53 | R: 52/53 S: 61 | | |
| 607-465-00-4 | tris(2-hydroxyethyl)amonium-7-[[2- ethoxy-4-(4-[[4-hydroxy-2- (kvanamino)-6-oxidopyrimidin-5- yl]azo]benzamido)fenyl]azo] naftalen-1,3-disulfonát | | 421-440-3 | — | R52-53 | R: 52/53 S: 61 | | |
| 607-466-00-X | směs: fenyl-1-[1-(N-(2-chlor- 5-(hexadecyloxy) karbonyl]fenyl]karbamoyl)-3,3- dimethyl- 2-oxobutyl]-2,3,3a,7a-tetrahydro-1 H-benzotriazol-5- karboxylát fenyl-2-[1-(N-(2-chlor-5- [[hexadecyloxy]karbonyl] fenyl]karbamoyl)-3,3-dimethyl- 2-oxobutyl]-2,3,3a,7a-tetrahydro-1 H-benzotriazol- 5-karboxylát fenyl-3-[1-(N-(2-chlor-5- [[hexadecyloxy]karbonyl] fenyl]karbamoyl)-3,3-dimethyl- 2-oxobutyl]-2,3,3a,7a-tetrahydro- 1H- benzotriazol-5- karboxylát | | 421-480-1 | — | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 37/39-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|---|--|---------------------|----------------------------|
| 607-467-00-5 | 1,1,3,3-tetrabutylidistannoxan-1,3-diyldioktanoát | | 419-430-9 | 56533-00-7 | Xn; R21/22-48/22 C; R34 N; R50-53 | C; N R: 21/22-34- 48/22-50/53 S: (1/2-)26- 36/37/39-45-60-61 | | |
| 607-468-00-0 | směs: natrium-4-[[4-chlor-6-(2-methoxy-5-sulfonatoanilino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-2-[[6-hydroxy-1,4-dimethyl-2-oxo-5-(sulfonatometyl)-1,2-dihydropyridin-3-yl]azo]benzen-1-sulfonát natrium-4-[[4-chlor-6-(2-methoxy-5-sulfonatoanilino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-2-[[6-hydroxy-1,4-dimethyl-2-oxo-5-(sulfonatometyl)-1,2-dihydropyridin-3-yl]azo]benzen-1-sulfonát trinatrium-4-[[4-chlor-6-(2-methoxy-5-sulfonatoanilino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-2-[[6-hydroxy-1,4-dimethyl-2-oxo-5-(sulfonatometyl)-1,2-dihydropyridin-3-yl]azo]benzen-1-sulfonát tetranatrium-4-[[4-chlor-6-(2-methoxy-5-sulfonatoanilino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-2-[[1,4-dimethyl-6-oxido-2-oxo-5-(sulfonatometyl)-1,2-dihydropyridin-3-yl]azo]benzen-1-sulfonát | | 419-450-8 | — | R43 | Xi R: 43 S: (2-)22-24-37 | | |
| 607-469-00-6 | dinatrium-7-[(4,6-bis[[3-(diethylamino)propyl]amino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino)-4-hydroxy-3-[(4-[[4-sulfonatofenyl]azo]fenyl)azo]naftalen-2-sulfonát | | 419-460-2 | 120029-06-3 | R52-53 | R: 52/53 S: 61 | | |
| 607-470-00-1 | kalium-natrium-6,13-dichlor-3,10-bis[(2-[[4-(2,5-disulfonatoanilino)-6-(3-[[2-(sulfonatooxy)ethyl]sulfonyl]anilino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino)ethyl]amino]benzo[5,6] | | 414-100-0 | — | Xi; R41 R52-53 | Xi R: 41-52/53 S: (2-)39-22-26-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k příprávkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|--|--|---------------------|-----------------------|
| 607-472-00-2 | [1,4]oxazino[2,3-b]fenoazin-4,11-disulfonát | | 400-660-3 | 111687-36-6 | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 607-474-00-3 | amonium-ferrum(III)-propan-1,3-diamin-N,N,N',N'-tetraacetát hemihydrát | | 410-430-4 | 117573-89-4 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 607-475-00-9 | 4-{4-[4-(dimethylamino)benzyliden]-3-methyl-5-oxo-4,5-dihydropyrazol-1-yl]benzoová kyselina | | 412-940-2 | 148878-18-6 | R43 | Xi R: 43 S: (2)-22-24-37 | | |
| 607-476-00-4 | trinitrium-3-[bis(karboxylatomethyl)amino]propanoát trinitrium-N,N-bis(karboxylatomethyl)-β-alaminát | | 414-070-9 | 129050-62-0 | C; R34 R52-53 | C R: 34-52/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61 | | |
| 607-478-00-5 | tetramethylamonium-hydrogen-falát | | 416-900-5 | 79723-02-7 | T; R25 Xn; R48/22 N; R50 | T; N R: 25-48/22-50 S: (1/2-)25-36-45-61 | | |
| 607-479-00-0 | hexadecyl-4-chlor-3-[2-(5,5-dimethyl-2,4-dioxazolidin-3-yl)-4,4-dimethyl-3-oxopentanamido]benzoát | | 418-550-9 | 168689-49-4 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 607-480-00-6 | dialkyl-faláty (alkyly C7-C11, nerozvětvené i rozvětvené) | | 271-084-6 | 68515-42-4 | Repr. kat. 2; R61 Repr. kat. 3; R62 | T R: 61-62 S: 53-45 | | |
| 607-487-00-4 | směs: dinatrium-4-[3-(ethoxykarbonyl)-4-[5-[3-(ethoxykarbonyl)-5-hydroxy-1-(4-sulfonatofenyl)pyrazol-4-yl]penta-2,4-dien-1-yl]iden]-5-oxo-4,5-dihydropyrazol-1-yl]benzen-1-sulfonát | | 402-660-9 | — | Repr. kat. 2; R61 R52-53 | T R: 61-52/53 S: 53-45-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravným |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|-----------------------------|--|---------------------|-----------------------|
| 607-488-00-X | trinatrium-4-[3-(ethoxykarbonyl)-4-[5-[3-(ethoxykarbonyl)-5-oxido-1-(4-sulfonatofenyl)pyrazol-4-yl]penta-2,4-dien-1-yliden]-5-oxo-4,5-dihydroprazol-1-yl]benzen-1-sulfonát | | 414-210-9 | 147379-38-2 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 607-489-00-5 | směs: 2-ethylhexyl-linolenát 2-ethylhexyl-linoléat 2-ethylhexyl-oleát 2-ethylhexyl-epoxyoleát 2-ethylhexyl-diepoxylinoléat 2-ethylhexyl-triepoxylinolenát | | 414-890-7 | 71302-79-9 | R43 | Xi R: 43 S: (2)-24-37 | | |
| 607-490-00-0 | N-[3-(alkyloxy)-2-hydroxypropyl]-N-methylglycin (alkyl C12-C16) | | 415-060-7 | — | Xi; R41 R43 | Xi R: 41-43 S: (2)-24-26-37/39 | | |
| 607-492-00-1 | 2-[1-(3,3-dimethylcyklohexyl)ethoxy]-2-methylpropylpropionát | | 415-490-5 | 141773-73-1 | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 607-493-00-7 | methyl-(3aR,4R,7aR)-2-methyl-4-((1S,2R)-1,2,3-triacetoxypropyl)-3a,7a-dihydro-4H-pyrano[3,4-d]oxazol-6-karboxylát | | 415-670-3 | 78850-37-0 | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2)-26-39 | | |
| 607-494-00-2 | bis(2-ethylhexyl)-oktylfosfonát | | 417-170-0 | 52894-02-7 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 607-495-00-8 | natrium-4-sulfofenyl-6-nonanamidohexanoát | | 417-550-6 | 168151-92-6 | R43 | Xi R: 43 S: (2)-24-37 | | |
| 607-496-00-3 | 2,2'-methylenebis(4,6-di-terc-butylfenyl)-2-ethylhexyl-fosfit | | 418-310-3 | 126050-54-2 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 607-497-00-9 | cerium-oxid-isostearát cerium-oxid-1,6-methylheptadekanoát | | 419-760-3 | — | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 607-498-00-4 | (E)-3,7-dimethylokta-2,6-dien-1-yl-hexadekanoát | | 421-370-3 | 3681-73-0 | Xi; R38 R53 | Xi R: 38-53 S: (2)-37-61 | | |
| 607-499-00-X | bis[2-hydroxyethyl(dimethylamonium)]-ethylen-bis(hexadecenylsukcínát) | | 421-660-1 | — | Xi; R41 R43 N; R51-53 | Xi; N R: 41-43-51/53 S: (2)-24-26-37/39-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|--------------------------------|--|---------------------|----------------------------|
| 607-500-00-3 | kalcium-2,2-bis (5-dodecyl-2- hydroxyfenyl)acetát | | 421-670-4 | — | Xi; R38 N; R50-53 | Xi; N R: 38-50/53 S: (2-)37-60-61 | | |
| 607-501-00-9 | směs: trifenyl-fosforothiát deriváty <i>terc</i> -butylfenolů | | 421-820-9 | — | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 607-502-00-4 | Benzyltributylammonium-4- dodecylbenzen-1-sulfonát | | 422-200-0 | — | C; R34 Xn; R22 N; R51-53 | C; Xn; N R: 22-34-51/53 S: (1/2-)26- 36/37/39-45-61 | | |
| 607-503-00-X | 2,4,6- tripropyl-1,3,5,2λ ⁵ ,4λ ⁵ ,6λ ⁵ - trioxatrisfosfian-2,4,6-trion | | 422-210-5 | 68957-94-8 | C; R34 | C R: 34 S: (1/2-)26- 36/37/39-45 | | |
| 607-505-00-0 | pentanatrium-7-((4-[(4- (5-amino-4-sulfonato-2-[(4- {2-(sulfonatooxy)ethyl} sulfonyl}fenyl)azo]amino)-6-chlor- 1,3,5-triazin-2-yl)amino)-2- ureido]fenyl)azo)naftalen-1,3,6- trisulfonát | | 422-930-1 | 171599-84-1 | R52-53 | R: 52/53 S: 22-61 | | |
| 607-506-00-6 | směs: stroncium-4-chlor-5-methyl- 2-[[3- methyl-5-oxo-1-(3- sulfonato)fenyl]-4, 5-dihydropyrazol-4- yl]azo]benzen-1- sulfonát dinatrium-4-chlor-5-methyl-2- [[3-methyl-5-oxo-1- (3-sulfonato)fenyl]-4,5- dihydropyrazol-4-yl] azo]benzen-1-sulfonát | | 422-970-8 | 136248-04-9 | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 22-61 | | |
| 607-507-00-1 | kaliu-m-natriu-m-2,4-diamino- 3-[(4-[[2- (sulfonatooxy)ethyl]sulfonyl]fenyl] azo]-5-[[2-sulfonato-4-[[2- (sulfonatooxy)ethyl]sulfonyl]fenyl] azo]benzen-1-sulfonát | | 422-980-2 | 187026-95-5 | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2-)22-26-39 | | |
| 607-508-00-7 | dinatriu-m-3,3'-(iminobis [sulfonyl]-4,1-fenyl)en(5-hydroxy- 3-methylpyrazol-1,4-diy)azo- 4,1-fenylensulfonylimino (4-amino-6-hydroxypyrimidin-2,5- | | 423-110-4 | — | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2-)22-26-39 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkám |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|---------------------------|--|---------------------|----------------------------|
| 607-512-00-9 | diyl)azo-4,1-fenylsulfonylimino(4-amino-6-hydroxypyrimidin-2,5-diy)azo]di(benzen-1-sulfonát) | | 423-970-0 | 182926-43-8 | R52-53 | R: 52/53 S: 22-61 | | |
| 607-513-00-4 | směs: trinitrium-5-benzamido-4-hydroxy-3-[[1-sulfonato-6-(vinylsulfonyl)-2-naftyl]azo]naftalen-2,7-disulfonát teranatrium-5-benzamido-4-hydroxy-3-[[1-sulfonato-6-[[2-(sulfonatooxy)ethyl]sulfonyl]-2-naftyl]azo]naftalen-2,7-disulfonát 5-benzamido-4-hydroxy-3-[[1-sulfonato-6-[[2-(sulfonatooxy)ethyl]sulfonyl]-2-naftyl]azo]naftalen-2,7-disulfonová kyselina | | 423-200-3 | — | Xi; R41 R43 R52-53 | Xi R: 41-43-52/53 S: 22-26-36/37/39-61 | | |
| 607-515-00-5 | směs: dinatrium-hexyldifenylietherdisulfonát dinatrium-dihexyldifenylietherdisulfonát | | 429-650-7 | 147732-60-3 | Xi; R36 N; R51-53 | Xi; N R: 36-51/53 S: (2-)26-61 | | |
| 607-516-00-0 | N,N'-bis(trifluoracetyl)-S,S'-bis-L-homocystein | | 429-670-6 | 105996-54-1 | Xi; R41 R43 | Xi R: 41-43 S: (2-)24-26-37/39 | | |
| 607-517-00-6 | (S)-o-(acetylsulfanyl)benzenpropanová kyselina | | 430-300-0 | 76932-17-7 | Xn; R22 Xi; R41 R43 | Xn R: 22-41-43 S: (2-)22-26-36/37/39 | | |
| 607-526-00-5 | kartap (ISO) S,S'-[2-(dimethylamino)propan-1,3-diy]-bis(thiokarbamat) | | — | 15263-53-3 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 607-527-00-0 | směs: bis(1H,1H,2H,2H-tridekafuoroktyl)-dodekandioát (1H,1H,2H,2H- | | 423-180-6 | — | Xn; R48/22 | Xn R: 48/22 S: (2-)36 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|--------------------------------|--|---------------------|----------------------------|
| | heptadekafluordecyl)- (1H,1H,2H,2H- tridekafluoroktyl)- dodekandioát (1H,1H,2H,2H- henikosafluordodecyl)- (1H,1H,2H,2H- tridekafluoroktyl)- dodekandioát (1H,1H,2H,2H- pentakosafluortetradecyl)- (1H,1H,2H,2H- tridekafluoroktyl)- dodekandioát bis(1H,1H,2H,2H- heptadekafluordecyl)-dodekandioát (1H,1H,2H,2H- henikosafluordodecyl)- (1H,1H,2H,2H- heptadekafluordecyl)- dodekandioát | | | | | | | |
| 608-031-00-7 | 2-benzyl-2-methylbut-3-enitril | | 407-870-4 | 97384-48-0 | Xn; R22 R52-53 | Xn R: 22-52/53 S: (2-)61 | | |
| 608-033-00-8 | 1-butylo-5-[(2-chlor-4- nitrofenyl)hydrazono]-4-methyl- 2,6- dioxo-1,2,5,6-tetrahydropyridin-3- karbonitril | | 407-970-8 | 75511-91-0 | R43 R52-53 | Xi R: 43-52/53 S: (2-)24-37-61 | | |
| 608-034-00-3 | chlorfenapyr (ISO) 4-brom-2-(4-chlorfenyl)- 1-(ethoxymethyl)-5-(trifluormethyl) pyrrol-3-karbonitril | | — | 122453-73-0 | T; R23 Xn; R22 N; R50-53 | T; N R: 22-23-50/53 S: (1/2-)13- 36/37-45-60-61 | | |
| 608-035-00-9 | (±)-2-(2-acetyl-5-methylamino)- 2-(2,6-dichlorfenyl)acetonitril | | 419-290-9 | — | R43 R53 | Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61 | | |
| 608-036-00-4 | 3-(2-(4-[2-(4-kyanfenyl)vinyl] fenyl)vinyl)benzonitril | | 419-060-8 | 79026-02-1 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 608-037-00-X | směs: (E)-trideka-2,1,2-diennitril | | 422-190-8 | 124071-40-5 | N; R50-53 | N R: 50/53 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkám |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|---|--|---------------------|----------------------------|
| 608-038-00-5 | (E)-trideka-3,12-dienitril (Z)-trideka-3,12-dienitril | | 422-580-8 | 75490-39-0 | Xn; R22 N; R51-53 | S: 60-61 | | |
| 608-039-00-0 | 4-fenyl-2,2,4-trimethylbutanitril | | 423-460-8 | 3508-98-3 | Xn; R22 N; R50-53 | Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)61 | | |
| 608-040-00-6 | 2-fenylhexanitril | | 423-490-1 | 130755-46-3 | Xn; R22 N; R50-53 | Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)23-60-61 | | |
| 608-041-00-1 | 4,4'-disulfanylbis(5-amino-1-[2,6-dichlor-4-(trifluormethyl)fenyl]pyrazol-3-karbonitril) | | 423-500-4 | 138401-24-8 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 608-043-00-2 | 4'-[(2-butyl-4-oxo-1,3-diazaspiro[4.4]non-1-en-3-yl)methyl]bifeny]-2-karbonitril | | 415-220-6 | 142653-61-0 | T; R23 Xn; R22 N; R50-53 | T; N R: 22-23-50/53 S: (1/2-)13-36/37-45-60-61 | | |
| 609-064-00-X | mesotrion (ISO) 2-(4-mesy]-2-nitrobenzoyl)cyklohexan-1,3-dion | | — | 104206-82-8 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 609-066-00-0 | litium-natrium-2-[(4,6-bis[(10-amino-6,13-dichlor-4,11-disulfonatobenzoyl]oxazino[2,3-b]fenoxazin-3-yl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl]methylamino)ethan-1-sulfonát | | 418-870-9 | 154212-58-5 | Xn; R20/21/22-68/20/21/22 | Xn R: 20/21/22-68/20/21/22 S: (2-)36/37 | | |
| 609-067-00-6 | natrium- a kalium-2-[(3-aminopropyl)amino]-4,6-bis[(5-hydroxy-6-[(4-methoxy-2-sulfonatofenyl)azo]-7-sulfonato-2-nafyl)amino]-1,3,5-triazin | | 416-280-6 | 156769-97-0 | R43 | Xi R: 43 S: (2-)22-24-37 | | |
| 609-068-00-1 | 5-terc-butyl-1,3-dimethyl-2,4,6-trinitrobenzen | | 201-329-4 | 81-15-2 | Karc. kat. 3; R40 E; R2 N; R50-53 | E; Xn; N R: 2-40-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|--------------------------------|--|---------------------|-----------------------|
| 609-070-00-2 | 1,4-dichlor-2-(1,1,2,3,3,3-hexafluorpropoxy)-5-nitrobenzen | | 415-580-4 | 130841-23-5 | Xn; R22 R43 N; R50-53 | Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2)-36/37/39-60-61 | | |
| 609-071-00-8 | směs: 2,4-bis(2-hydroxy-4-methoxyfenyl)-6-(methylsulfanyl)-1,3,5-triazin 2-[4,6-bis(methylsulfanyl)-1,3,5-triazin-2-yl]-5-methoxyfenol | | 423-520-3 | 156137-33-6 | R43 | Xi R: 43 S: (2)-22-24-37 | | |
| 611-099-00-0 | 1,1'-(metylen)bis[(4,1-fenyl)en]azo[1-[3-(dimethylamino)propyl]-6-hydroxy-4-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-5,3-diy]]dipyridinium-dichlorid-dihydrochlorid | | 401-500-5 | — | Karc. kat. 2; R45 N; R51-53 | T; N R: 45-51/53 S: 53-45-61 | | |
| 611-100-00-4 | kaliurnatrium-3,3'-(3(4)-methyl-1,2-fenyl)en)bis[imino(6-chlor-1,3,5-triazin-4,2-diy)]imino(2-acetamido-5-methoxy-4,1-fenyl)en]azo]dinaftalen-1,5-disulfonát | | 403-810-6 | 140876-13-7 | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2)-26-39 | | |
| 611-101-00-X | 2'-[(4-chlor-5-fornyl-3-kyan-2-thienyl)azo]-5'-(diethylamino)acetamid | | 405-200-5 | 104366-25-8 | R43 | Xi R: 43 S: (2)-22-24-37 | | |
| 611-103-00-0 | trinatrium-[[5-hydroxy-1-(3-karboxylato-2-oxido-5-sulfonatofenyl)azo]-7-sulfonatonaftalen-2-amido]nikelnatý komplex | | 407-110-1 | — | Xi; R41 R43 N; R51-53 | Xi; N R: 41-43-51/53 S: (2)-24-26-37/39-61 | | |
| 611-104-00-6 | směs: {2,4(nebo 2,6)-bis[(3,5-dinitro-2-oxidofenyl)azo]-5-hydroxyfenolato}(2(nebo 4 nebo 6)-[(3,5-dinitro-2-oxidofenyl)azo]-5-hydroxy-4(nebo 2 nebo 6)-[[4-(4-nitro-2-sulfonatoamino)fenyl]azo]fenolato)železitan trisodný bis((2,4(nebo 2,6)-bis[(3,5-dinitro-2-oxidofenyl)azo]-5-hydroxyfenolato)železitan trisodný ((2,4(nebo 2,6)- | | 406-870-1 | — | R43 N; R51-53 | Xi; N R: 43-51/53 S: (2)-24-37-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|------------------|--|---------------------|----------------------------|
| 611-105-00-1 | bis[(3,5-dinitro-2-oxido-fenyl)azo]-5-hydroxyfenolato} (2 nebo 4 nebo 6)-[(3,5-dinitro-2-oxido-fenyl)azo]-5-hydroxy-4(nebo 2 nebo 6)-[(4-nitro-2-sulfonato-fenyl)azo]fenolato}železitan trisodný (2,4(nebo 2,6)-bis[(3,5-dinitro-2-oxido-fenyl)azo]-5-hydroxyfenolato} (2 nebo 4 nebo 6)-[(3,5-dinitro-2-oxido-fenyl)azo]-5-hydroxy-4(nebo 2 nebo 6)-[(3-sulfonato-fenyl)azo]fenolato}železitan trisodný dinatrium-3,3'-[(2,4(nebo 4,6)-dihydroxy-1,3-fenyl(en)bisazo]dibenzen-1-sulfonát | | 407-800-2 | 136213-75-7 | R43 N: R51-53 | Xi: N R: 43-51/53 S: (2)-22-24-37-61 | | |
| 611-106-00-7 | hexanatrium-4,4'-dihydroxy-3,3'-bis[(2-sulfonato-4-[(4-sulfonato-fenyl)azo]fenyl)azo]-7,7'-[1,4-fenylenbis(imino(6-chlor-1,3,5-triazin-4,2-diy)imino)]dimafalen-2-sulfonát | | 410-180-6 | — | Xi: R41 | Xi R: 41 S: (2)-26-39 | | |
| 611-107-00-2 | kaliu-m-natrium-4-[[4-chlor-6-((7-[(5,8-disulfonato-2-naftyl)azo]-8-hydroxy-3,6-disulfonato-1-naftyl)amino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-5-hydroxy-6-[(4-[(2-sulfonatooxy)ethyl]sulfonyl]fenyl)azo]naftalen-1,7-disulfonát | | 412-490-7 | — | R43 | Xi R: 43 S: (2)-22-24-37 | | |
| 611-108-00-8 | dinatrium-8-amilino-5-[(4-[(4-chlor-3-sulfonato-fenyl)azo]-1-naftyl)azo]naftalen-1-sulfonát | | 413-600-6 | 6527-62-4 | R52-53 | R: 52/53 S: 61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|------------------------------|--|---------------------|----------------------------|
| 611-109-00-3 | produkty reakce síranu měďnatého a tetranatrium-2-[(2-hydroxyethyl)amino]-4,6-bis[(5-hydroxy-6-[(2-methoxy-5-sulfonatofenyl)azo]-7-sulfonato-2-naftyl)amino]-1,3,5-triazinu (2:1) | | 407-710-3 | — | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 611-110-00-9 | tetranatrium/lithium-4,4'-bis[(8-amino-1-hydroxy-3,6-disulfonato-2-naftyl)azo]-3-methylazobenzen | | 408-210-8 | 124605-82-9 | R43 N; R51-53 | Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-28-37-61 | | |
| 611-111-00-4 | (dinatrium-2-(4-[(2-chlorethyl)sulfonyl]fenyl)-[(2-hydroxy-5-sulfonato-3-[(2-(sulfonatooxyethyl)sulfonyl]fenyl)azo]-4-sulfonatobenzoato) mědný komplex | | 414-230-8 | — | R43 | Xi R: 43 S: (2-)22-24-37 | | |
| 611-112-00-X | tetranatrium-4-hydroxy-5-[(4-morfolino-6-(3-[(2-(sulfonatooxyethyl)sulfonyl]anilino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino)-3-[(1-sulfonato-2-naftyl)azo]naftalen-2,7-disulfonát | | 413-070-6 | — | R43 | Xi R: 43 S: (2-)22-24-37 | | |
| 611-113-00-5 | [2-[(5-[(2,5-dichlorfenyl)azo]-2-hydroxybenzyl)amino]benzoato] 2-[(1-fenyl-3-methyl-5-oxo-4,5-dihydropyrazol-4-yl)azo]-5-sulfobenzoato)chromitan lithno-sodný | | 414-280-0 | 149626-00-6 | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 24/25-61 | | |
| 611-114-00-0 | {4-[(5-chlor-2-hydroxyfenyl)azo]-3-methyl-4,5-dihydropyrazol-5-onato}(4-hydroxy-3-[[3-methyl-1-(4-methylfenyl)-5-oxo-4,5-dihydropyrazol-4-yl]azo]-5-nitrobenzen-1-sulfonato)chromitan lithno-sodný | | 414-250-7 | 149564-66-9 | Xn; R22 Xi; R41 R52-53 | Xn R: 22-41-52/53 S: (2-)22-26-39-61 | | |
| 611-115-00-6 | bis(4-[(4-(diethylamino)-2-hydroxyfenyl)azo]-3-hydroxynaftalen-1-sulfonato)chromitan trilitný | | 414-290-5 | 149564-65-8 | Xn; R22 R52-53 | Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|---|-------------------|-------------|----------------|---|----------|---------------------|----------------------------|
| 611-1116-00-1 | směs: trinitrium-5-[[4-chlor-6-((2- [[2,6-dichlor- 5-kyanpyrimidin-4-yl]amino] propyl)amino)-1,3,5-triazin- 2-yl]amino]-4-hydroxy-3- [[1-sulfonato-2-naftyl]azo] naftalen-2,7-disulfonát trinitrium-5-[[4-chlor-6- (2-[[2,6-dichlor-5-kyanpyrimidin- 4-yl]amino]-1-methylethyl)amino]- 1,3,5-triazin-2-yl]amino]- 4-hydroxy-3-[[1-sulfonato- 2-naftyl]azo]naftalen-2,7-disulfonát trinitrium-5-[[4-chlor-6-((2- [[4,6-dichlor-5-kyanpyrimidin- 2-yl]amino]propyl)amino)- 1,3,5-triazin-2-yl]amino]- 4-hydroxy-3-[[1-sulfonato- 2-naftyl]azo]naftalen-2,7-disulfonát trinitrium-5-[[4-chlor-6-((2- [[4,6-dichlor-5-kyanpyrimidin- 2-yl]amino]-1-methylethyl)amino)- 1,3,5-triazin-2-yl]amino]- 4-hydroxy-3-[[1-sulfonato- 2-naftyl]azo]naftalen-2,7-disulfonát | 414-620-8 | — | Xi; R41 R43 | Xi R: 41-43 S: (2)-22-24-26-37/39 | | | |
| 611-1117-00-7 | 1,3-bis[[4-[[5-[[1-ethyl-2- hydroxy-5-karbamoyl-4-methyl- 6-oxido-1,6-dihydropyridin- 3-yl]azo]-2,4-disulfoanilino]-6- fluor- 1,3,5-triazin-2-yl]amino]propan, litná a sodná sůl | 415-100-3 | 149850-29-3 | R43 | Xi R: 43 S: (2)-22-24-37 | | | |
| 611-1118-00-2 | 1,2-bis((4-fluor-6-[[4-((2- sulfo-4- [[4-sulfofenyl]azo]fenyl)azo)-2- ureidoanilino]- 1,3,5-triazin-2-yl]amino)propan, sodná sůl | 413-990-8 | 149850-31-7 | R43 | Xi R: 43 S: (2)-22-24-37 | | | |
| 611-1119-00-8 | tetranatrium-5-[[4-chlor-6-(4- methyl-2-sulfonatoanilino)-1,3,5- triazin-2-yl]amino]-3-[[4,5- dimethyl-2-sulfonatofenyl]azo]- 4-hydroxy-naftalen-2,7-disulfonát | 415-400-4 | 148878-22-2 | Xi; R41 R43 | Xi R: 41-43 S: (2)-22-24-26-37/39 | | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|----------------------|--|---------------------|----------------------------|
| 611-120-00-3 | pentanatrium-5-[(4-(5-amino-4-sulfonato-2-[(4-((2-sulfonatooxyethyl)sulfonyl)fenyl)azo]anilino)-6-chlor-1,3,5-triazin-2-yl)amino]-4-hydroxy-3-[(1-sulfonato-2-naftyl)azo]naftalen-2,7-disulfonát | | 418-340-7 | 157707-94-3 | Xi; R41 R52-53 | Xi R: 41-52/53 S: (2-)22-26-39-61 | | |
| 611-121-00-9 | {5'-[(4-methoxyfenyl)azo]naftalen-1-azobenzen-2,2'-diolato}(4-sulfonatonaftalen-1-azo-1-naftalen-2,2'-diolato)chromitan disodný | | 417-280-9 | 30785-74-1 | Xi; R41 N; R50-53 | Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61 | | |
| 611-122-00-4 | hexanatrium-bis(N-(3-[(4-(5-[(5-amino-1-fenyl-3-methylpyrazol-4-yl)azo]-2,4-disulfonatoanilino)-6-chlor-1,3,5-triazin-2-yl)amino]fenyl)sulfamoyl)fralocyanindisulfonát, nikelnatý komplex | | 417-250-5 | 151436-99-6 | Xi; R41 R43 | Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39 | | |
| 611-123-00-X | (3-[[4,6-bis(4-[[8-(4,6-bis[[2-aminopropyl]amino]-1,3,5-triazin-2-yl)amino]-1-hydroxy-3,6-disulfo-2-naftyl]azo]anilino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]propyl)diethylamonium-laktát | | 424-310-4 | 178452-66-9 | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2-)26-39 | | |
| 611-124-00-5 | směs: pentanatrium-4-amino-6-[(5-[[4-chlor-6-(4-[[2-sulfonatooxyethyl]sulfonyl]anilino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-2-sulfonato)fenyl]azo]-3-[[5-(2,3-dibrompropanamido)-2-sulfonato]fenyl]azo]-5-hydroxy-naftalen-2,7-disulfonát | | 424-320-9 | 180778-23-8 | Xi; R41 N; R51-53 | Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkám |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|--------------------------------|---|---------------------|----------------------------|
| 611-125-00-0 | <p>pentanatrium-4-amino-3- [[5-(2-bromakrylamido)- 2-sulfonatofenyl]azo]-6-[(5- [[4-chlor-6-(4- [[2-(sulfonatooxy)ethyl] sulfonyl]anilino)-1,3,5-triazin- 2-yl]amino)-2-sulfonatofenyl]azo]- 5-hydroxynaftalen-2,7-disulfonát tetranatrium-4-amino-6-[[5- ((4-chlor-6-[4-(vinylsulfonyl) anilino)-1,3,5-triazin- 2-yl]amino)-2-sulfonatofenyl]azo]- 3-[[5-(2,3-dibromopropanamido)- 2-sulfonatofenyl]azo]- 5-hydroxynaftalen-2,7-disulfonát</p> <p>směs: dinatrium-6-[[3-karboxy-5- oxo-1- (4-sulfonatofenyl)-4,5- dihydropyrazol- 4-yl]azo]-3-[[5-methoxy- 2-oxido-4-(vinylsulfonyl) fenyl]azo]-4- oxidonaftalen-2-sulfonát, mědnatý komplex dinatrium-3-((4- [[2-hydroxyethyl]sulfonyl]-5- methoxy-2-oxidofenyl]azo)- 6-[[3-karboxy-5-oxo-1- (4-sulfonatofenyl)-4, 5-dihydropyrazol-4-yl]azo]- 4-oxidonaftalen-2-sulfonát, mědnatý komplex</p> | | 423-940-7 | — | Xi: R41 N: R51-53 | Xi: N R: 41-51/53 S: (2)-26-39-61 | | |
| 611-126-00-6 | <p>2,4-bis(2-[[4- (4-aminoanilino)fenyl]azo]-1,3- dimethyl-1 H-imidazol-1,3-dium-1-yl)- 6-(dimethylamino)-1,3,5-triazin- dichlorid</p> | | 424-120-1 | 174514-06-8 | Xi: R41 N: R50-53 | Xi: N R: 41-50/53 S: (2)-26-39-60-61 | | |
| 611-127-00-1 | <p>pentanatrium-4-amino-6- [[5-[[4-(2-ethylanilino)-6- [[2-(sulfonatooxy)ethyl]sulfonyl]- 1,3,5-triazin-2-yl]amino]- 2-sulfonatofenyl]azo]- 5-hydroxy-3-[[4-[[2- (sulfonatooxy)ethyl]sulfonyl]fenyl] azo]naftalen-2,7-disulfonát</p> | | 423-790-2 | — | R5 Xi: R41 R43 R52-53 | Xi R: 5-41-43-52/53 S: (2)-22-26- 36/37/39-41-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k příprávkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|--|---|---------------------|-----------------------|
| 611-128-00-7 | N,N'-bis(6-chlor-4-[(8-hydroxy-3,6-disulfo-7-[(4-(vinylsulfonyl)fenyl)azo]-1-naftyl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl)-N-(2-hydroxyethyl)ethan-1,2-diamin, sodná sůl | | 419-500-9 | 171599-85-2 | Xi; R41 R43 | Xi R: 41-43 S: (2)-22-24-26-37/39 | | |
| 611-129-00-2 | směs: 5-((4-[(7-amino-1-hydroxy-3-sulfo-2-naftyl)azo]-2,5-dithoxyfenyl)azo)-2-[[3-fosfonofenyl)azo]benzoová kyselina 5-((4-[(7-amino-1-hydroxy-3-sulfo-2-naftyl)azo]-2,5-dithoxyfenyl)azo)-3-[(3-fosfonofenyl)azo]benzoová kyselina | | 418-230-9 | 163879-69-4 | E; R2 Repr. kat. 3; R62 Xn; R48/22 R43 N; R51-53 | E; Xn; N R: 2-43-48/22-62-51/53 S: (2)-26-35-36/37-61 | | |
| 611-130-00-8 | tetraamonium-2-[[4-hydroxy-6-((8-hydroxy-7-[(2-karboxylatofenyl)azo]-3,6-disulfonato-1-naftyl)amino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino]benzoát | | 418-520-5 | 183130-96-3 | Xi; R36 N; R50-53 | Xi; N R: 36-50/53 S: (2)-26-39-60-61 | | |
| 611-131-00-3 | 2-[(3-[(2-chlorofenyl)karbamoyl]-2-hydroxy-1-naftyl)azo]-7-[(2-hydroxy-3-[(3-methylfenyl)karbamoyl]-1-naftyl)azo]fluoren-9-on | | 420-580-2 | — | Repr. kat. 2; R61 R53 | T R: 61-53 S: 53-45-61 | | |
| 611-132-00-9 | bis(7-[(4-[(1-butyl-2-hydroxy-5-kyan-4-methyl-6-oxo-1,6-dihydro-3-pyridyl)azo]benzen-1-sulfonamido)-5'-nitro-3,3'-disulfonatonaftalen-2-azobenzen-1,2'-diolato]chromitan pentasodný | | 419-210-2 | — | Xi; R41 R52-53 | Xi R: 41-52/53 S: (2)-26-39-61 | | |
| 611-133-00-4 | odné soli železitých komplexů azobarviv získaných azokopulací směsí diazotovaného 3-amino-4-hydroxybenzen-1-sulfonamidu a diazotovaného 3-amino-4-hydroxybenzen-1-sulfonamidu s resorcinolem, | | 419-260-5 | — | Xi; R41 N; R51-53 | Xi; N R: 41-51/53 S: (2)-26-39-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k příprávkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|--|---|---|-----------------------|
| 611-134-00-X | s další azokopulační vzniklé směsi azobarviv se směsí diazotované metanilové kyseliny a 2-(4-aminoanilino)-5-nitrobenzen-1-sulfonové kyseliny a následnou reakcí s chloridem železitým | | 423-770-3 | — | Xi; R41 N; R51-53 | Xi; N R: 41-51/53 S: (2)-22-26-39-61 | | |
| 611-135-00-5 | produkt reakce 2-[(4-amino-2-ureidofenyl)azo]-5-[(2-(sulfooxyethyl)sulfonyl)benzen-1-sulfonové kyseliny a 2,4,6-trifluorpyrimidinu a částečné eliminace na (vinylsulfonyl)derivát, směsná sodná/draselhá sůl | | 424-250-9 | — | Xi; R41 R52-53 | Xi R: 41-52/53 S: (2)-26-39-61 | | |
| 611-136-00-0 | 2-amino-2-[(4-[(2-amoniopropyl)amino]-6-[(5-hydroxy-6-[(2-methoxy-5-methyl-4-sulfamoylfenyl)azo]-7-sulfonato-2-naftyl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl)]amino)propyl]formiát | | 424-260-3 | — | Repr. kat. 3; R62 Xi; R41 N; R51-53 | Xn; N R: 41-62-51/53 S: (2)-22-26-36/37/39-61 | | |
| 611-137-00-6 | 6- <i>terc</i> -butyl-7-chlor-3-tridecyl-7,7a-dihydro-1H-pyrazolo [5,1-c][1,2,4]triazol | | 419-870-1 | 159038-16-1 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 611-138-00-1 | 2-(4-aminofenyl)-6- <i>terc</i> -butyl-1H-pyrazolo[1,5-b][1,2,4]triazol | | 415-910-7 | 152828-25-6 | R43 N; R51-53 | Xi; N R: 43-51/53 S: (2)-22-24-37-61 | | |
| 611-140-00-2 | azafenidin (ISO) | | — | 68049-83-2 | T; R48/22 Repr. kat. 2; R61 Repr. kat. 3; R62 N; R50-53 | T; N R: 61-48/22-62-50/53 S: 53-45-60-61 | C ≥ 0.025 %; N; R50/53 0.0025 % ≤ C < 0.025 %; N; R51/53 0.00025 % ≤ C < 0.0025 %; R52/53 | |
| 612-184-00-5 | 2'-anilino-6'-(dibutylamino)-3'-methyl-1,3-dihydrospiro [isobenzofuran- | | 403-830-5 | 89331-94-2 | R52-53 | R: 52/53 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|--|---|---------------------|----------------------------|
| | 1,9'-xanthen]-3-on | | | | | S: 61 | | |
| 612-185-00-0 | (3-{4-[(heptadekafluoronyl)oxy]benzamido}propyl)trimethylamonium-jodid | | 407-400-8 | 59493-72-0 | Xi; R41 N; R50-53 | Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61 | | |
| 612-186-00-6 | bis[(5-fenyl-7-hydroxy-8-methyl-3,5-dihydrofenzazin-3-yliden)dimethylamonium]-sulfát | | 406-770-8 | 149057-64-7 | Xn; R48/22 Xi; R41 R43 N; R50-53 | Xn; N R: 41-43-48/22-50/53 S: (2-)22-26-36/37/39-60-61 | | |
| 612-187-00-1 | 2,3,4-trifluoranilin | | 407-170-9 | 3862-73-5 | Xn; R21/2-48/22 Xi; R38-41 N; R51-53 | Xn; N R: 21/22-38-41-48/22-51/53 S: (2-)23-26-36/37/39-61 | | |
| 612-188-00-7 | 4,4'-(9H-fluoren-9,9-diy)bis(2-chloranilin) | | 407-560-9 | 107934-68-9 | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 612-189-00-2 | 4-amino-2-(aminomethyl)fenol-dihydrochlorid | | 412-510-4 | 135043-64-0 | Xn; R22 R43 N; R50-53 | Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)22-24-37-60-61 | | |
| 612-190-00-8 | 4,4'-metylenbis(2-isopropyl-6-methylanilin) | | 415-150-6 | 16298-38-7 | Xn; R48/22 N; R51-53 | Xn; N R: 48/22-51/53 S: (2-)36-61 | | |
| 612-191-00-3 | poly(allylamin)-hydrochlorid | | 415-050-2 | 71550-12-4 | Xn; R22 R43 | Xn R: 22-43 S: (2-)36/37 | | |
| 612-192-00-9 | 2-isopropyl-4-[(methylamino)methyl]thiazol | | 414-800-6 | 154212-60-9 | Xn; R21/22 Xi; R38-41 N; R51-53 | Xn; N R: 21/22-38-41-51/53 S: (2-)26-36/37/39-61 | | |
| 612-193-00-4 | 3-[(methylamino)methyl]anilin | | 414-570-7 | 18759-96-1 | Xn; R21/22 C; R34 R43 N; R50-53 | C; N R: 21/22-34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61 | | |
| 612-194-00-X | [2-hydroxy-3-(2-[N-(2-hydroxyethyl) oteradekanamido]ethyl)amino]-propyl]trimethylamonium-chlorid | | 414-670-0 | 141890-30-4 | Xn; R22 Xi; R41 N; R50-53 | Xn; N R: 22-41-50/53 S: (2-)26-39-60-61 | | |
| 612-195-00-5 | bis[tributyl(4-methylbenzyl)amonium]-naftalen-1,5-disulfonát | | 415-210-1 | — | Xn; R20/22 Xi; R41 N; R50-53 | Xn; N R: 20/22-41-50/53 S: (2-)26-36/39-60-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|--|-------------------|--------------------------------|------------------------------------|---|--|---------------------|----------------------------|
| 612-196-00-0 | 4-chlor-2-methylamin [1] 4-chlor-2-methylamin- hydrochlorid [2] | E | 202-441-6 [1] 221-627-8 [2] | 95-69-2 [1] 3165-93- 3 [2] | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 T; R23/24/25 N; R50-53 | T; N R: 45-23/24/25-68-50/53 S: 53-45-60-61 | | |
| 612-197-00-6 | 2,4,5-trimethylamin [1] 2,4,5-trimethylamin-hydrochlorid [2] | E | 205-282-0 [1] — [2] | 137-17-7 [1] 21436-97- 5 [2] | Karc. kat. 2; R45 T; R23/24/25 N; R51-53 | T; N R: 45-23/24/25-51/53 S: 53-45-61 | | |
| 612-198-00-1 | 4,4'-sulfandiamin a jeho soli | E | 205-370-9 | 139-65-1 | Karc. kat. 2; R45 Xn; R22 N; R51-53 | T; N R: 45-22-51/53 S: 53-45-61 | | |
| 612-199-00-7 | 4,4'-oxydianilin a jeho soli bis(4-aminofenyl)ether a jeho soli | E | 202-977-0 | 101-80-4 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 2; R46 Repr. kat. 3; R62 T; R23/24/25 N; R51-53 | T; N R: 45-46-23/24/25- 62-51/53 S: 53-45-61 | | |
| 612-200-00-0 | 2,4-diaminoanisole 4-methoxy-1,3-fenylendiamin [1] 4-methoxy-1,3-fenylendiamin-sulfát [2] | | 210-406-1 [1] 254-323-9 [2] | 615-05-4 [1] 39156-41- 7 [2] | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 Xn; R22 N; R51-53 | T; N R: 45-22-68-51/53 S: 53-45-61 | | |
| 612-201-00-6 | N,N,N',N'-tetramethyl-4,4'- methylendiamin | | 202-959-2 | 101-61-1 | Karc. kat. 2; R45 N; R50-53 | T; N R: 45-50/53 S: 53-45-60-61 | | |
| 612-202-00-1 | 3,4-dichloramin | | 202-448-4 | 95-76-1 | T; R23/24/25 Xi; R41 R43 N; R50-53 | T; N R: 23/24/25-41- 43-50/53 S: (1/2)-26- 36/37/39-45-60-61 | | |
| 612-204-00-2 | C.I. Basic Violet 3 (4-{bis[4-(dimethylamino) fenyl]methyliden}cyclohexa-2,5- dien-1-yliden)dimethylamonium- chlorid | | 208-953-6 | 548-62-9 | Karc. kat. 3; R40 Xn; R22 Xi; R41 N; R50-53 | Xn; N R: 22-40-41-50/53 S: (2)-26- 36/37/39-46-60-61 | | |
| 612-205-00-8 | C.I. Basic Violet 3 s ≥ 0,1 % Míchle- rova ketonu (č. ES 202-027-5) | E | 208-953-6 | 548-62-9 | Karc. kat. 2; R45 Xn; R22 Xi; R41 N; R50-53 | T; N R: 45-22-41-50/53 S: 53-45-60-61 | | |
| 612-206-00-3 | famoxadon (ISO) 3-anilino-5- (4-fenoxifenyl)-5- methylloxazolidin- 2,4-dion | | — | 131807-57-3 | Xn; R48/22 N; R50-53 | Xn; N R: 48/22-50/53 S: (2)-46-60-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|--|-------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--|---|---------------------|----------------------------|
| 612-209-00-X | 6-methoxy- <i>m</i> -toluidine <i>p</i> -cresidine | E | 204-419-1 | 120-71-8 | Karc. kat. 2; R45 Xn; R22 | T R: 45-22 S: 53-45 | | |
| 612-210-00-5 | 2-methyl-5-nitroanilin [1] 2-methyl-5-nitroanilin- hydrochlorid [2] | | 202-765-8 [1] 256-960-8 [2] | 99-55-8 [1] 51085- 52-0 [2] | Karc. kat. 3; R40 T; R23/24/25 R52-53 | T R: 23/24/25-40-52/53 S: (1/2-)36/37-45-61 | | |
| 612-211-00-0 | 4-[(N-(benzotriazol-1-yl)methyl) sulfamoyl]benzoová kyselina | | 416-470-9 | — | Xi; R36 N; R51-53 | Xi; N R: 36-51/53 S: (2-)26-61 | | |
| 612-212-00-6 | 2,6-dichlor-4-(trifluormethyl)anilin | | 416-430-0 | 24279-39-8 | Xn; R20/22 Xi; R38 R43 N; R50-53 | Xn; N R: 20/22-38-43-50/53 S: (2-)24-37-60-61 | | |
| 612-213-00-1 | N-isobutyliden-2-(2-isopropyl- 4,4-dimethyloxazolidin-3-yl)- 1,1-dimethylethan-1-amin | | 419-850-2 | 148348-13-4 | C; R34 R52-53 | C R: 34-52/53 S: (1/2-)23-26- 36/37/39-45-61 | | |
| 612-214-00-7 | 4-(2,2-difenyloviny)-N,N- difenyylanilin | | 421-390-2 | 89114-90-9 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 612-215-00-2 | 3-chlor-2-(isopropylsulfanyl)anilin | | 421-700-6 | 179104-32-6 | Xi; R38 N; R51-53 | Xi; N R: 38-51/53 S: (2-)37-61 | | |
| 612-217-00-3 | 1-methoxypropan-2-amin | | 422-550-4 | 74338-72-0 | F; R11 C; R34 Xn; R22 R52-53 | F; C; Xn R: 11-22-34-52/53 S: (1/2-)9-26- 36/37/39-45-61 | | |
| 613-181-00-1 | 5,5-dimethylhexahydropyrimidin- 2-on-(3-[4-(trifluormethyl)fenyl]- 1-[4-(trifluormethyl)styril]prop-2- en-1- yliden)hydrazon | | 405-090-9 | 67485-29-4 | T; R48/25 Xn; R22 Xi; R36 N; R50-53 | T; N R: 22-36-48/25-50/53 S: (1/2-)22-26- 36/37-45-60-61 | | |
| 613-182-00-7 | 1-(1-naftylmethyl)chinolin- hydrochlorid | | 406-220-7 | 65322-65-8 | Karc. kat. 3; R40 Mut. kat. 3; R68 Xn; R22 Xi; R38-41 R52-53 | Xn R: 22-38-40-41-52/53-68 S: (2-)22-26- 36/37/39-61 | | |
| 613-183-00-2 | směs: 5-[(N- methylperfluoroktansulfonamido) methyl]- 3-oktadecyl-1,3- oxazolidin-2-on 5-[(N- | | 413-640-4 | — | Xn; R48/22 N; R50-53 | Xn; N R: 48/22-50/53 S: (2-)36-60-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkám |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|--|--|---------------------|----------------------------|
| | methylperfluorheptansulfonamido methyl]-3-oktadecyl-1,3- oxazolidin-2-on | | | | | | | |
| 613-184-00-8 | 1,1',1"-nitrotris(ethylenimino) tripropan-2-ol-tris(2-ethylhexanoát) | | 413-670-8 | — | Xi; R36 R43 | Xi R: 36-43 S: (2-2)24-26-37 | | |
| 613-185-00-3 | 2-methyl-5,6-dihydro-6aH- cyklopentia[d][1,2]thiazol-3(2H)-on | | 407-630-9 | 82633-79-2 | T; R25 Xi; R41 R43 N; R50-53 | T; N R: 25-41-43-50/53 S: (1/2)22-26- 36/37/39-45-60-61 | | |
| 613-186-00-9 | (2R,3R)-3-((R)-1-((terc- butyl(dimethylsilyl) oxy)ethyl)-4- oxoazetidín-2-yl)-acetát | | 408-050-9 | 76855-69-1 | Xi; R36 R43 N; R51-53 | Xi; N R: 36-43-51/53 S: (2-2)24-26-37-61 | | |
| 613-188-00-X | 1-[(3-(4-fluorfenoxyl)propyl]- 3-methoxy piperidin-4-on | | 411-500-7 | 116256-11-2 | Xn; R22 Xi; R41 R43 N; R51-53 | Xn; N R: 22-41-43-51/53 S: (2-2)2-24-26-37/39-61 | | |
| 613-189-00-5 | 1,4,7,10-tetraosyl- 1,4,7,10-tetraazacyklododekan | | 414-030-0 | 52667-88-6 | R43 N; R50-53 | Xi; N R: 43-50/53 S: (2-2)24-37-60-61 | | |
| 613-190-00-0 | dinatrium-1-amino-4-(2- [(5-chlor-6-fluorpyrimidin-4- yl)amino]methyl)-4-methyl-6- sulfonatoamino)-9,10-dioxo- 9,10-dihydroanthracen-2-sulfonát | | 414-040-5 | 149530-93-8 | Xn; R22 R43 | Xn R: 22-43 S: (2-2)2-24-37 | | |
| 613-191-00-6 | 3-ethyl-2-isopenyl-2- methylloxazolín | | 421-150-7 | 143860-04-2 | Repr. kat. 2; R60 C; R34 N; R50-53 | T; N R: 60-34-50/53 S: 53-45-60-61 | | |
| 613-193-00-7 | (pentakis[[3-(dimethylamono) propyl]sulfamoyl]((2- hydroxypropan-1,3-diy)bis [[dimethylimino]propan-3,1- diyliminosulfonyl] bis(ftalocyanin-2,9,3,1-diido) mědnatý komplex, heptakisaktát | | 414-930-3 | — | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 613-194-00-2 | lithium-natrium-6,13-dichlor-3,10- bis((2-[[4-fluor-6-(2- sulfonatoamino)- 1,3,5-triazin-2-yl]amino] propyl)amino]benzo[5,6][1,4] oxazino[2,3-b]fenoxazin-4,11- disulfonát | | 418-000-8 | 163062-28-0 | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2-2)2-26-39 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k příprávkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|--|--|---------------------|-----------------------|
| | acid, lithium, sodium salt | | | | | | | |
| 613-195-00-8 | 2,2'-(1,4-fenylethyl)bis(4H-3,1-benzoxazin-4-on) | | 418-280-1 | 18600-59-4 | R43 R53 | Xi R: 43-53 S: (2)-24-37-61 | | |
| 613-196-00-3 | sodium-5-((4-chlor-6-((2-((4-fluor-6-((5-hydroxy-6-((4-methoxy-2-sulfonato)fenyl)azo)-7-sulfonato-2-naftyl)amino)-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-1-methylethyl)amino)-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-4-hydroxy-3-((4-(vinylsulfonyl)fenyl)azo)naftalen-2,7-disulfonát | | 418-380-5 | 168113-78-8 | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2)-26-39 | | |
| 613-197-00-9 | směs: 2,4,6-tris(butylkarbamoyl)-1,3,5-triazin 2,4,6-tris(methylkarbamoyl)-1,3,5-triazin 2-(butylkarbamoyl)-4,6-bis(methylkarbamoyl)-1,3,5-triazin 2,4-bis(butylkarbamoyl)-6-(methylkarbamoyl)-1,3,5-triazin | | 420-390-1 | 187547-46-2 | R43 N; R51-53 | Xi; N R: 43-51/53 S: (2)-24-37-61 | | |
| 613-199-00-X | směs: 1,3,5-tris[3-(aminomethyl)fenyl]-1,3,5-triazin-2,4,6(1H,3H,5H)-trion směs oligomerů 1,3,5-tris[3-(aminomethyl)fenyl]-1,3,5-triazin-2,4,6(1H,3H,5H)-trionu | | 421-550-1 | — | Karc. kat. 2; R45 Repr. kat. 2; R61 R43 R52-53 | T R: 45-61-43-52/53 S: 53-45-61 | | |
| 613-200-00-3 | reakční produkt fialocyanin-29,31-diidomédnatého komplexu, chlorisírové kyseliny a natrium-3-[[2-(sulfonatooxyethyl)sulfonyl]amlinu | | 420-980-7 | — | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2)-22-26-39 | | |
| 613-201-00-9 | (R)-5-brom-3-[(1-methylpyrrolidin-2-yl)methyl]indol | | 422-390-5 | 143322-57-0 | Repr. kat. 3; R62 T; R39-48/25 Xn; R20/22 Xi; R41 | T; N R: 20/22-39-41-43-48/25-62-50/53 S: (1/2)-53-45-60-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkám |
|----------------|---|------------------------|----------|------------------------------------|---|--|--|----------------------------|
| 613-202-00-4 | pymetrozin (ISO) 6-methyl-4-[(E)-(pyridin-3-ylmethyliden)amino]-4,5-dihydro-1,2,4-triazin-3(2H)-on | — | — | 123312-89-0 | R43 N: R50-53 Karc. kat. 3; R40 R52-53 | Xn R: 40-52/53 S: (2-3)6/37-61 | | |
| 613-203-00-X | pyraflufen-ethyl (ISO) [1] pyraflufen (ISO) [2] | - [1] - [2] | | 129630-19-9 [1] 129630-17-7 [2] | N: R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 613-204-00-5 | oxadiargyl (ISO) 3-[2,4-dichloro-5-(2-1,1-dimethylethyl-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-one 5- <i>tert</i> -butyl-3-[2,4-dichloro-5-(prop-2-ynyloxy)fenyl]-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-one | 254-637-6 | | 39807-15-3 | Repr. kat. 3; R63 Xn; R48/22 N: R50-53 | Xn; N R: 48/22-63-50/53 S: (2-3)6/37-46-60-61 | | |
| 613-205-00-0 | propikonazol (ISO) (+)-1-[[2-(2,4-dichlorfenyl)-4-propyl-1,3-dioxolan-2-yl)methyl]-1H-1,2,4-triazol | 262-104-4 | | 60207-90-1 | Xn; R22 R43 N: R50-53 | Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-3)6/37-46-60-61 | | |
| 613-206-00-6 | fenamidon (ISO) (S)-1-anilino-4-fenyl-4-methyl-2-(methylsulfanyl)imidazol-5(4H)-on | — | | 161326-34-7 | N: R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 613-207-00-1 | imazalil-sulfát, vodný roztok 1-[2-(allyloxy)-2-(2,4-dichlorfenyl)ethyl]imidazol-1-ium-hydrogen-sulfát (±)-1-[2-(allyloxy)-2-(2,4-dichlorfenyl)ethyl]imidazol-1-ium-hydrogen-sulfát | 261-351-5 281-291-3 | | 58594-72-2 83918-57-4 | Xn; R22 C; R34 R43 N: R50-53 | C; N R: 22-34-43-50/53 S: (2-2)6-36/37/39-45-60-61 | C > 50 %: C, Xn, N; R22-34-43-50-53 30 % < C ≤ 50 %: Xn, N; R22-38-41-43-50-53 25 % ≤ C ≤ 30 %: Xn, N; R22-41-43-50-53 15 % < C < 25 %: Xi, N; R41-43-51-53 5 % ≤ C ≤ 15 %: Xi, N; R36-43-51-53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi, N; R43-51-53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52-53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52-53 | |
| 613-208-00-7 | imazamox (ISO) (RS)-2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-4,5-dihydroimidazol-2-yl)-5-(methoxymethyl)nikotinová kyselina | — | | 114311-32-9 | N: R50-53 | N | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|--|---|---------------------|----------------------------|
| 613-209-00-2 | <i>cis</i> -1-(3-chlorpropyl)-2,6-dimethylpiperidin-hydrochlorid | | 417-430-3 | 63645-17-0 | T; R25 Xn; R48/22 R43 N; R51-53 | T; N R: 25-43-48/22-51/53 S: (1/2)-22-36/37-45-61 | | |
| 613-210-00-8 | 2-(3-chlorpropyl)-2,5,5-trimethyl-1,3-dioxan | | 417-650-1 | 88128-57-8 | Xn; R48/22 R52-53 | Xn R: 48/22-52/53 S: (2)-23-25-36-61 | | |
| 613-211-00-3 | 4-(4-formylstyryl)-1-methylpyridinium-methyl-sulfát | | 418-240-3 | 74401-04-0 | R43 R52-53 | Xi R: 43-52/53 S: (2)-22-24-37-61 | | |
| 613-212-00-9 | 4-{4-[(2-ethylhexyloxy)fenyl]-1,4-thiazinan-1,1-dioxid} | | 418-320-8 | 133467-41-1 | Xn; R22 N; R50-53 | Xn; N R: 22-50/53 S: (2)-22-60-61 | | |
| 613-213-00-4 | <i>cis</i> -1-benzoyl-4-(mesyloxy)-L-prolin | | 416-040-0 | 120807-02-5 | R52-53 | R: 52/53 S: 61 | | |
| 613-214-00-X | N,N-dibutyl-2-(3-hydroxy-6-isopropyl-1,2-dihydrochinolin-2-yliden)-1,3-dioxindan-5-karboxamid | | 416-260-7 | 147613-95-4 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 613-215-00-5 | 2-(chloromethyl)-3,4-dimethoxypyridinium-chlorid | | 416-440-5 | 72830-09-2 | Xn; R21/22-48/22 Xi; R38-41 R43 N; R51-53 | Xn; N R: 21/22-38-41-43-48/22-51/53 S: (2)-26-36/37/39-61 | | |
| 613-216-00-0 | 6- <i>tert</i> -butyl-7-[(6-(diethylamino)-2-methyl-3-pyridyl]amino)-3-(3-methylfenyl)-3H-pyrazolo[3,2-c][1,2,4]triazol | | 416-490-8 | — | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 613-217-00-6 | 4-[[3-(3,5-di- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxyfenyl)propanoyl]oxy]-1-(2-[[3-(3,5-di- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxyfenyl)propanoyl]oxy]ethyl)-2,2,6,6-tetramethylpiperidin | | 416-770-1 | 73754-27-5 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 613-218-00-1 | indol-6-ol | | 417-020-4 | 2380-86-1 | Xn; R22 Xi; R41 R43 N; R51-53 | Xn; N R: 22-41-43-51/53 S: (2)-24-26-37/39-61 | | |
| 613-219-00-7 | 7- <i>a</i> -ethyl-3,5-disopropyl(dihydro-1H,3H,5H-oxazol[3,4-c] | | 417-140-7 | 79185-77-6 | Xi; R38 N; R51-53 | Xi; N R: 38-51/53 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkám |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|---------------------------------------|--|---------------------|----------------------------|
| | oxazol | | | | | S: (2-)37-61 | | |
| 613-220-00-2 | <i>trans</i> -(4S,6S)-6-methyl-7,7-dioxo-5,6-dihydro-4H-7λ ⁶ -thieno[2,3-b]thiopyran-4-ol | | 417-290-3 | 147086-81-5 | Xn; R22 | Xn R: 22 S: (2-)36 | | |
| 613-221-00-8 | 2-chlor-5-methylpyridin | | 418-050-0 | 18568-64-4 | Xn; R21/22 Xi; R38 R52-53 | Xn R: 21/22-38-52/53 S: (2-)23-25-36/37-61 | | |
| 613-222-00-3 | 4-akryloylmofofin | | 418-140-1 | 5117-12-4 | Xn; R22-48/22 Xi; R41 R43 | Xn R: 22-41-43-48/22 S: (2-)23-26-36/37/39 | | |
| 613-223-00-9 | 3-(4-fluorfenyl)-1-isopropylindol | | 418-790-4 | 93957-49-4 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 613-224-00-4 | 2,5-bis(sulfanylmethyl)-1,4-dithian | | 419-770-8 | 136122-15-1 | Xn; R22 C; R34 R43 N; R50-53 | C; N R: 22-34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61 | | |
| 613-225-00-X | směs: 2-[(5-benzamido-9,10-dioxo-9,10-dihydro-1-anthrylamino]-4-[(9,10-dioxo-9,10-dihydro-1-anthryl)amino]-6-amino]-6-fenyl-1,3,5-triazin 2,4-bis[(5-benzamido-9,10-dioxo-9,10-dihydro-1-anthryl)amino]-6-fenyl-1,3,5-triazin | | 421-290-9 | — | Xn; R48/22 R53 | Xn R: 48/22-53 S: (2-)22-36-61 | | |
| 613-226-00-5 | 1-(2-[N-ethyl-4-((4-[4-(2-ethyl(2-pyridinioethyl)amino]-2-methylfenyl)azo)benzamido)fenyl]azo)-3-methylamino]ethyl]pyridiniumdichlorid | | 420-950-3 | 163831-67-2 | Xi; R41 N; R50-53 | Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61 | | |
| 613-227-00-0 | směs: (±)-(R*,R*)-6-fluor-2-oxiranylchroman(±)-(R*,S*)-6-fluor-2-oxiranylchroman | | 419-600-2 | — | R43 N; R51-53 | Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-28-36/37-61 | | |
| 613-228-00-6 | (±)-(R*,S*)-6-fluor-2-oxiranylchroman | | 419-630-6 | — | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 24-61 | | |
| 613-230-00-7 | florasulam (ISO) 2',6',8-trifluor-5-methoxy[1,2,4]triazolo[1,5-c]pyrimidin-2-sulfonamid | | — | 145701-23-1 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|-----------------------------------|--|---------------------|-----------------------|
| 613-233-00-3 | 4,4'-[oxybis(methylen)]di-1,3-dioxolan | | 423-230-7 | 56552-15-9 | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2-)26-39 | | |
| 614-028-00-1 | směs: 2-ethylhexyl-D-glukopyranosid 2-ethylhexyl-di-D-glukopyranosid | | 414-420-0 | — | Xi; R41 | Xi R: 41 S: (2-)26-39 | | |
| 614-029-00-7 | isomery penta-O-allyl-β-D-fruktofuranosyl-α-D-glukopyranosidu isomery hexa-O-allyl-β-D-fruktofuranosyl-α-D-glukopyranosidu isomery hepta-O-allyl-β-D-fruktofuranosyl-α-D-glukopyranosidu | | 419-640-0 | 68784-14-5 | Xn; R22 | Xn R: 22 S: (2-) | | |
| 615-030-00-5 | alkalické soli, soli alkalických zemin a jiné soli thiokyanaté kyseliny, neuvedené jinde v této příloze | A | — | — | Xn; R20/21/22 R32 R52-53 | Xn R: 20/21/22-32-52/53 S: (2-)13-61 | | |
| 615-031-00-0 | thiokyanatan thallný | A | 222-571-7 | 3535-84-0 | Xn; R20/21/22 R32 N; R51-53 | Xn; N R: 20/21/22-32-51/53 S: (2-)13-61 | | |
| 615-032-00-6 | kovové soli thiokyanaté kyseliny neuvedené jinde v této příloze | A | — | — | Xn; R20/21/22 R32 N; R50-53 | Xn; N R: 20/21/22-32-50/53 S: (2-)13-60-61 | | |
| 616-092-00-6 | polymerní produkt reakce bicyklo[2.2.1]hepta-2,5-dienu, ethenu, hexa-1,4-dienu, prop-1-enu a N,N-diallylformamidu | | 404-035-6 | — | R43 R53 | Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61 | | |
| 616-093-00-1 | produkty reakce kondenzátu anilinu, tereftalaldehydu a o-tolidinu s maleinanhidridem | | 406-620-1 | 129217-90-9 | R43 N; R51-53 | Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61 | | |
| 616-094-00-7 | 3,3'-dicyklohexyl-1,1'-[methylendi(4,1-fenylen)]dimocovina | | 406-370-3 | 58890-25-8 | R43 R53 | Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61 | | |
| 616-095-00-2 | 3,3'-diodkadeacyl-1,1'-[methylendi(4,1-fenylen)]dimocovina | | 406-690-3 | 43136-14-7 | R53 | R: 53 S: 61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkám |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|--------------------|---|---------------------|----------------------------|
| 616-096-00-8 | N-[3-(hexadecyloxy)-2-hydroxypropyl]-N-(2-hydroxyethyl)palmitamid | | 408-110-4 | 110483-07-3 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 616-097-00-3 | N,N'-(1,4-fenylen)bis(2-[[2-methoxy-4-nitrofenyl]azo]-3-oxobutanamid) | | 411-840-6 | 83372-55-8 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 616-098-00-9 | 1-[4-chlor-3-[(2,2,3,3,3-pentafluoropropoxy)methyl]fenyl]-5-fenyl-1H-1,2,4-triazol-3-karboxamid | | 411-750-7 | 119126-15-7 | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 616-099-00-4 | 2-[4-[(4-hydroxyfenyl)sulfonyl]fenoxyl]-N-(5-(mesylamino)-2-[4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)fenoxyl]fenyl]-4,4-dimethyl-3-oxopentanamid | | 414-170-2 | 135937-20-1 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 616-100-00-8 | 1,3-dimethyl-1,3-bis(trimethylsilyl)močovina | | 414-180-7 | 10218-17-4 | Xn; R22 Xi; R38 | Xn R: 22-38 S: (2-3)6/37 | | |
| 616-101-00-3 | (S)-N- <i>tert</i> -butyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-karboxamid | | 414-600-9 | 149182-72-9 | Xn; R22 R52-53 | Xn R: 22-52/53 S: (2-6)1 | | |
| 616-102-00-9 | směs: α-[(methyl-3-[(3-sulfanylpropoxy)karbonyl]amino)anilino]karbonyl]-ω-[[[(methyl-3-[(3-sulfanylpropoxy)karbonyl]amino)anilino]karbonyl]oxy]-poly[oxyethylen-co-oxy(methylethylen)] α,α'-(2(3)-hydroxypropan-1,3(1,2)-diyl)bis(ω-[[[(methyl-3-[(3-sulfanylpropoxy)karbonyl]amino)anilino]karbonyl]oxy]-poly[oxyethylen-co-oxy(methylethylen)])) α,α'-(propan-1,2,3-triyl)tris(ω-[[[(methyl-3-[(3-sulfanylpropoxy)karbonyl]amino)anilino]karbonyl]oxy]-poly[oxyethylen-co-oxy(methylethylen)])) | | 415-870-0 | — | R43 N; R51-53 | Xi; N R: 43-51/53 S: (2-3)6/37-61 | | |
| 616-103-00-4 | <i>trans</i> -(4S,6S)-4-acetamido-6-methyl-7,7-dioxo-5,6- | | 415-030-3 | 120298-38-6 | R43 | Xi; N | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|---|---|---|----------------------------|
| 616-104-00-X | dihydro-4H-7λ ⁶ -thieno[2,3-b]thiopyran-2-sulfonamid | | | | N; R50-53 | R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61 | | |
| 616-104-00-X | benalaxyl (ISO) methyl-N-(2,6-dimethylfenyl)- N-(fenylacetyl)-DL-alaninát | | 275-728-7 | 71626-11-4 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 616-105-00-5 | chlorotoluron (ISO) 3-(3-chlor-4- methylfenyl)-1,1-dimethylmočovina | | 239-592-2 | 15545-48-9 | Karc. kat. 3; R40 Repr. kat. 3; R63 N; R50-53 | Xn; N R: 40-63-50/53 S: (2-)36/37-26- 46-60-61 | | |
| 616-106-00-0 | fenmedifam (ISO) methyl-N-(3-([N-(3-(methylfenyl) karbamoyl]oxy)fenyl)karbamát | | 237-199-0 | 13684-63-4 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 616-108-00-1 | jodsulfuron-methyl-natrium (ISO) | | — | 144550-36-7 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 616-109-00-7 | sulfosulfuron (ISO) 1-(4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl)- 3-[2-(ethylsulfonyl)imidazo [1,2-a]pyridin-3-sulfonyl]močovina | | — | 141776-32-1 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 616-110-00-2 | cyklanilid (ISO) 1-[(2,4-dichloramino)karbonyl] cyklopropan-1-karboxylová kyselina | | 419-150-7 | 113136-77-9 | Xn; R22 N; R51-53 | Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)61 | | |
| 616-111-00-8 | fenhexamid (ISO) N-(2,3-dichlor-4-hydroxyfenyl)-1- methylcyclohexan- 1-karboxamid | | 422-530-5 | 126833-17-8 | N; R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 616-112-00-3 | oxasulfuron (ISO) oxetan-3-yl-2-(N- [N-(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl) karbamoyl]sulfamoyl]benzoát | | — | 144651-06-9 | Xn; R48/22 N; R50-53 | Xn; N R: 48/22-50/53 S: (2-)46-60-61 | | |
| 616-113-00-9 | desmedifam (ISO) ethyl-N-{3-([N- fenylkarbamoyl]oxy)fenyl}karbamát | | 237-198-5 | 13684-56-5 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | C ≥ 2,5 %; N; R50/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; N; R51/53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; R52/53 | |
| 616-114-00-4 | N,N'-(9,9',10,10'- tetraoxo-9,9',10,10'-tetrahydro- 1,1'-bianthracen-4,4'- diy)bis(dodekanamid) | | 418-010-2 | 136897-58-0 | R53 | R: 53 S: 22-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|---------------------------------------|---|---------------------|----------------------------|
| 616-1115-00-X | N-(3-acetyl-2-hydroxyfenyl)-4-(4-fenylbutoxy)benzamid | | 416-150-9 | 136450-06-1 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 616-1116-00-5 | 4-(dimethylamino)pyridin-1-ium-3-methoxy-N-(2-methylbenzen-1-sulfonyl)-4-[(1-methyl-5-nitroindol-3-yl)methyl]benzimidát | | 416-790-9 | — | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 616-1117-00-0 | N-(2-[(3-acetyl-5-nitro-2-thienyl)azo]-5-(diethylamino)fenyl)acetamid | | 416-860-9 | — | Repr. kat. 3; R62 R43 N: R50-53 | Xn; N R: 43-62-50/53 S: (2)-2-2-36/37-60-61 | | |
| 616-1118-00-6 | N-(2,6-dimethylfenyl)piperidin-2-karboxamid-hydrochlorid | | 417-950-0 | 65797-42-4 | Xn; R22 R52-53 | Xn R: 22-52/53 S: (2)-2-2-61 | | |
| 616-1119-00-1 | 2-(1-butyl-2-fenyl-3,5-dioxo-1,2,4-triazolidin-4-yl)-N-[5-[2-(dodecylsulfonyl)propanamido]-2-methoxyfenyl]-4,4-dimethyl-3-oxopentamid | | 418-060-5 | 118020-93-2 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 616-120-00-7 | směs: N-[3-(dimethylamino)-4-methylfenyl]benzamid N-[3-(dimethylamino)-2-methylfenyl]benzamid N-[3-(dimethylamino)-5-methylfenyl]benzamid | | 420-600-1 | — | Xn; R48/22 N: R51-53 | Xn; N R: 48/22-51/53 S: (2)-36/37-61 | | |
| 616-121-00-2 | 2,4-dihydroxy-N-(2-methoxyfenyl)benzamid | | 419-090-1 | 129205-19-2 | R43 N: R51-53 | Xi; N R: 43-51/53 S: (2)-2-4-37-61 | | |
| 616-123-00-3 | N-(3-[(4-(diethylamino)-2-methylfenyl)imino]-6-oxocyklohexa-1,4-dien-1-yl)acetamid | | 414-740-0 | 96141-86-5 | N: R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 616-124-00-9 | lithium-bis(trifluormethansulfonyl)imid | | 415-300-0 | 90076-65-6 | T; R24/25 C; R34 R52-53 | T R: 24/25-34-52/53 S: (1/2)-22-26-36/37/39-45-61 | | |
| 616-125-00-4 | N-terc-butyl-3-kyanandrosta-3,5-dien-17β-karboxamid | | 415-730-9 | 151338-11-3 | N: R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 616-127-00-5 | směs: N,N'-ethylenbis(dekanamid) N-(2-dekanamidoethyl)-12- | | 430-050-2 | — | R43 N: R51-53 | Xi; N R: 43-51/53 S: (2)-2-4-37-61 | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-------------|--|---|---------------------|-----------------------|
| | hydroxyoktadekanamid N,N'-ethylenbis(12-hydroxyoktadekanamid) | | | | | | | |
| 616-128-00-0 | N-{2-[(1-allyl-4,5-dikyanimidazol-2-yl)azol-5-(dipropylamino)fenyl]acetamid | | 417-530-7 | 123590-00-1 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 616-129-00-6 | N,N'-bis(2,2,6,6-tetramethyl-4-piperidyl)isofalamid | | 419-710-0 | 42774-15-2 | Xn; R22 Xi; R36 | Xn R: 22-36 S: (2-)22-25-26 | | |
| 616-130-00-1 | N-{3-[2-(4,4-dimethyl-2,5-dioximidazolidin-1-yl)-4,4-dimethyl-3-oxopentanamido]-4-methoxyfenyl}oktadekanamid | | 421-780-2 | 150919-56-5 | R53 | R: 53 S: 61 | | |
| 616-132-00-2 | N-{4-[2-(2-furylmethyliden)-4-kyan-5-oxo-2,5-dihydro-3-furyl]fenyl}butan-1-sulfonamid | | 423-250-6 | 130016-98-7 | N; R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61 | | |
| 616-133-00-8 | N-cyklohexyl-1,1-dioxo-1λ ⁴ -benzo[<i>b</i>]thiofen-2-karboxamid | | 423-990-1 | 149118-66-1 | Xn; R22 Xi; R41 N; R50-53 | Xn; N R: 22-41-50/53 S: (2-)22-26-39-60-61 | | |
| 616-134-00-3 | 3,3'-bis([bis(oktyloxy)fosforothioyl]sulfanyl)-N,N'-[oxybis(methylen)]dipropanamid | | 401-820-5 | — | R52-53 | R: 52/53 S: 61 | | |
| 616-135-00-9 | (3 <i>S</i> ,4 <i>aS</i> ,8 <i>aS</i>)-2-((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-3-amino-4-fenyl-2-hydroxybutyl)-N- <i>tert</i> -butyldekahydroisochinolin-3-karboxamid | | 430-230-0 | 136522-17-3 | Xn; R22 R52-53 | Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61 | | |
| 616-142-00-7 | 2,2'-bis(vinylsulfonyl)-N,N'-(propan-1,3-diy)diacetamid | | 428-350-3 | 93629-90-4 | Mut. kat. 3; R68 Xi; R41 R43 R52-53 | Xn R: 41-43-68-52/53 S: (2-)22-26-36/37/39-61 | | |
| 616-143-00-2 | N,N'-bis(hexadecyl)-N,N'-bis(2-hydroxyethyl)malonamid | | 422-560-9 | 149591-38-8 | Xn; Repr. kat. 3; R62 Xi; R36 R53 | Xn R: 62-36-53 S: (2-)26-36/37-61 | | |
| 617-018-00-5 | směs: (1- | | 410-840-3 | 71566-50-2 | O; R7 | O; N | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|--|-------------------|-----------|-------------|---|--|---------------------|-----------------------|
| | fenyl-1-methylethyl[1-(3-isopropylfenyl)-1-methylethyl]peroxid (63 %) (1-fenyl-1-methylethyl)[1-(4-isopropylfenyl)-1-methylethyl]peroxid (31 %) | | | | N; R51-53 | R: 7-51/53 S: (2-3)/7-14-36/37/39-61 | | |
| 617-019-00-0 | 6-ftalimidoperoxyhexanová kyselina | | 410-850-8 | 128275-31-0 | O; R7 Xi; R41 N; R50 | O; Xi; N R: 7-41-50 S: (2-3)/7-14-26-36/37/39-61 | | |
| 617-020-00-6 | 1,3-fenylendí(propan-2,2-diy)-bis(2,2-dimethylperoxyoktanoát) | | 420-060-5 | 117663-11-3 | R10 O; R7 N; R51-53 | O; N R: 7-10-51/53 S: (2-7)-14-36/37/39-47-61 | | |
| 650-042-00-4 | produkt reakce N-alkanoyl(C16-C18)amidů poly(ethyleniminu) s ethylfosfonoátoaty | | 417-450-2 | — | Xi; R36/38 R43 R52-53 | Xi; N R: 36/38-43-52/53 S: (2-2)4-26-37-61 | | |
| 650-043-00-X | produkt reakce 3,5-di- <i>tert</i> -butyl-2-hydroxybenzoové kyseliny a síranu hlinitého | | 420-310-3 | — | Xn; R22 N; R50-53 | Xn; N R: 22-50/53 S: (2-2)2-56-60-61 | | |
| 650-044-00-5 | produkt reakce směsi ethoxylovaných lineárních a rozvětvených alkoholů C14-C15 s epichlorhydrinem | | 420-480-9 | 158570-99-1 | Xi; R38 R43 N; R50-53 | Xi; N R: 38-43-50/53 S: (2-2)4-37-60-61 | | |
| 650-045-00-0 | produkt reakce diethyl-citrátu, propan-1-olu a zirkontetra-propan-1-olátu | | 417-110-3 | — | F; R11 Xi; R38-41 N; R51-53 | F; Xi; N R: 11-38-41-51/53 S: (2-9)-16-26-37/39-61 | | |
| 650-046-00-6 | [bis(tetramethylamonium)-disulfamoyldisulfonatofalocyanin-29,31-diido]médnatý komplex | | 416-180-2 | — | Xn; R22-48/22 N; R51-53 | Xn; N R: 22-48/22-51/53 S: (2-2)2-36-61 | | |
| 650-047-00-1 | dibenzyl(fenyl)sulfonium-hexafluoroantimonát | | 417-760-8 | 134164-24-2 | T; R48/25 Xn; R22 Xi; R41 R43 N; R51-53 | T; N R: 22-41-43-48/25-51/53 S: (1/2-)22-26-36/37/39-45-61 | | |
| 650-048-00-7 | produkt reakce boraxu, peroxidu vodíku, acetaldehydu a octové kyseliny | | 420-070-1 | — | O; R7 Xn; R20/21/22 C; R35 | O; C; N R: 7-20/21/22-35-50 S: (1/2-)3/7-14-26- | | |

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k přípravkům |
|----------------|---|-------------------|-----------|-----------|--|--|---------------------|-----------------------|
| 650-049-00-2 | směs 2-(alkanoyloxy)ethylhydrogen-maleinátů, alkanoyl jenenasyčený oktadekanoyl 70 – 85 %, oktadekanoyl 0,5 – 10 %, hexadekanoyl 2 – 18 % | | 417-960-5 | — | N: R50 Xi: R38-41 R43 N: R50-53 | 36/37/39-45-61 Xi: N R: 38-41-43-50/53 S: (2)-24-26-37/39-60-61 | | |
| 650-050-00-8 | směs: 3-hydroxy-1-methylpropyl-3-(3,5-di- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxyfenylo)propanoát 3-hydroxybutyl-3-(3,5-di- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxyfenylo)propanoátbutan-1,3-diyl-bis[3-(3- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxyfenylo)propanoát] butan-1,3-diyl-bis[3-(3,5-di- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxyfenylo)propanoát] | | 423-600-8 | — | N: R51-53 | N R: 51/53 S: 61 | | |
| 650-055-00-5 | hydrogenfosforečnan stříbrmo-sodno-zirkonický | | 422-570-3 | — | N: R50-53 | N R: 50/53 S: 60-61" | | |

PŘÍLOHA I D

| Indexové číslo | Chemický název | Poznámky k látkám | Číslo ES | Číslo CAS | Klasifikace | Označení | Koncentrační limity | Poznámky k pří- pravkům |
|----------------|---|-------------------|--------------------------------------|--------------------------------|--|--|---------------------|----------------------------|
| „048-002-00-0 | kadmium (nepyroforické) [1] oxid kademnatý (nepyroforický) [2] | E | 231-152-8 [1] 215-146-2 [2] | 7440-43-9 [1] 1306-19-0 [2] | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 Repr. kat. 3; R62-63 T; R48/23/25 T+; R26 N; R50-53 | T+; N R: 45-26-48/23/25-62-63-68-50/53 S: 53-45-60-61 | | |
| 048-011-00-X | kadmium (pyroforické) | E | 231-152-8 | 7440-43-9 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 3; R68 Repr. kat. 3; R62-63 T; R48/23/25 T+; R26 R10 N; R50-53 | F; T+; N R: 45-17-26-48/23/25-62-63-68-50/53 S: 53-45-7/8-43-60-61 | | |
| 609-006-00-3 | 1-methyl-4-nitrobenzen | C | 202-808-0 | 99-99-0 | T; R23/24/25 R33 N; R51/53 | T; N R: 23/24/25-33-51/53 S: 1/2-28-37-45-61 | | |
| 609-065-00-5 | 1-methyl-2-nitrobenzen | E | 201-853-3 | 88-72-2 | Karc. kat. 2; R45 Mut. kat. 2; R46 Repr. kat. 3; R62 Xn; R22 N; R51-53 | T; N R: 45-46-22-62-51/53 S: 53-45-61 | | |
| 612-039-00-6 | 2-ethoxyaniline o-phenetidine | C | 202-356-4 | 94-70-2 | T; R23/24/25 R33 | T R: 23/24/25-33 S: (1/2)-28-36/37-45 | | |
| 612-207-00-9 | 4-ethoxyaniline p-phenetidine | | 205-855-5 | 156-43-4 | Mut. kat. 3; R68 Xn; R20/21/22 Xi; R36 R43 | Xn R: 20/21/22-36-43-68 S: (2-36)/37-46" | | |

PŘÍLOHA 2A

A.21. OXIDAČNÍ VLASTNOSTI (KAPALINY)

1. METODA

1.1 ÚVOD

Tato zkušební metoda slouží ke stanovení schopnosti kapalné látky zvyšovat rychlost hoření nebo intenzitu hoření hořlavé látky nebo vytvářet směs s hořlavou látkou, která se po důkladném promíslení samovolně vznítí. Je založena na zkoušce OSN pro kapaliny podporující hoření (1) a je jí rovnocenná. Vzhledem k tomu, že tato metoda A.21 byla v první řadě zavedena s ohledem na požadavky směrnice 67/548/EHS, vyžaduje se srovnání pouze s jednou referenční látkou. Další zkoušení a srovnávání s dalšími referenčními látkami bude nutné, mají-li být výsledky zkoušky použity pro jiné účely (1).

Tato zkouška nemusí být prováděna, pokud je z rozboru strukturního vzorce zcela nepochybné, že látka nemůže s jiným hořlavým materiálem reagovat exotermicky.

Před prováděním zkoušky je užitečné mít předběžné informace o možných výbušných vlastnostech látky.

Tato zkouška není použitelná pro pevné látky, plyny, výbušné nebo vysoce hořlavé látky nebo organické peroxidy.

Tato zkouška nemusí být prováděna, pokud jsou pro danou látku již k dispozici výsledky zkoušky OSN pro kapaliny podporující hoření (1).

1.2 DEFINICE A JEDNOTKY

Průměrnou dobou nárůstu tlaku se rozumí průměr naměřených časových hodnot, v jejichž průběhu dojde v testované směsi k nárůstu tlaku z 690 kPa na 2 070 kPa nad atmosférický tlak.

1.3 REFERENČNÍ LÁTKA

Jako referenční látka se použije 65 % (hmot.) vodný roztok kyseliny dusičné p.a. (2)

Pokud experimentátor předpokládá, že výsledky zkoušky mohou být případně použity pro jiné účely (1), je vhodné použít více referenčních látek (3).

1.4 PODSTATA ZKUŠEBNÍ METODY

Zkoušená kapalina se smísí v poměru 1:1 (hmot.) s vláknitou celulózou a vpraví se do tlakové nádoby. Pokud dojde při mísení nebo plnění k samovolnému vznícení, není třeba ve zkoušce pokračovat.

Pokud k samovolnému vznícení nedojde, provede se celá zkouška. Směs se zahřívá v tlakové nádobě a měří se průměrná doba, za kterou dojde k nárůstu tlaku z 690 kPa na 2 070 kPa nad atmosférický tlak. Tato hodnota se porovná s průměrnou dobou pro směs referenční látky (referenčních látek) a celulózy v poměru 1:1.

1.5 KRITÉRIA JAKOSTI

V sérii pěti zkoušek jedné látky by neměl být rozdíl jednotlivých výsledků a aritmetického průměru větší než 30 %. Výsledky, které se liší od aritmetického průměru o více než 30 % se nepoužijí, proces mísení a plnění se zlepší a zkoušení zopakuje.

(1) Např. pro účely předpisů OSN pro přepravu.

(2) Koncentrace kyseliny by měla být před zkoušením stanovena titrací.

(3) Např. v odkazu 1 se používají 50 % (hmot.) kyselina chloristá a 40 % (hmot.) chlorečnan sodný.

1.6 POPIS METODY

1.6.1 Příprava

1.6.1.1 Hořlavá látka

Jako hořlavý materiál se použije usušená vláknitá celulóza s délkou vlákna od 50 do 250 μm a středním průměrem 25 μm ⁽¹⁾. Suší se ve vrstvě o tloušťce nejvýše 25 mm 4 h při 105 °C do konstantní hmotnosti a uchovává se v exsíkátoru nad vysoušedlem až do vychladnutí a samotného použití. Obsah vlhkosti ve vysušené celulóze by měl být nižší než 0,5 %, vztaženo na suchou látku ⁽²⁾. Aby bylo této hodnoty dosaženo ⁽³⁾, doba sušení se podle potřeby prodlouží. Pro celou zkoušku se použije tatáž šarže celulózy.

1.6.1.2 Zkušební zařízení

1.6.1.2.1 Tlaková nádoba

Zkouška vyžaduje použití tlakové nádoby. Nádobou je ocelový tlakový válec o délce 89 mm a vnějším průměru 60 mm (viz obrázek 1). Válec je na dvou protilehlých stranách opracován do plochy (v těchto místech je průměr nádoby 50 mm), aby byla usnadněna manipulace při nasazování zažehovací a ventilační zátky. Nádoba má vrtání o světlosti 20 mm a na obou koncích je do hloubky 19 mm rozšířena a opatřena závitem, aby do ní mohla být zavedena trubka odpovídající 1 „British Standard Pipe” (BSP) nebo jejímu metrickému ekvivalentu. Ve vzdálenosti 35 mm od jednoho konce a v úhlu 90° k nezploštělým stěnám je do válcové stěny tlakové nádoby našroubováno boční rameno pro odvod tlaku. Otvor pro toto rameno je vyvrtán do hloubky 12 mm a opatřen závitem tak, aby vyhovoval závitu 1/2" BSP (nebo metrickému ekvivalentu) na konci bočního ramene. V případě potřeby se inertním těsněním zajistí plynotěsnost. Boční rameno přesahuje těleso nádoby o 55 mm a je v něm vyvrtaný kanál o průměru 6 mm. Konec bočního ramene je uvnitř rozšířen a opatřen závitem pro membránové čidlo tlaku. Lze použít jakékoli měřidlo tlaku, které je odolné proti horkým plynům a produktům rozkladu a na nárůst tlaku z 690 na 2 070 kPa reaguje nejpozději do 5 ms.

Konec tlakové nádoby vzdálenější od bočního ramene je opatřen zažehovací zátkou se dvěma elektrodami, přičemž jedna je od zátky izolovaná a druhá je přes zátku uzemněná. Druhý konec tlakové nádoby je uzavřen průtržným diskem (průtržný tlak přibližně 2 200 kPa), který je přidržován zátkou s vrtáním o světlosti 20 mm. V případě potřeby se inertním těsněním zajistí plynotěsnost zažehovací zátky. Podstavec (obrázek 2) drží sestavu během používání ve správné poloze. Skládá se obvykle ze základny z měkké oceli o rozměrech 235 mm × 184 mm × 6 mm a ze 185 mm dlouhého dutého hranolu o rozměrech 70 mm × 70 mm × 4 mm.

Dvě protilehlé strany tělesa jsou vyříznuty tak, aby vznikl podstavec ve tvaru 86 mm dlouhého hranolu na dvou plochých nožičkách. Konce těchto plochých nožiček jsou seříznuty v úhlu 60° vzhledem k horizontální rovině a jsou přivařeny k podstavci. Na horním konci hranolu je vykrojení o šířce 22 mm a hloubce 46 mm, do něhož zapadne boční rameno tlakové nádoby, poté co je do držáku – zažehovací zátkou napřed – zasazena tlaková nádobka. Na vnitřní nižší stranu hranolového držáku je přivařen distanční ocelový kus o šířce 30 mm a tloušťce 6 mm. Tlakovou nádobu na místě zajišťují dva 7 mm postranní křídlové šrouby umístěné v otvorech na protější straně. Na boční díl dna hranolového držáku jsou navařeny dva 12 mm široké a 6 mm silné ocelové pásky, které podepírají tlakovou nádobu zespodu.

⁽¹⁾ Např. prášková celulóza Whatman Column Chromatographic Cellulose Powder CF 11, katalogové číslo 4021 050.

⁽²⁾ Potvrzeno např. titrací podle Karla Fishera.

⁽³⁾ Tohoto obsahu vlhkosti lze také dosáhnout např. zahříváním při 105 °C za vakua po dobu 24 h.

1.6.1.2.2 Zážehový systém

Zážehový systém se skládá z Ni/Cr drátu o délce 25 m, průměru 0,6 mm a odporu 3,85 Ω /m. Drát se pomocí tyčinky o průměru 5 mm navine do tvaru cívky a připojí k elektrodám v zážehové zátce. Dvě možné podoby cívky jsou uvedeny na obrázku 3. Vzdálenost spodní strany nádoby a zážehové cívky by měla být 20 mm. Pokud nelze elektrody nastavit, měly by být konce zážehového drátu mezi cívkou a dnem tlakové nádoby izolovány keramickým pláštěm. Drát se zahřívá konstantním stejnosměrným proudem nejméně 10 A.

1.6.2 Provedení zkoušky ⁽¹⁾

Zařízení vybavené snímačem tlaku a zahřívacím systémem, avšak bez průtržného disku, se vloží do stojanu zážehovou zátkou dolů. Ve skleněné kádince se pomocí skleněného míchadla smíchá 2,5 g kapaliny, která má být zkoušena, s 2,5 g usušené celulosy ⁽²⁾. Z bezpečnostních důvodů by měl stát experimentátor při mísení za ochranným štítem. Pokud se směs při mísení nebo plnění vznítí, není třeba ve zkoušce pokračovat. Směs se přidává do tlakové nádoby po malých dávkách a je pěchována poklepem, přičemž je třeba zajistit, aby směs obklopovala zážehovou cívku a byla s ní v těsném kontaktu. Je důležité, aby při plnění nedošlo k deformaci cívky, neboť by to vedlo k chybným výsledkům ⁽³⁾. Do tlakové nádoby se vloží průtržný disk a zašroubuje se přidržovací zátka. Naplněná nádoba se vloží do stojanu pro provedení zkoušky průtlakovým diskem nahoru a sestava se umístí do vhodné pancéřované digestoře nebo spalovací komory. Vnější svorky zážehové zátka se připojí ke zdroji napájení o proudu 10 A. Od zahájení mísení do vpuštění proudu do cívky by nemělo uplynout více než 10 minut.

Signál snímače tlaku se zaznamenává vhodným systémem, který umožňuje jak hodnocení, tak trvalý záznam časového průběhu tlaku (např. zapisovač přechodových dějů). Směs se zahřívá do doby, než se roztrhne průtržný disk, nebo po dobu 60 s. Pokud se průtržný disk neroztrhne, je třeba před opatrným rozebráním zařízení nechat směs vychladnout, přičemž je třeba dávat pozor na případné zvyšování tlaku. Proveďte se pět pokusů se zkoušenou a referenční látkou (referenčními látkami). Zaznamená se doba, za kterou dojde k nárůstu tlaku z 690 kPa na 2 070 kPa nad atmosférický tlak. Vypočte se průměrná doba vzestupu tlaku.

V některých případech může látka vykazovat nárůst tlaku (příliš vysoký nebo příliš nízký), který necharakterizuje oxidační vlastnosti látky, a to v důsledku chemické reakce. V takových případech může být nezbytné opakovat zkoušku s inertní látkou, např. s křemelinou (infuzorií hlinkou) namísto celulosy, aby se vyjasnil typ reakce.

⁽¹⁾ Směsi oxidujících látek musí být považovány za látky s možným nebezpečím výbuchu a musí s nimi být nakládáno opatrně.

⁽²⁾ V praxi toho lze dosáhnout připravením většího množství směsi zkoušené kapaliny a celulosy v poměru 1:1, než je nezbytné pro pokus. 5 g, \pm 0,1 g takové směsi se poté vpraví do tlakové nádoby. Směs se připravuje čerstvá pro každý pokus.

⁽³⁾ Zejména se nesmějí dotýkat sousední závitů cívky.

2. ÚDAJE

Doba nárůstu tlaku u zkoušené látky a u referenční látky (referenčních látek).

Doba nárůstu tlaku při zkoušce s inertní látkou, provádí-li se.

2.1 ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ

Vypočte se průměrná doba nárůstu tlaku u zkoušené látky a u referenční látky (referenčních látek).

Vypočte se průměrná doba nárůstu tlaku při zkoušce s inertní látkou, provádí-li se.

Příklady výsledků jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1

Příklady výsledků ^(a)

| Látka ^(b) | Průměrná doba nárůstu tlaku směs s celulosou v poměru 1:1 (ms) |
|---|--|
| Dichroman amonný, nasycený vodný roztok | 20 800 |
| Dusičnan vápenatý, nasycený vodný roztok | 6 700 |
| Dusičnan železitý, nasycený vodný roztok | 4 133 |
| Chloristan lithný, nasycený vodný roztok | 1 686 |
| Chloristan hořečnatý, nasycený vodný roztok | 777 |
| Dusičnan nikelnatý, nasycený vodný roztok | 6 250 |
| Kyselina dusičná, 65 % | 4 767 ^(c) |
| Kyselina chloristá, 50 % | 121 ^(c) |
| Kyselina chloristá, 55 % | 59 |
| Dusičnan draselný, 30 % vodný roztok | 26 690 |
| Dusičnan stříbrný, nasycený vodný roztok | — ^(d) |
| Chlorečnan sodný, 40 % vodný roztok | 2 555 ^(c) |
| Dusičnan sodný, 45 % vodný roztok | 4 133 |
| <i>Inertní látka</i> | |
| Voda: celulosa | — ^(d) |

^(a) Klasifikace pro přepravu podle ustanovení OSN je uvedena v literatuře (1)

^(b) Nasycený roztok se připraví při 20 °C

^(c) Střední hodnota z mezilaboratorních porovnávacích pokusů

^(d) Maximální tlak 2 070 kPa nebyl dosažen

3. ZPRÁVA

3.1 PROTOKOL O ZKOUŠCE

Protokol o zkoušce by měl obsahovat tyto údaje:

- druh, složení, čistotu atd. zkoušené látky;
- koncentraci zkoušené látky;
- postup sušení použité celulózy;
- vlhkost použité celulózy;
- výsledky měření;
- výsledky zkoušek s inertní látkou, byly-li provedeny;
- vypočtené průměrné doby nárůstu tlaku;
- jakékoli odchylky od této metody s uvedením důvodů;
- všechny další doplňující informace nebo poznámky důležité pro interpretaci výsledků.

3.2 INTERPRETACE VÝSLEDKŮ ⁽¹⁾

Hodnocení výsledků se zakládá na těchto skutečnostech:

- a) na tom, zda došlo k samovolnému vznícení směsi zkoušené látky a celulózy, a
- b) na porovnání průměrné doby nárůstu tlaku z 690 kPa na 2 070 kPa s dobou, kterou vykazuje referenční látka (referenční látka).

Kapalina se považuje za oxidující, pokud:

- a) se směs látky a celulózy v poměru 1:1 (hmot.) samovolně vznítí, nebo
- b) je průměrná doba nárůstu tlaku směsi látky a celulózy v poměru 1:1 (hmot.) rovna průměrné době nárůstu tlaku směsi 65 % (hmot.) vodného roztoku kyseliny dusičné a celulózy nebo kratší.

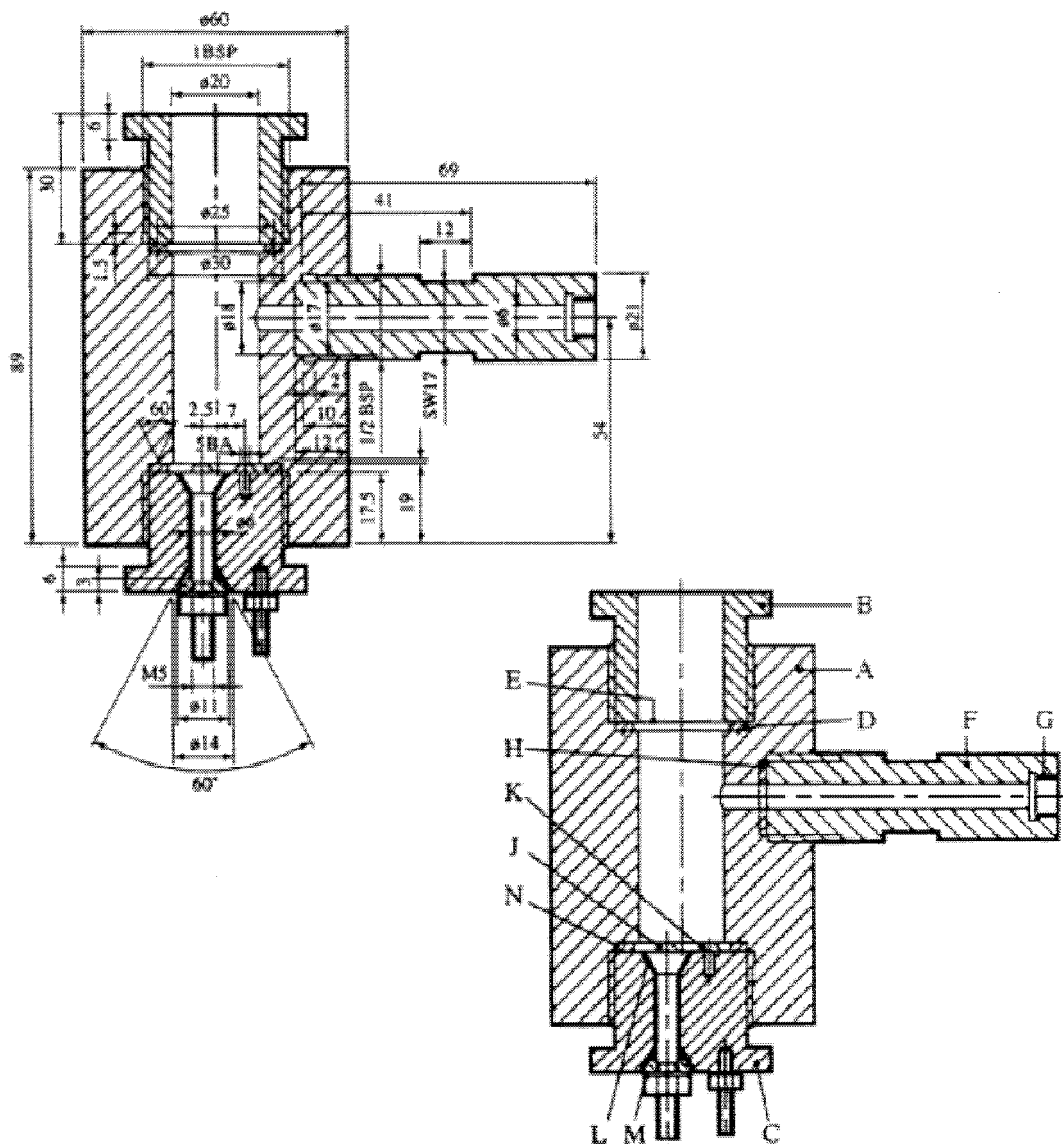
S cílem vyhnout se falešně pozitivnímu výsledku je při analýze výsledků potřeba zohlednit také výsledky zkoušení látky s inertním materiálem.

4. LITERATURA

- (1) Recommendations on the Transport of Dangerous Goods, Manual of Tests and Criteria. 3rd revised edition. UN Publication No: ST/SG/AC.10/11/Rev. 3, 1999, s. 342. Test O.2: Test for oxidizing liquids.

(1) Interpretace výsledků získaných za použití více referenčních látek podle předpisů OSN je popsána v literatuře (1).

Obrázek 1

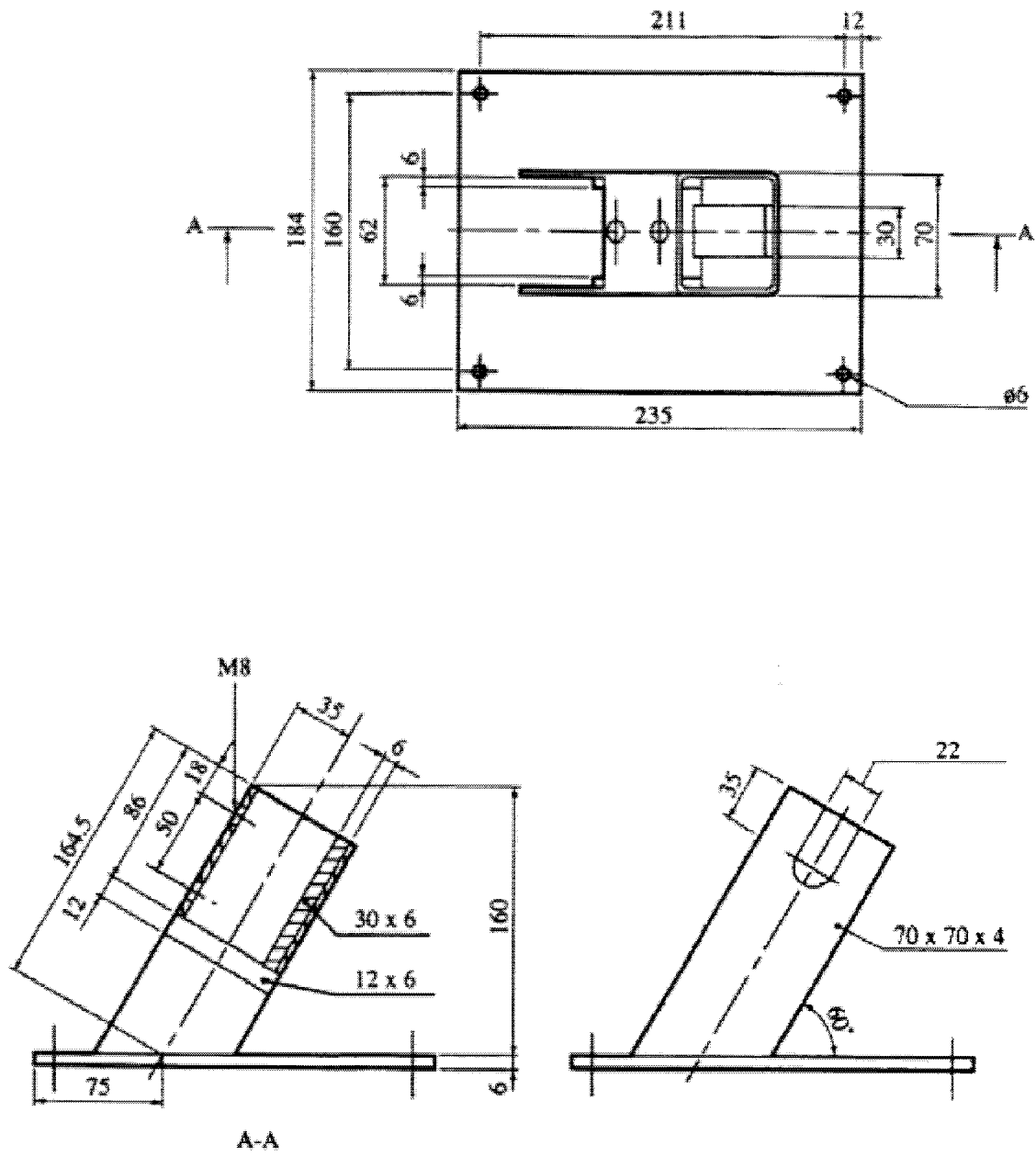


Tlaková nádoba

- | | | |
|-----------------------------|-------------------------------------|-------------------------|
| (A) Tělesotlakovénadoby | (B) Zátka přidržíjící průtržný disk | (C) Zažehovací zátka |
| (D) Těsnění z měkkého olova | (E) Průtržný disk | (F) Boční rameno |
| (G) Čelo čidla tlaku | (H) Těsnění | (J) Izolovaná elektroda |
| (K) Uzemněná elektroda | (L) Izolace | (M) Ocelový kužel |
| (N) Těsnicí spára | | |

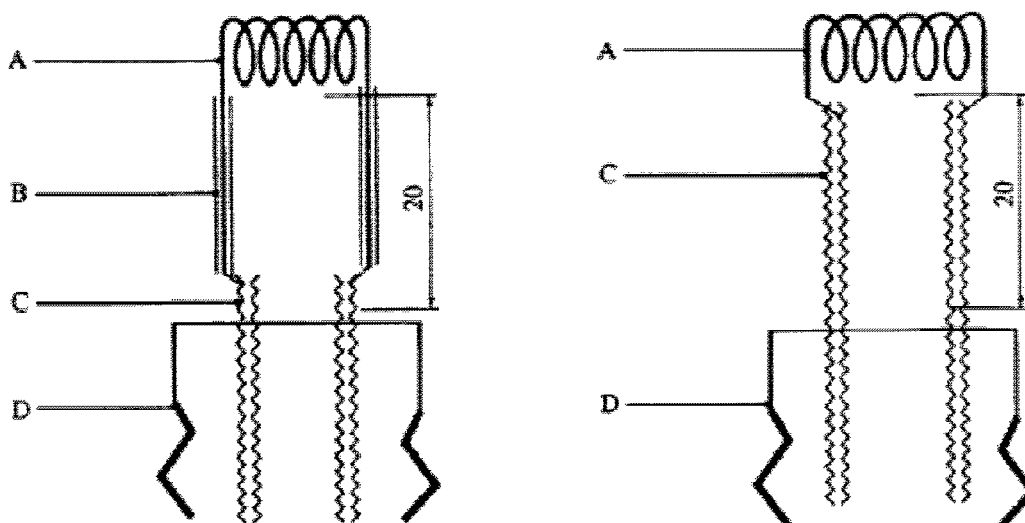
Obrázek 2

Stojan



Obrázek 3

Zážehový systém



(A) Zážehová cívka

(B) Izolace

(C) Elektrody

(D) Zážehová zátká

Poznámka: může být použito kterékoli z těchto dvou uspořádání.

PŘÍLOHA 2B

B.1 bis AKUTNÍ ORÁLNÍ TOXICITA – METODA FIXNÍ DÁVKY

1. METODA

Tato zkušební metoda je rovnocenná metodě OECD TG 420 (2001).

1.1 ÚVOD

Tradiční metody hodnocení akutní toxicity používají jako koncový bod uhynutí zvířat. V roce 1984 navrhla Britská toxikologická společnost nový přístup k testování akutní toxicity založený na podávání řady fixních dávek (1). Tento přístup jako koncový bod nepoužíval uhynutí zvířat, nýbrž se opíral o pozorování jasných příznaků toxicity u jedné z řady fixních dávek. Po provedení britských (2) a mezinárodních (3) validačních studií *in vivo* byl tento postup v roce 1992 přijat jako zkušební metoda. Následně byly pomocí matematických modelů v řadě studií (4, 5, 6) vyhodnoceny statistické vlastnosti metody fixní dávky. Studie *in vivo* a modelové studie společně prokázaly, že metoda je reprodukovatelná, vyžaduje méně zvířat, působí menší utrpení než tradiční metody a dokáže látky zařadit podobně jako jiné zkušební metody akutní toxicity.

Poučení týkající se výběru nejvhodnější zkušební metody k danému účelu obsahuje text *Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing* (7). V tomto dokumentu jsou také uvedeny doplňující informace o provádění a analýze zkušební metody B.1 bis.

Podstatou metody je použití pouze středně toxických dávek v hlavní studii, dávky, u nichž se očekává, že budou letální, by neměly být podávány. Také není nutné podávat dávky, o nichž je známo, že v důsledku leptavých nebo výrazně dráždivých účinků vyvolávají značnou bolest a utrpení. Umírající zvířata nebo zvířata, která zjevně projevují příznaky bolesti nebo značného a přetrvávajícího utrpení, se humánně utratí a při analýze výsledků se hodnotí jako zvířata uhynulá při zkoušce. Kritéria rozhodování o utrácení umírajících nebo značně trpících zvířat a poučení týkající se rozpoznání předvídatelného nebo blížícího se uhynutí jsou předmětem samostatného dokumentu (8).

Metoda poskytuje informace o nebezpečných vlastnostech a umožňuje zařazení a klasifikaci látky podle globálně harmonizovaného systému (GHS) klasifikace chemických látek, které způsobují akutní toxicitu (9).

Zkušební laboratoř by před provedením studie měla vzít v úvahu veškeré dostupné informace o zkoušené látce. Součástí těchto informací je totožnost a chemická struktura látky, její fyzikálně-chemické vlastnosti, výsledky jiných zkoušek toxicity dané látky *in vivo* nebo *in vitro*, toxikologické údaje o strukturně příbuzných látkách a očekávané použití látky. Tyto informace jsou nezbytné k tomu, aby byli všichni zainteresovaní přesvědčeni, že zkouška má význam pro ochranu lidského zdraví a pomůže při výběru vhodné výchozí dávky.

1.2 DEFINICE

Akutní orální toxicita: nepříznivé účinky, které se projeví po orálním podání jedné dávky nebo více dávek látky během 24 h.

Opožděný úhyn: znamená, že zvíře během 48 h neuhyne ani nejeví známky umírání, ale uhynie později během čtrnáctidenní doby pozorování.

Dávka: je množství podané zkoušené látky. Dávka se vyjadřuje jako hmotnost zkoušené látky na jednotku hmotnosti pokusného zvířete (např. mg/kg).

Zjevná toxicita: je obecný pojem popisující zřetelné příznaky toxicity, které se projeví po podání zkoušené látky (příklady viz (3)), kdy při podání další vyšší fixní dávky lze u většiny pokusných zvířat očekávat značné bolesti a přetrvávající známky značného utrpení, stavu agónie (kritéria uvádí dokument *Humane Endpoints Guidance* (8)) nebo pravděpodobné uhynutí.

GHS: Globálně harmonizovaný systém klasifikace chemických látek a směsí. Společný projekt Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj (lidské zdraví a životní prostředí), Odborného výboru OSN pro přepravu nebezpečného zboží (fyzikálně-chemické vlastnosti) a Mezinárodní organizace práce (informace o nebezpečnosti) koordinovaný Meziorganizačním programem pro řádné nakládání s chemikáliemi (IOMC).

Blížící se uhynutí: stav agónie nebo uhynutí je očekáván před další plánovanou dobou pozorování. Příznaky svědčící o tomto stavu u hlodavců mohou zahrnovat křeče, polohu na boku, polohu vleže a třes (více podrobností viz text *Humane Endpoint Guidance Document* (8)).

LD₅₀ (střední letální dávka): je statisticky vypočtená jednotlivá dávka látky, u níž lze očekávat, že způsobí uhynutí 50 % zvířat, jimž byla podána orální cestou. Hodnota LD₅₀ se vyjadřuje v hmotnosti zkoušené látky na jednotku hmotnosti pokusného zvířete (mg/kg).

Limitní dávka: označuje nejvyšší přípustnou dávku (2 000 nebo 5 000 mg/kg).

Stav agónie: označuje stav úhynu nebo neschopnost přežít, ani když je zvíře léčeno (více podrobností viz text *Humane Endpoint Guidance Document* (8)).

Předvídatelný úhyn: přítomnost klinických příznaků svědčících o smrti, přičemž doba úhynu je známá a předchází plánovanému ukončení zkoušky v budoucnosti, např.: neschopnost dojit k vodě nebo potravě. (více podrobností viz text *Humane Endpoint Guidance Document* (8)).

1.3 PODSTATA ZKUŠEBNÍ METODY

Skupinám zvířat stejného pohlaví se postupně podá fixní dávka 5, 50, 300 a 2 000 mg/kg (výjimečně lze uvažovat o další fixní dávce 5 000 mg/kg, viz část 1.6.2). Výchozí úroveň dávky se zvolí na základě orientační studie jako dávka, u níž se očekává, že vyvolá některé příznaky toxicity, aniž způsobí závažné toxické účinky nebo úhyn. Klinické příznaky a stavy spojené s bolestí, utrpením a blížícím se úhynem jsou podrobně popsány v samostatném dokumentu OECD (8). Dalším skupinám zvířat mohou být podány vyšší nebo nižší fixní dávky podle přítomnosti nebo nepřítomnosti příznaků toxicity nebo uhynutí. Podle tohoto postupu se pokračuje, dokud nebude zjištěna dávka vyvolávající zřejmou toxicitu nebo není pozorováno více než jedno uhynutí, anebo pokud nejsou ani při nejvyšší dávce zjištěny žádné účinky nebo pokud dochází k úhynům při nejnižší dávce.

1.4 POPIS ZKUŠEBNÍ METODY

1.4.1 Výběr druhu zvířat

Upřednostňovaným druhem hlodavce je potkan, avšak lze použít i jiné druhy hlodavců. Obvykle se používají samice (7). Je to proto, že přehled literatury o konvenčních zkouškách LD₅₀ ukazuje, že mezi pohlavími je obvykle malý rozdíl, pokud jde o citlivost, ale v případech, v nichž jsou rozdíly pozorovány, jsou samice obecně nepatrně citlivější (10). Pokud však poznatky o toxikologických nebo toxikokinetických vlastnostech strukturně příbuzných chemických látek naznačují, že citlivější jsou pravděpodobně samci, použije se toto pohlaví. Jestliže se zkouška provádí na samcích, je nutné podat náležitě odůvodnění.

Použijí se mladá zdravá dospělá zvířata běžně užívaných laboratorních kmenů. Samice musí být nullipary a nesmí být březí. Každé zvíře musí být na začátku podávání látky 8 až 12 měsíců staré a jeho hmotnost by se měla pohybovat v intervalu ± 20 % střední hmotnosti zvířat, kterým byla podána předchozí dávka.

1.4.2 Podmínky chovu a krmení

Teplota v místnosti pro pokusná zvířata by měla být 22 °C (± 3 °C). Relativní vlhkost vzduchu by měla být minimálně 30 % a pokud možno nepřesáhnout 70 %, kromě doby úklidu místnosti, cílem by měla být hodnota 50 – 60 %. Osvětlení bude umělé se střídáním 12 h světla a 12 h tmy. Ke krmení lze použít konvenční laboratorní stravu s neomezenou dodávkou pitné vody. Zvířata mohou být chována v klecích ve skupinách podle dávky, ale počet zvířat v kleci nesmí bránit nerušenému pozorování každého zvířete.

1.4.3 Příprava zvířat

Zvířata se náhodně vyberou, pro usnadnění individuální identifikace se označí, a chovají se v klecích minimálně 5 dnů před začátkem podávání látky, aby se mohla přizpůsobit laboratorním podmínkám.

1.4.4 Příprava dávek

Zkoušená látka by obecně měla být při všech úrovních zkoušených dávek podávána v konstantním objemu pomocí úpravy koncentrace dávkovaného přípravku. V případech, kdy má být zkoušen kapalný koncový produkt nebo směs, může však být použito nezředěné zkoušené látky, tj. s konstantní koncentrací, pro hodnocení následného rizika této látky užitečnější a je vyžadováno některými kontrolními orgány. Ani v jednom případě nesmí být překročen maximální objem dávky. Maximální objem kapaliny, kterou lze jednorázově podat, závisí na velikosti pokusného zvířete. U hlodavců by objem obvykle neměl přesáhnout 1 ml na 100 g tělesné hmotnosti, avšak u vodních roztoků připadá v úvahu i dávka 2 ml na 100 g tělesné hmotnosti. S ohledem na složení dávkovaného přípravku se ve všech případech, kde je to možné, doporučuje použití vodního roztoku/suspenze/emulze, potom v pořadí podle preference použití roztoku/suspenze/emulze v oleji (např. v kukuřičném oleji) a nakonec případně roztoku v jiných vehikulech. U vehikul jiných než voda musí být známy toxikologické charakteristiky. Dávky musí být připraveny krátce před podáním, pokud není stálost přípravku během doby, kdy bude používán, známa a neukáže se jako přijatelná.

1.5 POSTUP

1.5.1 Podávání dávek

Zkoušená látka se podává sondou v jedné dávce pomocí žaludeční sondy nebo vhodné intubační kanyly. Pokud výjimečně není možné podat dávku najednou, lze ji podat po menších množstvích během nejvýše 24 h.

Před podáním zkoušené látky nemají zvířata dostávat potravu (např. potkanům by se neměla podávat přes noc, myším 3 – 4 h), voda se však ponechává. Po uplynutí doby hladovění se zvířata zváží a podá se jim zkoušená látka. Po podání látky se zamezí přístupu k potravě na další 3 – 4 h u potkanů nebo 1 – 2 h u myši. Podává-li se látka po částech v průběhu určité doby, může být podle délky období nezbytné poskytnout zvířatům potravu a vodu.

1.5.2 Orientační studie

Cílem orientační studie je umožnit výběr vhodné výchozí dávky pro hlavní studii. Zkoušená látka se podává jednotlivým zvířatům postupně podle vývojového diagramu v příloze 1. Orientační studie je ukončena, jakmile lze stanovit výchozí dávku pro hlavní studii (nebo pokud je při nejnižší fixní dávce pozorován úhyn).

Výchozí dávka orientační studie se zvolí z fixních dávek ve výši 5, 50, 300 a 2 000 mg/kg jako dávka, u níž se očekává, že vyvolá zřejmou toxicitu, přičemž toto očekávání je pokud možno založeno na důkazech z údajů získaných *in vivo* a *in vitro* ze stejné chemické látky a strukturně příbuzných látek. Pokud takové informace neexistují, výchozí dávka činí 300 mg/kg.

Mezi podáním dávky každému zvířeti se ponechá doba minimálně 24 h. Všechna zvířata se pozorují minimálně 14 dnů.

Ve výjimečných případech a pouze je-li to odůvodněno specifickými konkrétními předpisy, lze zvážit použití další nejvyšší úrovně dávky 5 000 mg/kg (viz příloha 3). S ohledem na dobré zacházení se zvířaty se pokusy na zvířatech v rámci kategorie 5 GHS (2 000 – 5 000 mg/kg) nedoporučují a měly by se zvažovat pouze tehdy, pokud existuje velká pravděpodobnost, že výsledky takového pokusu mají přímý význam pro ochranu lidského zdraví, zdraví zvířat nebo životního prostředí.

V případech, kdy zvíře, u něhož je látka zkoušena v nejnižší fixní úrovni dávky (5 mg/kg), v orientační studii uhynie, obvykle se studie ukončí a látka přiřadí do kategorie 1 GHS (jak je uvedeno v příloze 1). Pokud je však vyžadováno další potvrzení klasifikace, může být proveden tento volitelný doplňkový postup: druhému zvířeti se podá dávka 5 mg/kg. Pokud toto druhé zvíře uhynie, bude kategorie 1 GHS potvrzena a studie okamžitě ukončena. Pokud druhé zvíře přežije, dávka 5 mg/kg se podá maximálně třem dalším zvířatům. Jelikož riziko úhynu bude vysoké, měla by být látka zvířatům podávána postupně, aby bylo zajištěno dobré zacházení se zvířaty. Časový interval mezi dávkami podanými jednotlivým zvířatům by měl být dostatečný na to, aby bylo možné stanovit, zda zvíře, jemuž byla látka podána dříve, pravděpodobně přežije. Pokud dojde k úhynu druhého zvířete, posloupnost podávání se okamžitě ukončí a látka nebude podána žádnému dalšímu zvířeti. Vzhledem k tomu, že výskyt druhého úhynu (bez ohledu na počet zvířat, na nichž byla látka v době ukončení zkoušena) spadá do výsledku A (2 anebo více úhynů), postupuje se podle pravidla klasifikace v příloze 2 s fixní dávkou 5 mg/kg (kategorie 1, pokud se vyskytnou dva a více úhynů nebo kategorie 2, pokud se nevyskytne více než 1 úhyn). Navíc je v příloze 4 uvedeno poučení týkající se klasifikace v rámci systému EU, dokud nebude zaveden nový globálně harmonizovaný systém (GHS).

1.5.3 Hlavní studie

1.5.3.1 Počet zvířat a úroveň dávek

Kroky, podle kterých se má postupovat po provedení zkoušek s výchozí úrovní dávky, jsou uvedeny ve vývojovém diagramu v příloze 2. Bude nutné zvolit jeden ze tří postupů: buď zkoušení ukončit a stanovit odpovídající klasifikační třídu nebezpečnosti, nebo provést zkoušky s vyšší fixní dávkou nebo zkoušky s nižší fixní dávkou. S ohledem na ochranu zvířat se v hlavní studii znovu nepoužije úroveň dávky, která v orientační studii vedla k uhynutí (viz příloha 2). Zkušenosti ukázaly, že nejpravděpodobnějším výsledkem u výchozí úrovně dávky bude, že látku lze klasifikovat bez nutnosti dalších zkoušek.

Obvykle se pro každou zkoumanou úroveň dávky použije celkem pět zvířat stejného pohlaví. Mezi těmito pěti zvířaty bude jedno zvíře z orientační studie, jemuž byla podána zvolená úroveň dávky, a další čtyři zvířata (kromě výjimečných případů, kdy úroveň dávky použité v hlavní studii nebyla součástí orientační studie).

Časový interval mezi podáváním jednotlivé výše dávky závisí na době nástupu, trvání a závažnosti příznaků toxicity. Expozice zvířat další dávkou bude odložena, dokud nebude jisté, že zvířata, jimž byla podána předchozí dávka, přežila. Mezi jednotlivými dávkami se v případě potřeby doporučuje ponechat dobu 3 nebo 4 dnů, aby bylo umožněno pozorování zpožděné toxicity. Časový interval lze podle potřeby upravit, např. v případě neprůkazné reakce.

Při zvažování použití nejvyšší fixní dávky 5 000 mg/kg se postupuje podle metody popsané v příloze 3 (viz také 1.6.2).

1.5.3.2 Limitní zkouška

Limitní zkouška se používá především tehdy, má-li osoba provádějící zkoušku informace svědčící o tom, že zkoušený materiál je pravděpodobně netoxický, tj. je toxický pouze nad rámec regulačních limitních dávek. Informace o toxicitě zkoušeného materiálu lze získat ze znalostí o podobných zkoušených sloučeninách, směsích nebo produktech s ohledem na totožnost a procento složek, o nichž se ví, že jsou toxikologicky významné. V situacích, kdy existuje jen málo informací nebo vůbec žádné informace o toxicitě nebo kdy se očekává, že zkoušený materiál bude toxický, bude provedena hlavní zkouška.

Podle obvyklého postupu slouží jako limitní zkouška pro tyto pokyny výchozí dávka orientační studie 2 000 mg/kg (nebo výjimečně 5 000 mg/kg), po níž následuje podání této výše dávky dalším čtyřem zvířatům.

1.6 POZOROVÁNÍ

Po podání dávky se zvířata pozorují individuálně minimálně jednou během prvních 30 minut, pravidelně během prvních 24 h, přičemž zvláštní pozornost se věnuje prvním 4 h, a poté denně po dobu 14 dnů kromě případů, kdy je nutné zvířata ze studie vyjmout a humánně utratit z důvodu dodržování pravidla dobrého zacházení se zvířaty, nebo je zjištěn jejich úhyn. Doba pozorování by však neměla být stanovena pevně. Bude stanovena podle toxických reakcí, doby jejich nástupu a délky fáze zotavení, a může tedy být podle potřeby prodloužena. Doba, kdy se příznaky toxicity objeví a vymizí, je důležitá zejména v případě tendence ke zpožděným příznakům toxicity (11). Veškerá pozorování se systematicky zaznamenávají, přičemž záznamy se vedou jednotlivě, pro každé zvíře.

Další pozorování budou nutná, jestliže zvířata dále vykazují příznaky toxicity. Pozorování zahrnují změny na kůži, na srsti, na očích, na sliznicích, a rovněž změny dýchání, krevního oběhu, změny funkce autonomní a centrální nervové soustavy, somatomotorické aktivity a chování. Pozornost je třeba věnovat třesu, křečím, slinění, průjmu, letargii, spánku a kómatu. Vezmou se v úvahu principy a kritéria shrnuté v textu Humane Endpoints Guidance Document (8). Zvířata ve stavu agónie a zvířata se známkami prudkých bolestí nebo s přetrvávajícími příznaky značného utrpení se humánně utratí. Pokud jsou zvířata z humánních důvodů utracena nebo je zjištěn jejich úhyn, je nutné dobu uhynutí zaznamenat co nejpřesněji.

1.6.1 Tělesná hmotnost

Hmotnost jednotlivých zvířat se stanoví krátce před podáním zkoušené látky a nejméně jednou týdně poté. Vypočítají se změny hmotnosti zaznamenané se. Na konci zkoušky se zvířata, která přežila, zváží a poté humánně utratí.

1.6.2 Patologie

Všechna pokusná zvířata (včetně těch, která v průběhu zkoušky uhynula nebo byla utracena z důvodu dodržování pravidla dobrého zacházení se zvířaty) se pitvají. U každého zvířete se zaznamenají všechny makroskopické patologické nálezy. Lze také zvážit mikroskopické vyšetření orgánů, u nichž jsou patrné makroskopické patologie, u zvířat, která přežila 24 nebo více hodin po prvním podání dávky, protože mohou poskytnout užitečné informace.

2. ÚDAJE

Měly by být uvedeny údaje pro každé jednotlivé zvíře. Navíc by měly být všechny údaje shrnuty do tabulky, přičemž se u každé zkušební skupiny uvede počet použitých zvířat, počet zvířat vykazujících příznaky toxicity, počet zvířat uhynulých v průběhu zkoušky nebo utracených z humánních důvodů, doba uhynutí jednotlivých zvířat, popis, časový průběh a vratnost toxických účinků a pitevní nálezy.

3. ZPRÁVY

3.1 PROTOKOL O ZKOUŠCE

Protokol o zkoušce musí obsahovat následující informace:

Zkoušená látka:

- fyzikální povaha, čistota a tam, kde je to podstatné, fyzikálně-chemické vlastnosti (včetně izomerizace),
- identifikační údaje, včetně čísla CAS.

Vehikulum (je-li použito):

- zdůvodnění výběru vehikula, pokud není použita voda.

Pokusná zvířata:

- použitý druh/kmen,
- mikrobiologický stav zvířat, je-li znám,
- počet, stáří a pohlaví zvířat (případně včetně zdůvodnění použití samců místo samic),
- původ, podmínky chovu, strava atd.

Zkušební podmínky:

- podrobné údaje o složení zkoušené látky, včetně podrobností o fyzikální formě podávaného materiálu,
- podrobné údaje o způsobu podání zkoušené látky, včetně objemu dávek a době podávání,
- podrobné údaje o stravě a kvalitě vody (včetně druhu/zdroje stravy, zdroje vody),
- zdůvodnění výběru výchozí dávky.

Výsledky:

- údaje o reakcích každého zvířete a o výši jeho dávky (tj. počet zvířat vykazujících příznaky toxicity, včetně úhytnutí, povahy, závažnosti a trvání účinků), ve formě tabulky;
- údaje o tělesné hmotnosti a jejich změnách ve formě tabulky;
- hmotnosti jednotlivých zvířat v den podání dávky, poté v týdenních intervalech a v čase úhynu nebo utracení;
- datum a doba úhynu, pokud předchází plánovanému usmrcení;
- časový průběh nástupu příznaků toxicity u každého zvířete, a zda byly vratné;
- pitevní a histopatologické nálezy pro každé zvíře, pokud jsou k dispozici.

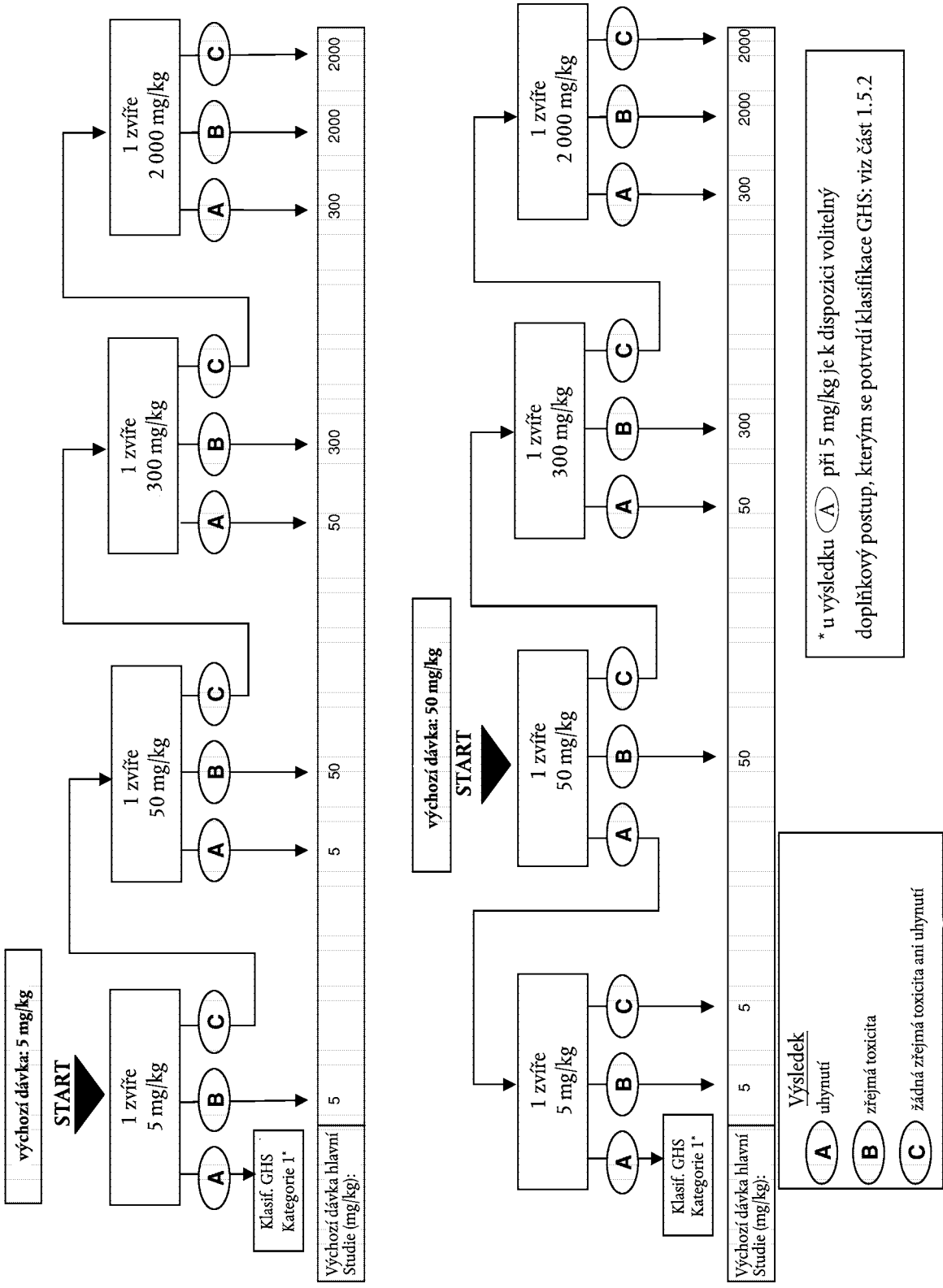
Diskuse a interpretace výsledků.

Závěry.

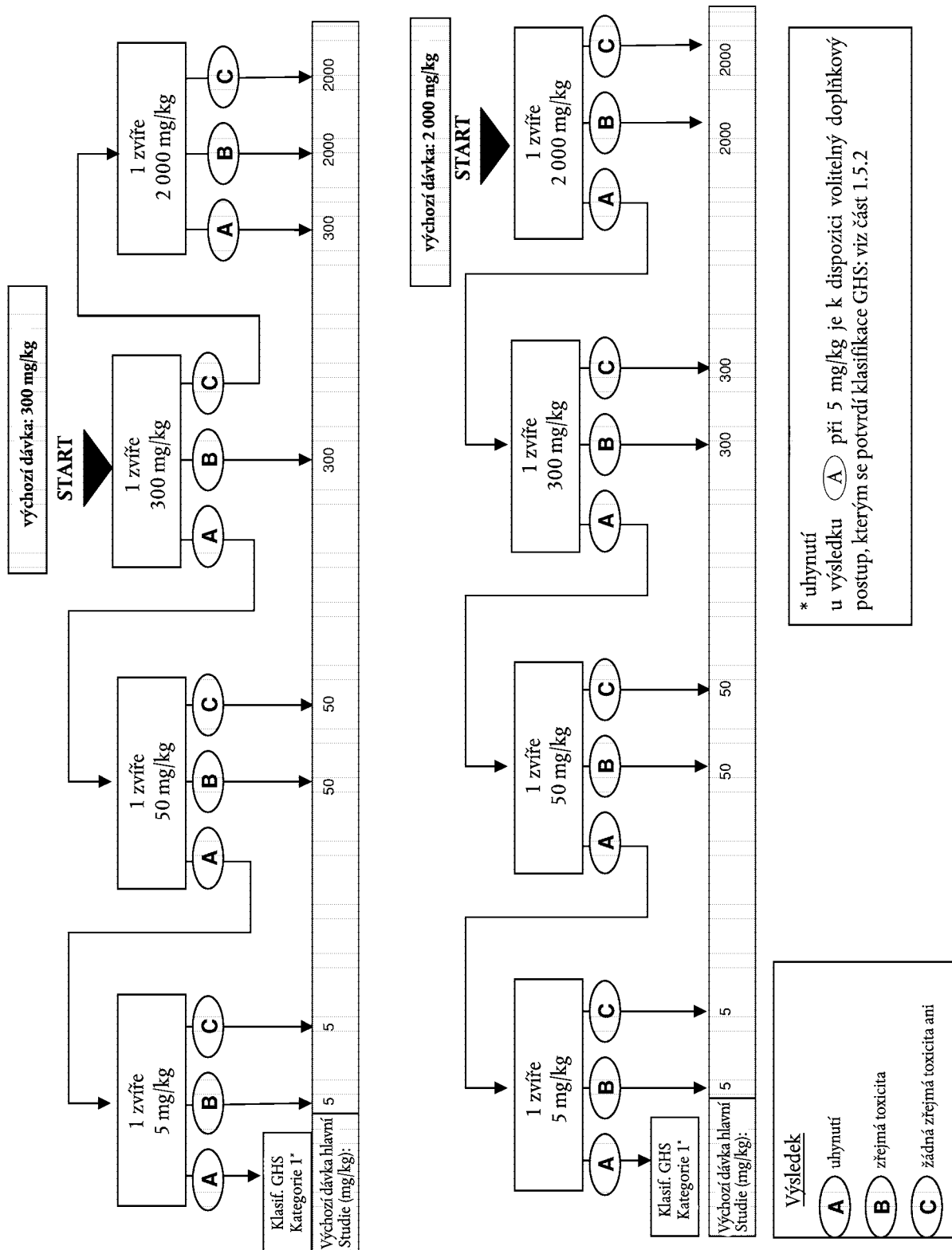
4 LITERATURA

- (1) British Toxicology Society Working Party on Toxicity (1984). Special report: a new approach to the classification of substances and preparations on the basis of their acute toxicity. *Human Toxicol.*, 3, 85 – 92.
- (2) Van den Heuvel, M. J., Dayan, A. D., Shillaker, R. O. (1987). Evaluation of the BTS approach to the testing of substances and preparations for their acute toxicity. *Human Toxicol.* 6, 279 – 291.
- (3) Van den Heuvel, M. J., Clark, D. G., Fielder, R. J., Koundakjian, P. P., Oliver, G. J. A., Pelling, D., Tomlinson, N. J., Walker, A. P. (1990). The international validation of a fixed-dose procedure as an alternative to the classical LD₅₀ test. *Fd. Chem. Toxicol.* 28, 469 – 482.
- (4) Whitehead, A., Curnow, R.N. (1992). Statistical evaluation of the fixed-dose procedure. *Fd. Chem. Toxicol.*, 30, 313 – 324.
- (5) Stallard, N., Whitehead, A. (1995). Reducing numbers in the fixed-dose procedure. *Human Exptl. Toxicol.* 14, 315 – 323.
- (6) Stallard, N., Whitehead, A., Ridgeway, P. (2002). Statistical evaluation of the revised fixed dose procedure. *Hum. Exp. Toxicol.*, 21, 183 – 196.
- (7) OECD (2001). Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment N. 24. Paris
- (8) OECD (2000). Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment N. 19.
- (9) OECD (1998). Harmonised Integrated Hazard Classification for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals in November 1998, Part 2, s. 11 <http://webnet1.oecd.org/oecd/pages/home/displaygeneral/0,3380,EN-documents-521-14-no-24-no-0,FF.html>].
- (10) Lipnick, R. L., Cotruvo, J. A., Hill, R. N., Bruce, R. D., Stitzel, K. A., Walker, A. P., Chu, I., Goddard, M., Segal, L., Springer, J.A., Myers, R.C. (1995). Comparison of the Up-and-Down, Conventional LD₅₀, and Fixed-Dose Acute Toxicity Procedures. *Fd. Chem. Toxicol.* 33, 223 – 231.
- (11) Chan P. K., Hayes A. W. (1994) Chapter 16 Acute Toxicity and Eye Irritation;. In: Principles and Methods of Toxicology. 3rd ed., A.W. Hayes, Editor. Raven Press, Ltd. New York, USA.

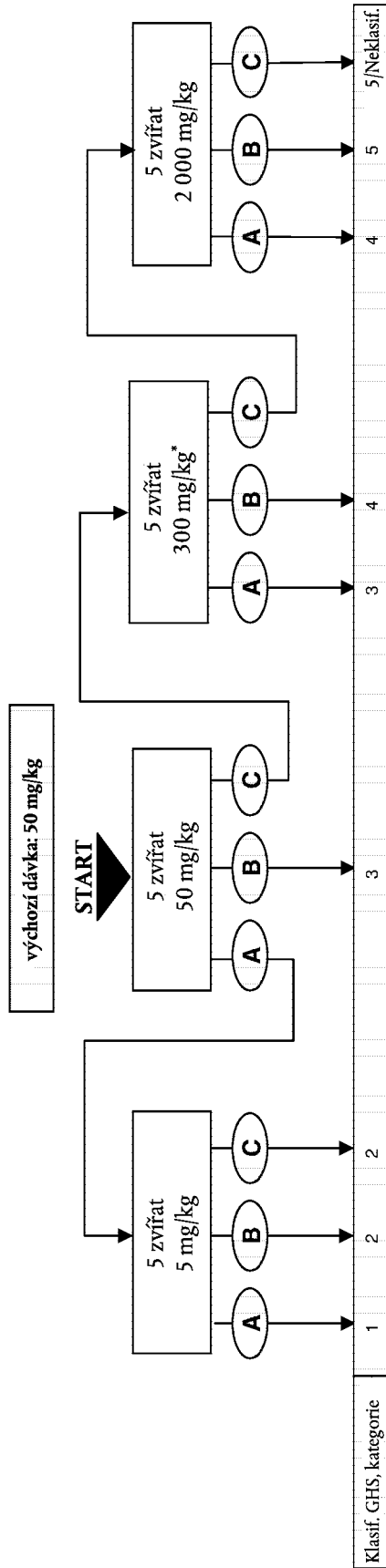
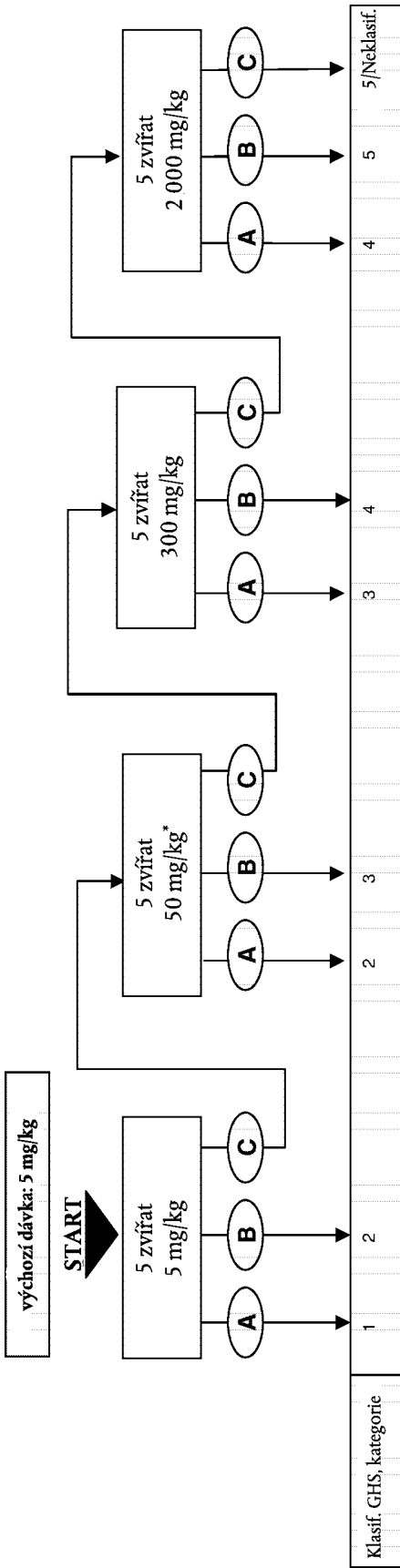
ANNEX 1: FLOW CHART FOR THE SIGHTING STUDY



ANNEX 1: FLOW CHART FOR THE SIGHTING STUDY



ANNEX 2: FLOW CHART FOR THE MAIN STUDY



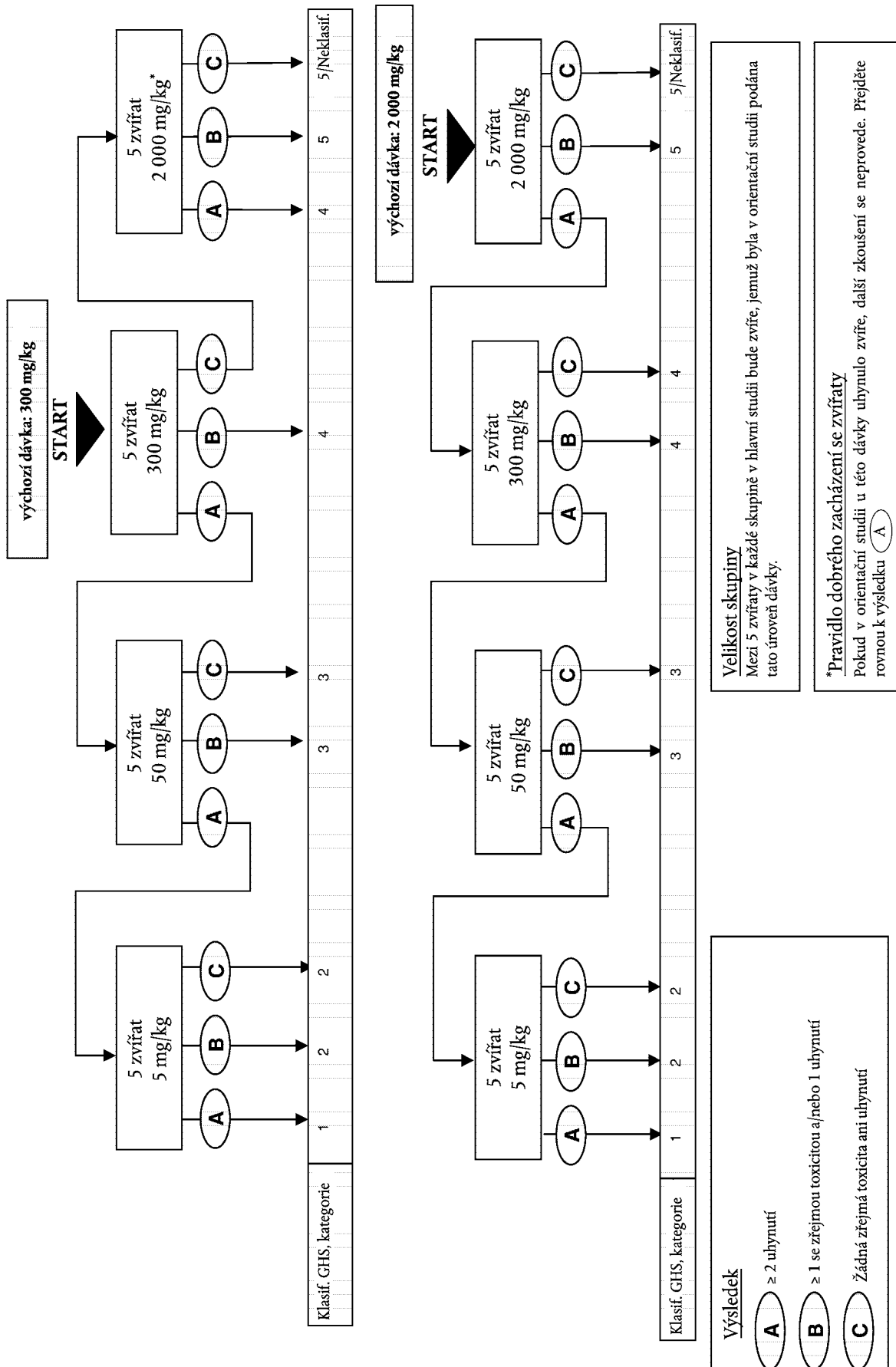
Výsledek

- A** ≥ 2 úhynutí
- B** ≥ 1 se zřejmou toxicitou a/nebo 1 úhynutí
- C** Žádná zřejmá toxicita ani úhynutí

Velikost skupiny
Mezi 5 zvířaty v každé skupině v hlavní studii bude zvířte, jemuž byla v orientační studii podána tato výše dávky.

*** Pravidlo dobrého zacházení se zvířaty**
Pokud v orientační studii u této dávky uhynulo zvířte, další zkoušení se neprovede. Přejděte rovnou k výsledku **A**.

ANNEX 2: FLOW CHART FOR THE MAIN STUDY



PŘÍLOHA 3

KRITÉRIA KLASIFIKACE ZKOUŠENÝCH LÁTEK S OČEKÁVANÝMI HODNOTAMI L₅₀ PŘESAHUJÍCÍMI 2 000 MG/KG BEZ NUTNOSTI ZKOUŠENÍ

Kritéria pro kategorii nebezpečnosti 5 mají umožnit identifikaci zkoušených látek, u nichž je nebezpečí akutní toxicity nízké, avšak kterémouo za určitých okolností pro citlivé jedince představovat nebezpečí. U těchto látek se předpokládá, že se jejich orální nebo dermální LD₅₀ nebo LD₅₀ ekvivalentních dávek podávaných jinými cestami pohybuje v rozmezí od 2 000 do 5 000 mg/kg. Zkoušené látky lze klasifikovat v kategorii ebezpečnosti definované jako 2 000 mg/kg < LD₅₀ < 5 000 mg/kg (v GHS kategorie 5) v těchto případech:

- a) pokud je do této kategorie zařazena podle některého ze způsobů zkoušení uvedeného v příloze 2, a to v závislosti na výskytech uhynutí;
- b) pokud jsou již k dispozici spolehlivé důkazy naznačující, že LD₅₀ se pohybuje v rozmezí hodnot kategorie 5, nebo pokud z jiných studií na zvířatech nebo z toxických účinků na člověka vyplývají akutní obavy o lidské zdraví;
- c) pokud extrapolací, odhadem nebo měřením údaj není přiřazení do vyšší tdy nebezpečnosti odůvodněno;
 - a) — pokud jsou k dispozici spolehlivé informace naznačující významné oxické účinky na člověka nebo
 - pokud je během zkoušení orální cestou s dávkami nejvýše kategorie 4 pozorováno uhynutí nebo
 - v případech, kdy odborný posudek potvrdí závažné klinické příznaky toxicity při testování s dávkami nejvýše kategorie 4 s výjimkou průjmu, zjevení srstinebo rozcuchané srsti nebo
 - v případech, kdy odborný posudek potvrdí spolehlivé informace, které naznačují možnost závažných akutních účinků vyplývajících z jiných studií na zvířatech.

ZKOUŠENÍ V DÁVKÁCH PŘESAHUJÍCÍCH 2 000 mg/kg

Ve výjimečných řípadech, a pouze je-li to odůvodněno specifickými regulačními potřebami, lze zvážít použití další nejvyšší úrovně fixní dávky 5 000 mg/kg. S ohledm na zásadudobrého zacházení se zvířaty se zkoušení s dávkami 5 000 mg/kg nedoporučuje, mělo by se zvažovat pouze v případě, že existuje velká pravděpodobnost, že výsledky takové zkoušky by měly přímý význam pro ochranu zvířat nebo lidského zdraví (9).

Orientační studie

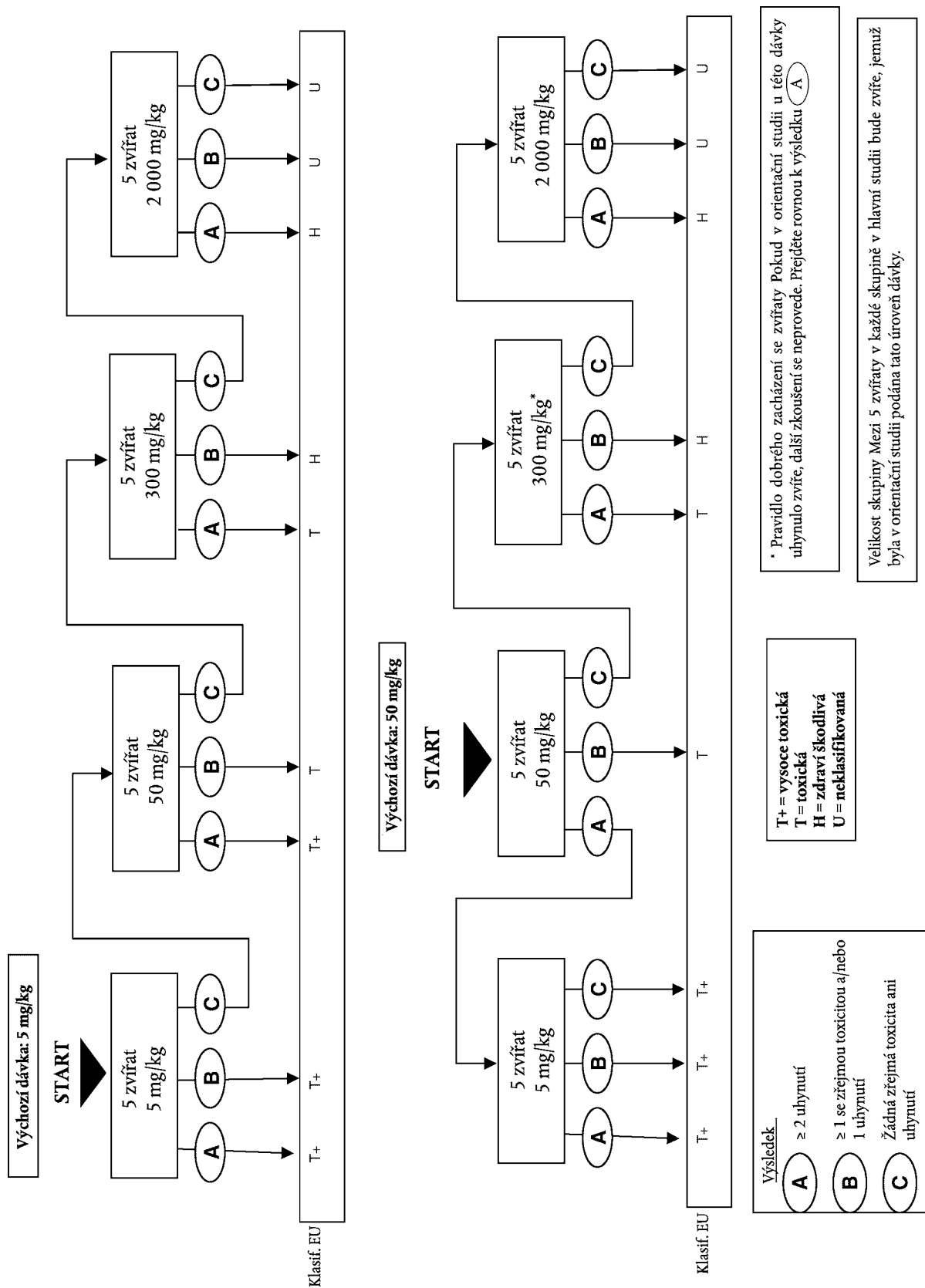
Pravidla pro rozhodování, jimiž se řídí metoda postupného podávání dávek uvedená v příloze 1, se rozšíří tak, aby zahrnovala úroveň dávky 5 000 mg/kg. Pokud se v orientační studii použije výchozí dávka 5 000 mg/kg, výsledek A (úhyn) povede k nutnosti zkoušet na druhém zvířeti dávku 2 000 mg/kg. Výsledky B a C (zřejmá toxicita nebo žádná toxicita) umožní zvolit dávku 5 000 mg/kg za výchozí dávku hlavní studie. Podobně pokud se použije výchozí dávka jiná než 5 000 mg/kg, zkoušení pokračuje na úroveň 5 000 mg/kg v případě, že se při 2 000 mg/kg zjistí výsledky B nebo C. Následný výsledek A při 5 000 mg/kg bude vyžadovat výchozí dávku hlavní studie 2 000 mg/kg a výsledky B a C budou vyžadovat výchozí dávku v hlavní studii 5 000 mg/kg.

Hlavní studie

Pravidla pro rozhodování, jimiž se řídí metoda postupného podávání dávek uvedená v příloze 2, se rozšíří tak, aby zahrnovala úroveň dávky 5 000 mg/kg. Pokud se tedy v hlavní studii použije výchozí dávka 5 000 mg/kg, bude výsledek A (≥ 2 úhyn) vyžadovat zkoušení dávky 2 000 mg/kg na druhé skupině. Výsledek B (zřejmá toxicita a/nebo ≤ 1 úhyn) nebo C (žádná toxicita) povedou k tomu, že látka nebude podle GHS klasifikována. Podobně pokud se použije výchozí dávka jiná než 5 000 mg/kg, zkoušení pokračuje na úroveň 5 000 mg/kg v případě, že se při 2 000 mg/kg zjistí výsledek C. Následný výsledek A při 5 000 mg/kg povede k tomu, že se látka přiřadí do kategorie 5 GHS a na základě výsledku B nebo C látka nebude klasifikována.

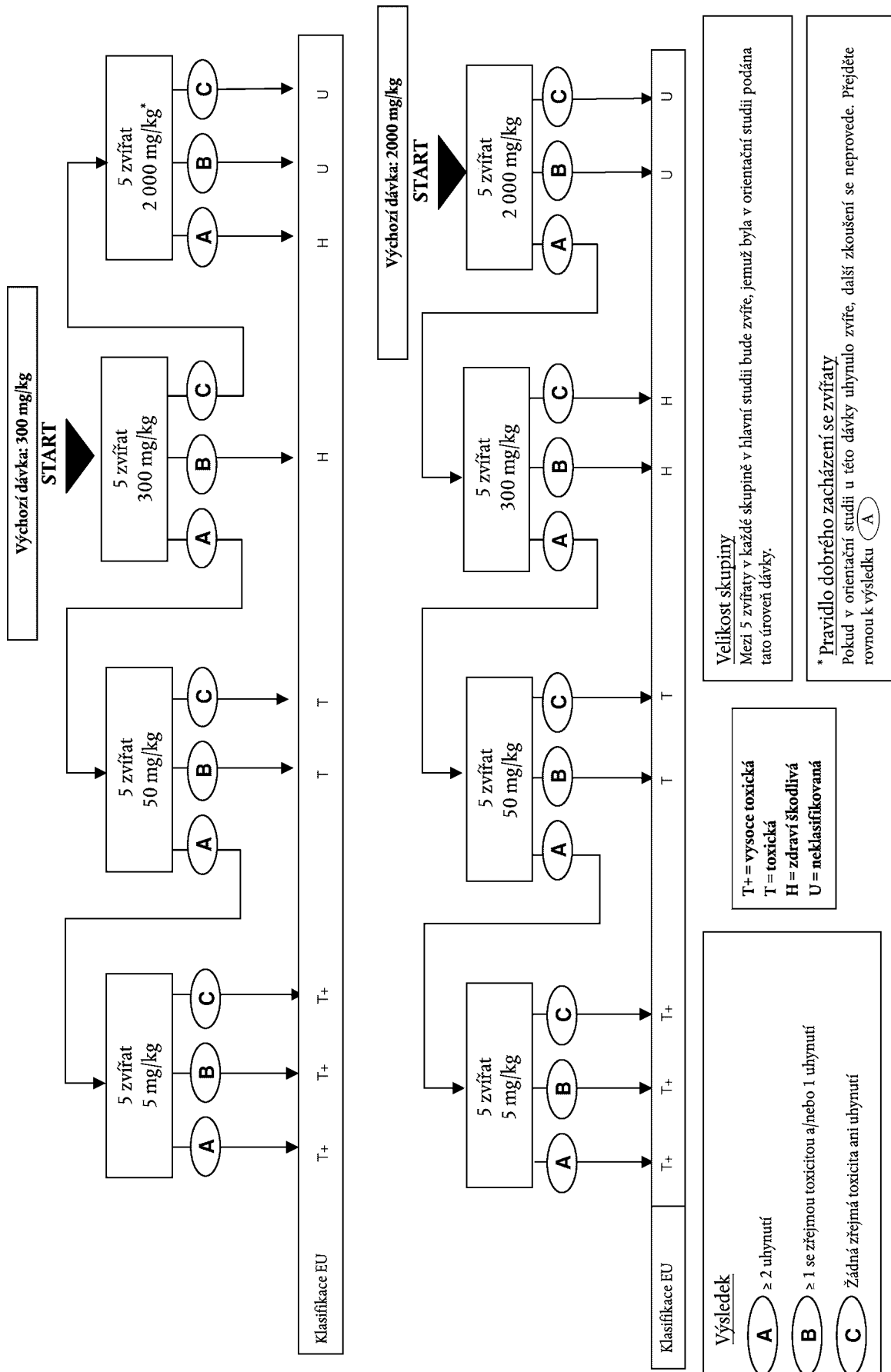
PŘÍLOHA 4

ZKUŠEBNÍ METODA B.1 bis – Pokyny ke klasifikaci podle systému EU pro přechodné období do plného zavedení globálně harmonizovaného systému klasifikace (GH) (převzato literatury (8))



PŘÍLOHA 4

ZKUŠEBNÍ METODA B.1 bis – Pokyny ke klasifikaci podle systému EU pro přechodné období do plného zavedení globálně harmonizovaného systému klasifikace (GH) (přzato literatury (8))



PŘÍLOHA 2C

„B.1 tris. AKUTNÍ ORÁLNÍ TOXICITA– METODA STANOVENÍ TŘÍDY AKUTNÍ TOXICITY**1. METODA**

Tato zkušební metoda odpovídá metodě OECD TG 423 2001).

1.1 ÚVOD

Metoda stanovení třídy akutní toxicity (1) stanovená v této zkoušce je metodou po krocích, přičemž u každého kroku se používají 3 zvířata stejného pohlaví. V závislosti na úmrtnosti a/nebo stavu agónie zvířat lze o akutní toxicitě zkoušené látky rozhodnout průměrně na základě 2 až 5 látek zařadit podobně jako jiné zkušební metody akutní toxicity. Metoda stanovení třídy akutní toxicity je založena na biometrickém hodnocení (2)(3)(4)(5) s fixními dávkami, přiměřeně oddělenými tak, aby umožnila zařazení látky pro účely klasifikace a posouzení nebezpečnosti. Metoda přijatá v roce 1996 byla podrobena rozsáhlým národním (6) mezinárodním (7) validačním studiím i *in vivo* pro srovnání s hodnotami LD₅₀ získanými z literatury.

Obecný návod týkající se výběru nevhodnější zkušební metody k danému účelu obsahuje text *Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing* (8). V tomto dokumentu jsou také uvedeny doplňující informace o provádění a interpretaci metody zkoušení B.1 tris.

Není nutné podávat zkoušené látky v dávkách, o nichž je známo, že v důsledku leptavých nebo výrazně dráždivých účinků vyvolávají značnou bolest a utrpení. Umírající zvířata nebo zvířata, která zjevně projevují příznaky bolesti nebo značného a přetrvávajícího utrpení, se humánně utratí a při interpretaci výsledků jsou hodnocena jako zvířata uhynulá při zkoušce. Kritéria rozhodování o utrácení umírajících nebo značně trpících zvířat a pokyny týkající se rozpoznání předvídatelného nebo blížícího se uhynutí jsou předmětem samostatného dokumentu (9).

Metoda využívá předem stanovených dávek a její výsledky umožňují látku zařadit a klasifikovat podle globálně harmonizovaného systému klasifikace chemických látek, které způsobují akutní toxicitu (10).

V zásadě tato metoda neslouží k vypočtení přesné hodnoty LD₅₀, ale umožňuje určit definované rozpětí expozice, při které se předpokládá letalita, neboť hlavním koncovým vyhodnocením této zkoušky zůstává uhynutí části zvířat. Metoda umožňuje stanovit hodnotu LD₅₀, pouze pokud alespoň dvě dávky vedou k mortalitě vyšší než 0 % a nižší než 100 %. Použití výběru předem stanovených dávek, bez ohledu na zkoušenou látku, u něhož se klasifikace explicitně váže k počtu zvířat pozorovaných v různých stavech, zvyšuje možnost konzistentního a opakovaného předávání zpráv mezi laboratoři.

Zkušební laboratoř vezme před provedením studie v úvahu veškeré dostupné informace o zkoušené látce. Součástí těchto informací je totožnost a chemická struktura látky, její fyzikálně-chemické vlastnosti, výsledek jiných zkoušek toxicity dané látky *in vivo* nebo *in vitro*, toxikologické údaje o strukturně příbuzných látkách a očekávané použití látky. Tyto informace jsou nezbytné k tomu, aby byli všichni zainteresovaní přesvědčeni, že zkouška má význam pro ochranu lidského zdraví a pomůže při výběru nevhodnější výchozí dávky.

1.2 DEFINICE

Akutní orální toxicita: se vztahuje na nepříznivé účinky, které se projeví po orálním podání jedné dávky nebo více dávek látky během 24 h.

Opožděný úhyn: znamená, že zvíře během 48 h neuhyne ani nejeví známky umírání, ale uhynie později během čtrnáctidenní doby pozorování.

Dávka: je množství podané zkoušené látky. Dávka se vyjadřuje jako hmotnost zkoušené látky na jednotku hmotnosti pokusného zvířete (např. mg/kg).

GHS: globálně harmonizovaný systém klasifikace chemických látek a směsí. Společný projekt Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj (lidské zdraví a životní prostředí), Odborného výboru OSN pro přepravu nebezpečného zboží (fyzikálně-chemické vlastnosti) a Mezinárodní organizace práce (informace o nebezpečnosti) koordinovaný Meziorganizačním programem pro řádné nakládání s chemikáliemi (IOMC).

Blížící se uhytnutí: když je očekáván stav agónie nebo uhytnutí před další plánovanou dobou pozorování. Příznaky svědčící o tomto stavu mohou u hlodavců zahrnovat křeče, polohu na boku, polohu vleže a třes (více podrobností viz text *Humane Endpoint Guidance Document* (9)).

LD₅₀ (střední letální orální dávka): je statisticky vypočtená jednotlivá dávka látky, u níž lze očekávat, že způsobí uhytnutí 50 % zvířat, jimž byla podána orální cestou. Hodnota LD₅₀ se vyjadřuje jako hmotnost zkoušené látky na jednotku hmotnosti pokusného zvířete (mg/kg).

Limitní dávka: označuje nejvyšší přípustnou dávku (2 000 nebo 5 000 mg/kg).

Stav agónie: označuje stav úhynu nebo neschopnost přežít, ani když je zvíře léčeno (více podrobností viz text *Humane Endpoint Guidance Document* (9)).

Předvídatelný úhyn: přítomnost klinických příznaků svědčících o smrti, přičemž doba úhynu je známa a předchází plánovanému ukončení zkoušky v budoucnosti, např. neschopnost dojít k vodě nebo potravě. (více podrobností viz text *Humane Endpoint Guidance Document* (9)).

1.3 PODSTATA ZKOUŠKY

Podstatou zkoušky je, že se pomocí metody po krocích, využívající minimálního počtu zvířat u každého kroku, získají informace o akutní toxicitě zkoušené látky, které umožní její klasifikaci. Látka se skupině pokusných zvířat podává orálně v jedné ze stanovených dávek. Látka se zkouší metodou po krocích, přičemž u každého kroku se používají tři zvířata stejného pohlaví (obvykle samice). Přítomnost nebo nepřítomnost mortality vyvolané látkou u zvířat, jimž byla látka podána v jednom kroku, rozhodne o dalším kroku, tj.:

- není třeba žádné další zkoušení,
- podá se stejná dávka dalším třem zvířatům,
- látka se podá dalším třem zvířatům v nejbližší vyšší nebo nejbližší nižší úrovni dávky.

Podrobnosti postupu zkoušení jsou uvedeny v příloze 1. Metoda umožní rozhodnout s ohledem na zařazení zkoušené látky do jedné z řady tříd toxicity definovaných fixními hraničními hodnotami LD₅₀.

1.4 POPIS METODY

1.4.1 Výběr druhu zvířat

Upřednostňovaným druhem hlodavce je potkan, avšak lze použít i jiné druhy hlodavců. Obvykle se používají samice (9). Je to proto, že přehled literatury o konvenčních zkouškách LD₅₀ ukazuje, že ačkoliv je mezi pohlavími obvykle malý rozdíl, pokud jde o citlivost, jsou samice v případech, ve kterých jsou rozdíly pozorovány, obecně nepatrně citlivější (11). Pokud však poznatky o toxikologických nebo toxikokinetických vlastnostech strukturně příbuzných chemických látek naznačují, že citlivější jsou pravděpodobně samci, použije se toto pohlaví. Jestliže se zkouška provádí na samcích, je nutné podat náležité odůvodnění.

Použijí se mladá zdravá dospělá zvířata běžně užívaných laboratorních kmenů. Samice musí být nullipary a nesmí být březí. Každé zvíře musí být na začátku podávání látky 8 až 12 měsíců staré a jeho hmotnost by se měla pohybovat v intervalu $\pm 20\%$ střední hmotnosti zvířat, kterým byla podána předchozí dávka.

1.4.2 Podmínky chovu a krmení

Teplota v místnosti pro pokusná zvířata by měla být 22 °C (± 3) °C, relativní vlhkost minimálně 30 % a pokud možno nepřesáhnout 70 % kromě doby úklidu místnosti, cílem by měla být hodnota 50 – 60 %. Osvětlení bude umělé se střídáním 12 h světla a 12 h tmy. Ke krmení lze použít konvenční laboratorní stravu s neomezenou dodávkou pitné vody. Zvířata mohou být chována v klecích ve skupinách podle dávky, ale počet zvířat v kleci nesmí bránit nerušenému pozorování každého zvířete.

1.4.3 Příprava zvířat

Zvířata se náhodně vyberou, pro usnadnění individuální identifikace se označí a chovají se v klecích minimálně 5 dnů před podáním látky, aby se mohla přizpůsobit laboratorním podmínkám.

1.4.4 Příprava dávek

Zkoušená látka by obecně měla být při všech úrovních zkoušených dávek podávána v konstantním objemu pomocí úpravy koncentrace dávkovaného přípravku. V případech, kdy má být zkoušen kapalný koncový produkt nebo směs, může však být použito nezředěné zkoušené látky, tj. s konstantní koncentrací, pro hodnocení následného rizika této látky užitečnější a je vyžadováno některými kontrolními orgány. Ani v jednom případě nesmí být překročen maximální objem dávky. Maximální objem kapaliny, kterou lze jednorázově podat, závisí na velikosti pokusného zvířete. U hlodavců by objem obvykle neměl přesáhnout 1 ml na 100 g tělesné hmotnosti, avšak u vodních roztoků připadá v úvahu i dávka 2 ml na 100 g tělesné hmotnosti. S ohledem na složení dávkovaného přípravku se ve všech případech, kde je to možné, doporučuje použití vodného roztoku/suspenze/emulze, potom v pořadí podle preference použití roztoku/suspenze/emulze v oleji (např. v kukuřičném oleji) a nakonec případně roztoku v jiných vehikulech. U vehikul jiných než voda musí být známy toxikologické charakteristiky. Dávky musí být připraveny krátce před podáním, pokud není stálost přípravku během doby, kdy bude používán, známa a neukáže se jako přijatelná.

1.5 POSTUP

1.5.1 Podávání dávek

Zkoušená látka se podává sondou v jedné dávce pomocí žaludeční sondy nebo vhodné intubační kanyly. Pokud výjimečně není možné podat dávku najednou, lze dávku podat po menších množstvích během nejvýše 24 h.

Před podáním zkoušené látky nemají zvířata dostávat potravu (např. potkanům by se neměla podávat přes noc, myším 3 – 4 h), voda se však ponechává. Po uplynutí doby hladovění se zvířata zváží a podá se jim zkoušená látka. Po podání látky se zamezí přístupu k potravě na další 3 – 4 h u potkanů nebo 1 – 2 h u myši. Podává-li se látka po částech v průběhu určité doby, může být podle délky období nezbytné poskytnout zvířatům potravu a vodu.

1.5.2 Počet zvířat a úrovně dávek

V každém kroku se používají tři zvířata. Dávka, která bude použita jako výchozí, se zvolí z jedné ze čtyř fixních úrovní: 5, 50, 300 a 2 000 mg/kg tělesné hmotnosti. Výchozí dávka by měla být taková, která nejpravděpodobněji vyvolá uhynutí některých zvířat, jimž bude podána. Postup, který je nutno u každé výchozí dávky dodržet, je popsán ve vývojových diagramech v příloze 1. V příloze 4 jsou uvedeny pokyny týkající se klasifikace v rámci systému EU do doby, než bude zaveden nový globálně harmonizovaný systém (GHS).

Pokud dostupné informace naznačují, že při nejvyšší úrovni výchozí dávky (2 000 mg/kg tělesné hmotnosti) je úmrtnost nepravděpodobná, je nutné provést limitní zkoušku. Pokud nejsou o látce, která má být zkoušena, k dispozici žádné informace, doporučuje se, z důvodů dodržování pravidla dobrého zacházení se zvířaty, použít výchozí dávku 300 mg/kg tělesné hmotnosti.

Časový interval mezi experimentálními skupinami závisí na době nástupu, trvání a závažnosti příznaků toxicity. Podání další dávky bude odloženo, dokud nebude jisté, že zvířata, jimž byla podána předchozí dávka, přežila.

Ve výjimečných případech a pouze je-li to odůvodněno specifickými konkrétními předpisy, lze zvážit použití další nejvyšší úrovně dávky 5 000 mg/kg tělesné hmotnosti (viz příloha 2). S ohledem na zásadu dobrého zacházení se zvířaty se pokusy na zvířatech v rámci kategorie 5 GHS (2 000 – 5 000 mg/kg) nedoporučují a měly by se zvažovat pouze tehdy, pokud existuje velká pravděpodobnost, že výsledky takové zkoušky budou mít přímý význam pro ochranu lidského zdraví, zdraví zvířat nebo životního prostředí.

1.5.3 Limitní zkouška

Limitní zkouška se používá především tehdy, má-li osoba provádějící zkoušku informace svědčící o tom, že zkoušený materiál je pravděpodobně netoxický, tj. je toxický pouze nad rámec stanovených limitních dávek. Informace o toxicitě zkoušeného materiálu lze získat ze znalostí o podobných zkoušených sloučeninách, směsích nebo produktech s ohledem na totožnost a procento složek, o nichž se ví, že jsou toxikologicky významné. V situacích, kdy existuje jen málo informací nebo vůbec žádné informace o toxicitě nebo kdy se očekává, že zkoušený materiál bude toxický, bude provedena hlavní zkouška.

Limitní zkoušku s jednou úrovní dávky 2 000 mg/kg tělesné hmotnosti lze provést na šesti zvířatech (tři zvířata na jeden krok). Výjimečně lze na třech zvířatech provést limitní zkoušku s jednou úrovní dávky 5 000 mg/kg (viz příloha 2). Projeví-li se úmrtnost vyvolaná zkoušenou látkou, budou další zkoušky uskutečněny s nejbližší nižší úrovní dávky.

1.6 POZOROVÁNÍ

Po podání dávky se zvířata pozorují individuálně minimálně jednou během prvních 30 minut, pravidelně během prvních 24 h, přičemž zvláštní pozornost se věnuje prvním 4 h, a poté denně po dobu 14 dnů kromě případů, kdy je nutné zvířata ze studie vyjmout a humánně utratit z důvodu dodržování pravidla dobrého zacházení se zvířaty, nebo je zjištěn jejich úhyn. Doba pozorování by však neměla být stanovena pevně. Bude stanovena podle toxických reakcí, doby jejich nástupu a délky fáze zotavení, a může tedy být podle potřeby prodloužena. Doba, kdy se příznaky toxicity objeví a vymizí, je důležitá zejména v případě tendence ke zpožděným příznakům toxicity (12). Veškerá pozorování se systematicky zaznamenávají, přičemž záznamy se vedou pro každé zvíře jednotlivě.

Další pozorování budou nutná, jestliže zvířata stále vykazují příznaky toxicity. Pozorování zahrnují změny na kůži, na srsti, na očích, na sliznicích, a rovněž změny dýchání, krevního oběhu, změny funkce autonomní a centrální nervové soustavy, somatomotorické aktivity a chování. Pozornost je třeba věnovat třesu, křečím, slinění, průjmu, letargii, spánku a kómatu. Vezmou se v úvahu principy a kritéria shrnuté v textu Humane Endpoints Guidance Document (9). Zvířata ve stavu agónie a zvířata se známkami značných bolestí nebo přetrvávajícími příznaky značného utrpení se humánně utratí. Pokud jsou zvířata z humánních důvodů utracena nebo je zjištěn jejich úhyn, je nutné dobu uhynutí zaznamenat co nejpřesněji.

1.6.1 Tělesná hmotnost

Hmotnost jednotlivých zvířat se stanoví krátce před podáním zkoušené látky a nejméně jednou týdně poté. Vypočítají se změny hmotnosti a zaznamenají se. Na konci zkoušky se zvířata, která přežila, zváží a humánně utratí.

1.6.2 Patologie

Všechna pokusná zvířata (včetně těch, která v průběhu zkoušky uhynula nebo byla utracena z důvodu dodržování pravidla dobrého zacházení se zvířaty) se pitvají. U každého zvířete se zaznamenají všechny makroskopické patologické nálezy. Lze také zvážit mikroskopické vyšetření orgánů, u nichž jsou patrné makroskopické patologie, u zvířat, která přežila 24 nebo více hodin, protože mohou poskytnout užitečné informace.

2. ÚDAJE

Měly by být uvedeny údaje pro každé jednotlivé zvíře. Navíc by měly být všechny údaje shrnuty do tabulky, přičemž se u každé zkušební skupiny uvede počet použitých zvířat, počet zvířat vykazujících příznaky toxicity, počet zvířat uhynulých v průběhu zkoušky nebo utracených z humánních důvodů, doba uhynutí jednotlivých zvířat, popis a časový průběh a vratnost toxických účinků a pitevni nálezy.

3. ZPRÁVY

3.1 PROTOKOL O ZKOUŠCE

Protokol o zkoušce má pokud možno obsahovat následující informace:

Zkoušená látka:

- fyzikální povaha, čistota a tam, kde je to podstatné, fyzikálně-chemické vlastnosti (včetně izomerizace),
- identifikační údaje, včetně čísla CAS.

Vehikulum (je-li použito):

- zdůvodnění výběru vehikula, pokud není použita voda.

Pokusná zvířata:

- použitý druh/kmen,
- mikrobiologický stav zvířat, je-li znám,
- počet, stáří a pohlaví zvířat (případně včetně zdůvodnění použití samců místo samic),
- původ, podmínky chovu, strava atd.

Zkušební podmínky:

- podrobné údaje o složení zkoušené látky, včetně podrobností o fyzikální formě podávaného materiálu,
- podrobné údaje o způsobu podání zkoušené látky, včetně objemu dávek a době podávání,
- podrobné údaje o stravě a kvalitě vody (včetně druhu/zdroje stravy, zdroje vody),
- zdůvodnění výběru výchozí dávky.

Výsledky:

- údaje ve formě tabulky o reakcích každého zvířete a o výši jeho dávky (tj. počet zvířat vykazujících příznaky toxicity, včetně uhynutí, povahy, závažnosti a trvání účinků),
- údaje ve formě tabulky o tělesné hmotnosti a jejich změnách,
- hmotnosti jednotlivých zvířat v den podání dávky, poté v týdenních intervalech a v čase úhynu nebo utracení,
- datum a doba úhynu, pokud předchází plánovanému usmrcení,
- časový průběh nástupu příznaků toxicity u každého zvířete, a zda byly vratné,
- pitevní a histopatologické nálezy pro každé zvíře, pokud jsou k dispozici.

Diskuse a interpretace výsledků.

Závěry.

4 LITERATURA

- (1) Roll R., Höfer-Bosse Th., Kayser D. (1986). New Perspectives in Acute Toxicity Testing of Chemicals. *Toxicol. Lett.*, Suppl. 31, 86
- (2) Roll R., Riebschläger M., Mischke U., Kayser D. (1989). Neue Wege zur Bestimmung der akuten Toxizität von Chemikalien. *Bundesgesundheitsblatt* 32, 336 – 341.
- (3) Diener W., Sichha L., Mischke U., Kayser D., Schlede E. (1994). The Biometric Evaluation of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). *Arch. Toxicol.*, 68, 559 – 610
- (4) Diener W., Mischke U., Kayser D. Schlede E. (1995). The Biometric Evaluation of the OECD Modified Version of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). *Arch. Toxicol.*, 69, 729 – 734.
- (5) Diener W., Schlede E. (1999). Acute Toxicity Class Methods: Alterations to LD/LC₅₀ Tests. *ALTEX* 16, 129 – 134.
- (6) Schlede E., Mischke U., Roll R. Kayser D. (1992). A National Validation Study of the Acute-Toxic- Class Method – An Alternative to the LD₅₀ Test. *Arch. Toxicol.* 66, 455 – 470.
- (7) Schlede E., Mischke U., Diener W., Kayser D. (1994). The International Validation Study of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). *Arch. Toxicol.* 69, 659 – 670.
- (8) OECD (2001) Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment N. 24. Paris.
- (9) OECD (2000) Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment N 19.
- (10) OECD (1998) Harmonized Integrated Hazard Classification System For Human Health And Environmental Effects Of Chemical Substances as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals in November 1998, Part 2, s. 11 [<http://webnet1.oecd.org/oecd/pages/home/displaygeneral/0,3380,EN-documents-521-14-no-24-no-0,FF.html>].

-
- (11) Lipnick R L, Cotruvo, J A, Hill R N, Bruce R D, Stitzel K A, Walker A P, Chu I; Goddard M, Segal L, Springer J A, Myers R., C. (1995). Comparison of the Up-and Down, Conventional LD₅₀, and Fixed Dose Acute Toxicity Procedures. *Fd. Chem. Toxicol.* 33, 223 – 231.
- (12) Chan P.K., A.W. Hayes (1994). Chap. 16. Acute Toxicity and Eye Irritancy. Principles and Methods of Toxicology. Third Edition. A.W. Hayes, Editor. Raven Press, Ltd., New York, USA.“

PŘÍLOHA 1**POSTUP, KTERÝ MÁ BÝT U KAŽDÉ Z VÝCHOZÍCH DÁVEK DODRŽEN***OBECNÉ POZNÁMKY*

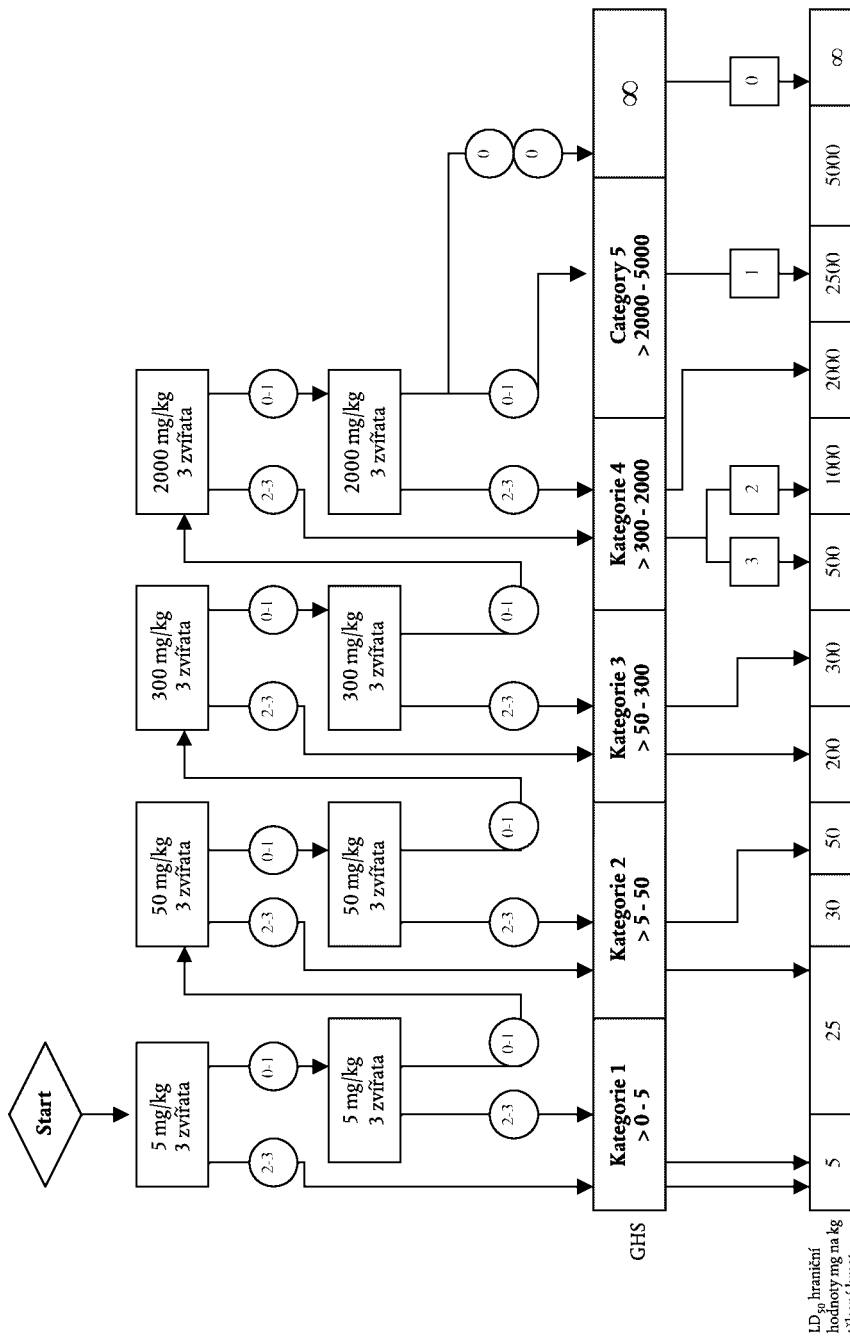
Systém zkoušení u každé výchozí dávky obsažený v této příloze nastiňuje postup, který je třeba sledovat.

- Příloha 1 a: výchozí dávka je 5 mg na kg tělesné hmotnosti
- Příloha 1 b: výchozí dávka je 50 mg na kg tělesné hmotnosti
- Příloha 1 c: výchozí dávka je: 300 mg kg tělesné hmotnosti
- Příloha 1 d: výchozí dávka je: 2 000 mg kg tělesné hmotnosti

Postup zkoušení se řídí naznačenými šipkami v závislosti na počtu humánně utracených nebo uhynulých zvířat.

PŘÍLOHA 1A

POSTUP ZKOUŠENÍ S VÝCHOZÍ DÁVKOU 5 mg/kg TĚLESNÉ HMOTNOSTI

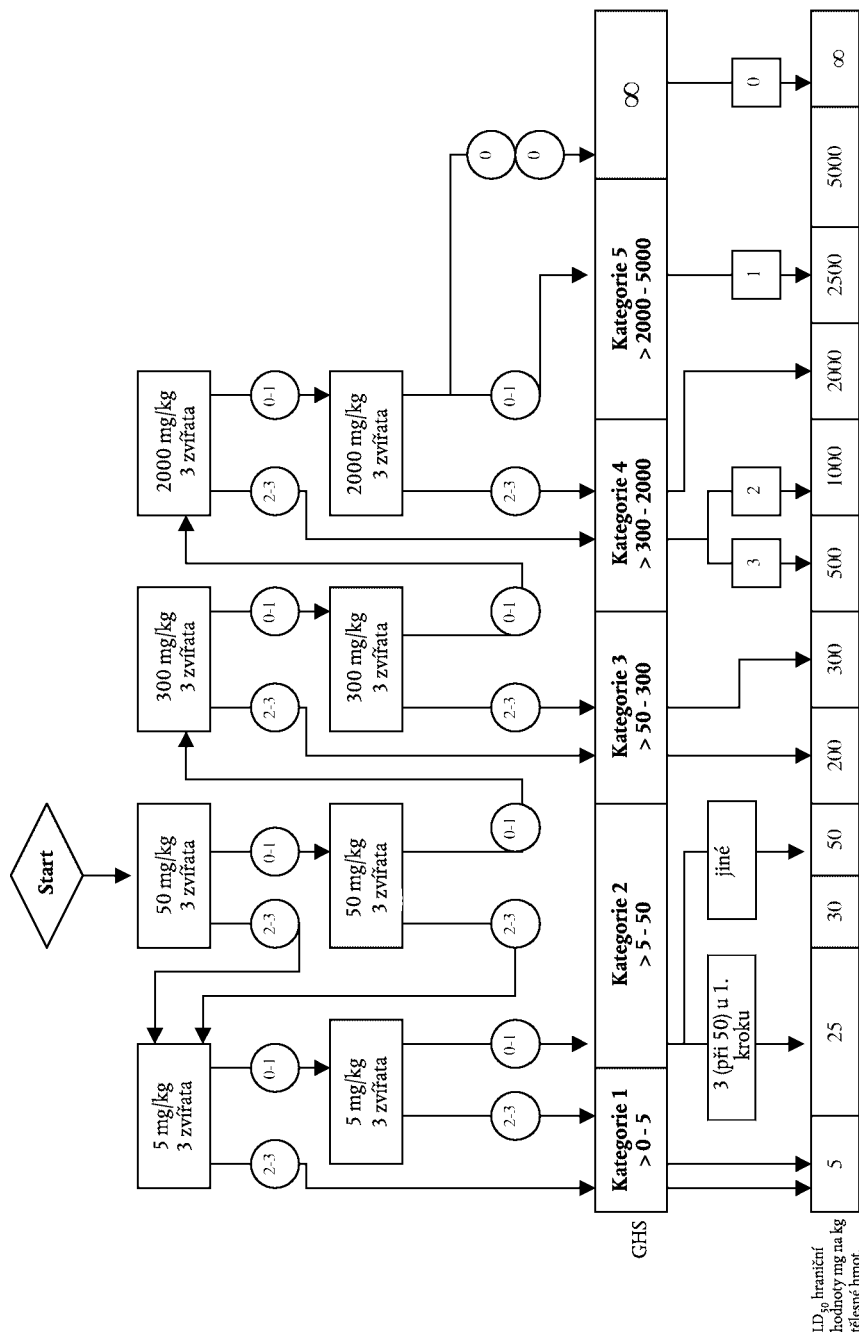


- u každého kroku se použijí 3 zvířata stejného pohlaví (obvykle samice)
 - 0, 1, 2, 3: počet zvířat v agónii nebo uhybnulých zvířat u každého kroku
 - GHS: Globálně harmonizovaný systém klasifikace (mg na kg tělesné hmot.)

- ∞ : neklasifikováno
 - zkoušení s 5 000 mg na kg tělesné hmot. viz příloha 2

PŘÍLOHA 1B

POSTUP ZKOUŠENÍ S VÝCHOZÍ DÁVKOU 50 mg/kg TĚLESNÉ HMOTNOSTI



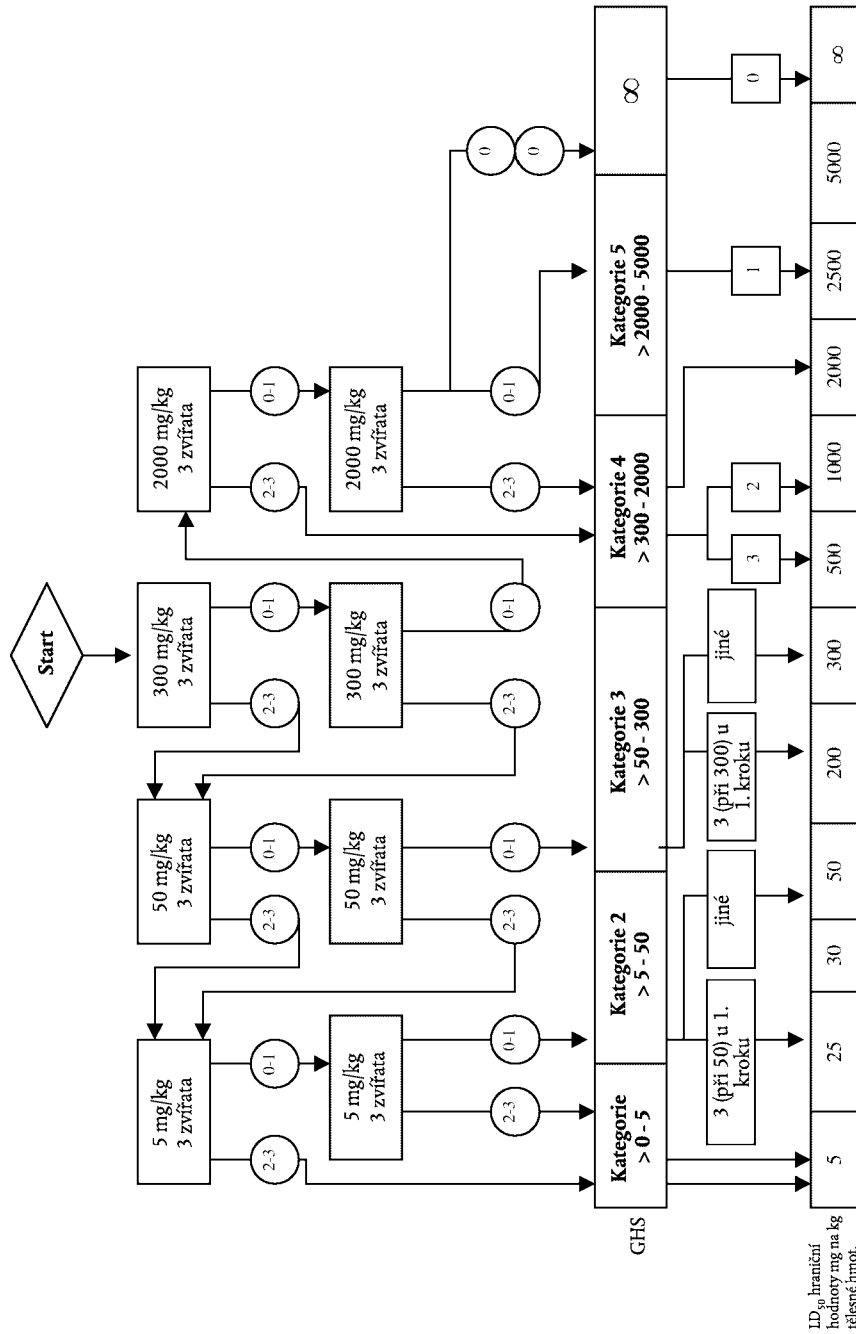
ID₅₀ hraníční
Hodnoty mg na kg
tělesné hmot.

- u každého kroku se použijí 3 zvířata stejného pohlaví (obvykle samice)
 - 0, 1, 2, 3: počet zvířat v agonii nebo uhybnulých zvířat u každého kroku
 - GHS: Globálně harmonizovaný systém klasifikace (mg na kg tělesné hmot.)

- ∞ : neklasifikováno
 - zkoušení s 5 000 mg na kg tělesné hmot. viz příloha 2

PŘÍLOHA 1C

POSTUP ZKOUŠENÍ S VÝCHOZÍ DÁVKOU 300 mg/kg TĚLESNÉ HMOTNOSTI

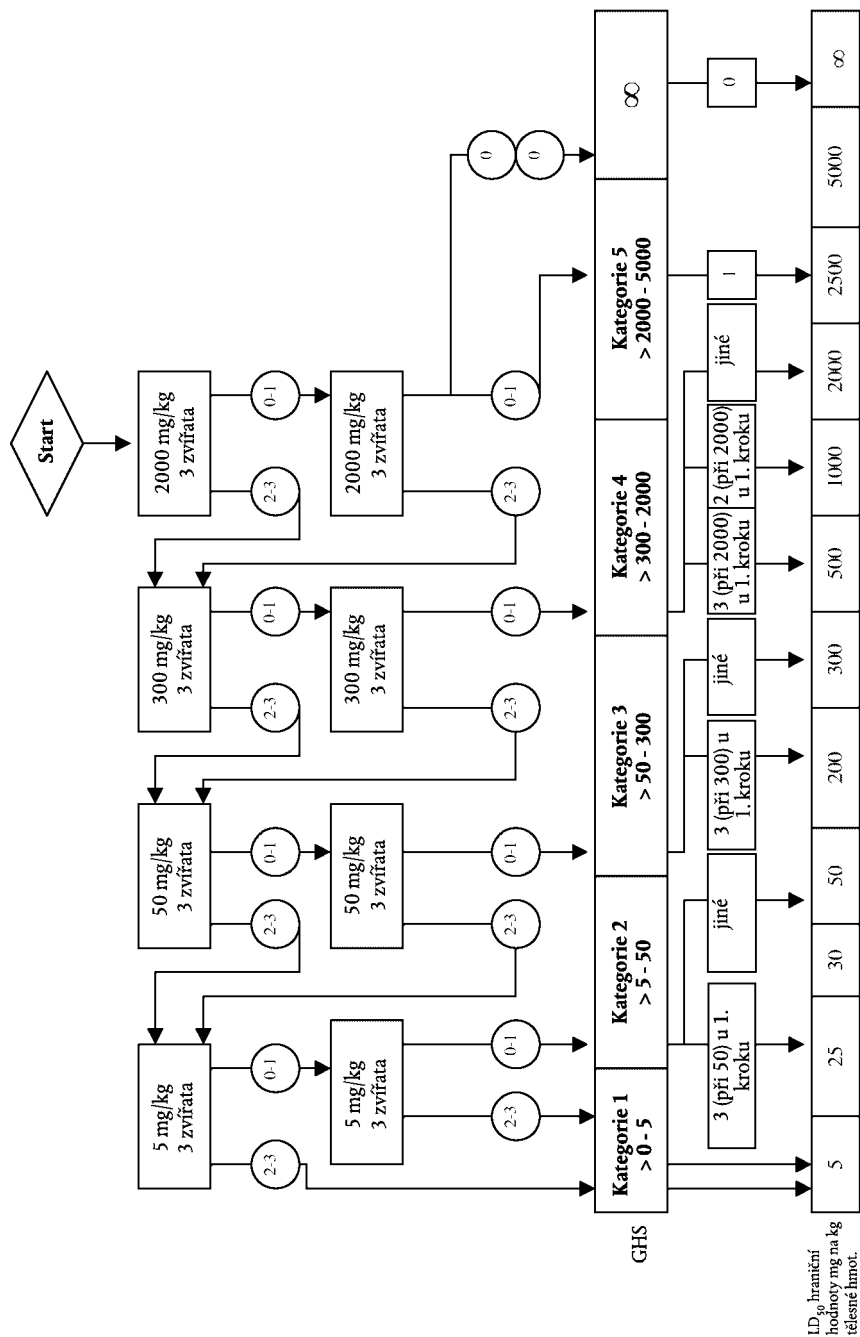


- 3 (při 300) u 1. kroku
 - u každého kroku se použijí 3 zvířata stejného pohlaví (obvykle samice)
 - 0, 1, 2, 3: počet zvířat v agónii nebo uhybnulých u každého kroku

- GHS: Globálně harmonizovaný systém klasifikace (mg na kg tělesné hmot.)
 - ∞ : neklasifikováno

PŘÍLOHA 1D

POSTUP ZKOUŠENÍ S VÝCHOZÍ DÁVKOU 2 000 mg/kg TĚLESNÉ HMOTNOSTI



- ∞ : neklasifikováno
 - zkoušení s 5 000 mg na kg tělesné hmot. viz příloha 2

- u každého kroku se použijí 3 zvířata stejného pohlaví (obvykle samice)
 - 0, 1, 2, 3: počet zvířat v agónii nebo utnulých zvířat u každého kroku
 - GHS: Globálně harmonizovaný systém klasifikace (mg na kg tělesné hmot.)

PŘÍLOHA 2**KRITÉRIA KLASIFIKACE ZKOUŠENÝCH LÁTEK S OČEKÁVANÝMI HODNOTAMI LD₅₀
PŘESAHUJÍCÍMI 2 000 mg/kg BEZ NUTNOSTI ZKOUŠENÍ**

Kritéria pro kategorii nebezpečnosti 5 mají umožnit identifikaci zkoušených látek, u nichž je nebezpečí akutní toxicity relativně nízké, avšak které mohou za určitých okolností pro citlivé jedince představovat nebezpečí. U těchto látek se předpokládá, že se jejich orální nebo dermální LD₅₀ nebo LD₅₀ ekvivalentních dávek podávaných jinými cestami pohybuje v rozmezí od 2 000 do 5 000 mg/kg. Zkoušenou látku lze klasifikovat v kategorii nebezpečnosti definované jako 2 000 mg/kg < LD₅₀ < 5 000 mg/kg v těchto případech (v GHS kategorie 5):

- a) pokud je do této kategorie zařazena podle některého ze systémů zkoušení uvedeného v příloze 1a-1d, v závislosti na výskytech uhynutí;
- b) pokud jsou již k dispozici spolehlivé důkazy naznačující, že LD₅₀ se pohybuje v rozmezí hodnot kategorie 5, nebo pokud z jiných studií na zvířatech nebo toxických účinků na člověka vyplývají akutní obavy o lidské zdraví;
- c) pokud extrapolací, odhadem nebo měřením údajů není přiřazení do vyšší třídy nebezpečnosti odůvodněno a
 - pokud jsou k dispozici spolehlivé informace naznačující závažné toxické účinky na člověka, nebo
 - pokud je během zkoušení orální cestou do hodnot kategorie 4 pozorováno uhynutí nebo
 - v případech, kdy odborný posudek potvrdí závažné klinické příznaky toxicity při testování do hodnot kategorie 4 s výjimkou průjmu, zjevení srsti nebo rozčuchané srsti nebo
 - v případech, kdy odborný posudek potvrdí spolehlivé informace, které naznačují možnost závažných akutních účinků vyplývajících z jiných studií na zvířatech.

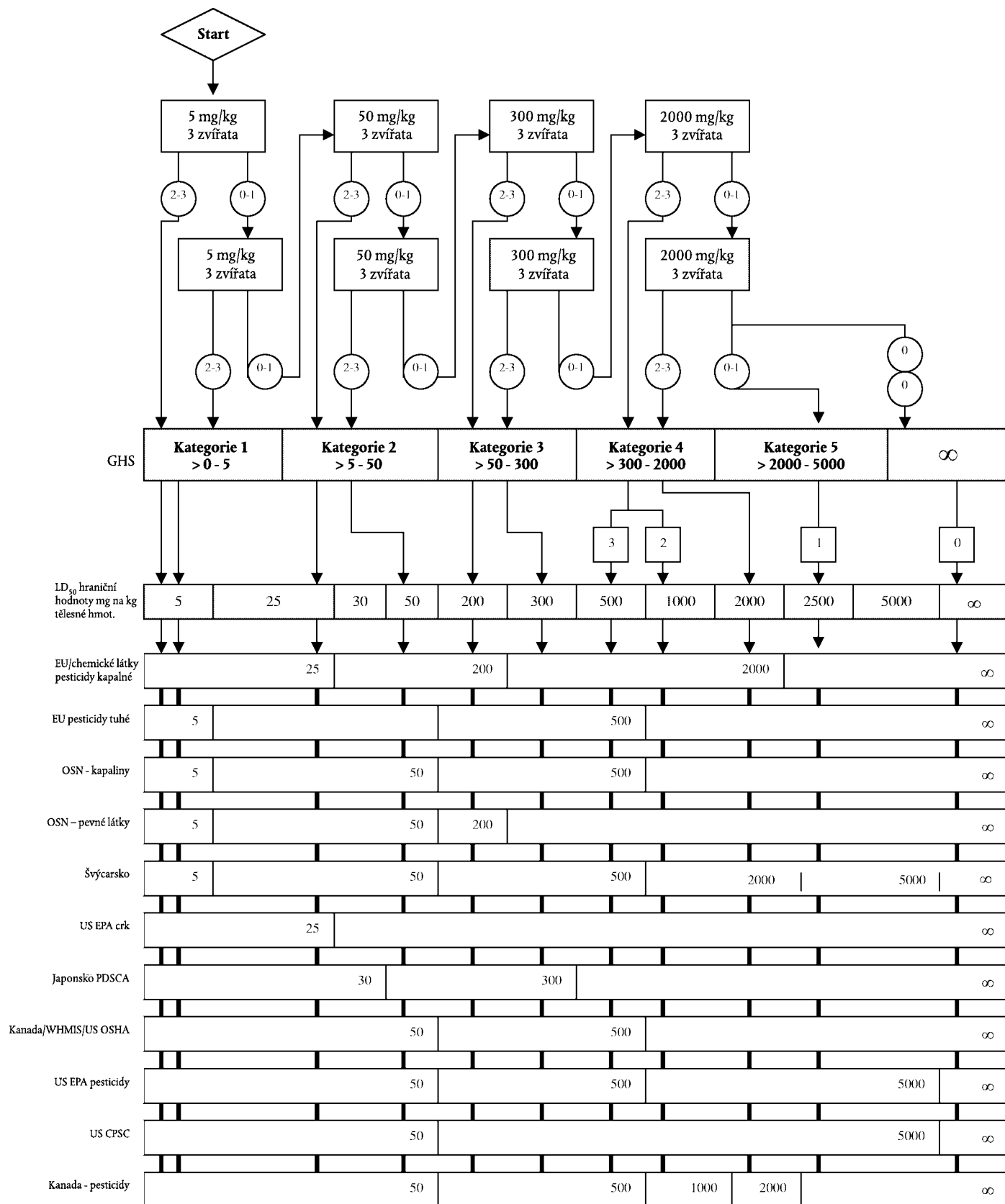
ZKOUŠENÍ V DÁVKÁCH PŘESAHUJÍCÍCH 2 000 mg/kg

S ohledem na nutnost dodržování zásady dobrého zacházení se zvířaty se zkoušení na zvířatech v kategorii 5 (5 000 mg/kg) nedoporučuje a mělo by se zvažovat pouze v případě, že existuje velká pravděpodobnost, že výsledky takové zkoušky mají přímý význam pro ochranu lidského zdraví nebo zdraví zvířat (10). S vyššími úrovněmi dávek se žádné další zkoušky neprovedou.

Pokud je vyžadováno zkoušení s dávkou 5 000 mg/kg, vyžaduje se pouze jeden krok (tj. tři zvířata). Pokud první zvíře, jemuž byla podána dávka, uhynie, pokračuje podávání s úrovní 2 000 mg/kg podle vývojového diagramu v příloze 1. Pokud první zvíře přežije, podá se dávka dalším dvěma zvířatům. Pokud uhynie pouze jedno zvíře ze tří, očekává se, že hodnota LD₅₀ přesáhne 5 000 mg/kg. Pokud uhynou obě zvířata, pokračuje se podáním dávky 2 000 mg/kg.

PŘÍLOHA 3

METODA ZKOUŠENÍ B.1 tris: Pokyny ke klasifikaci podle systému EU pro přechodné období do plného zavedení globálně harmonizovaného systému klasifikace (GHS) (převzato z literatury (8))

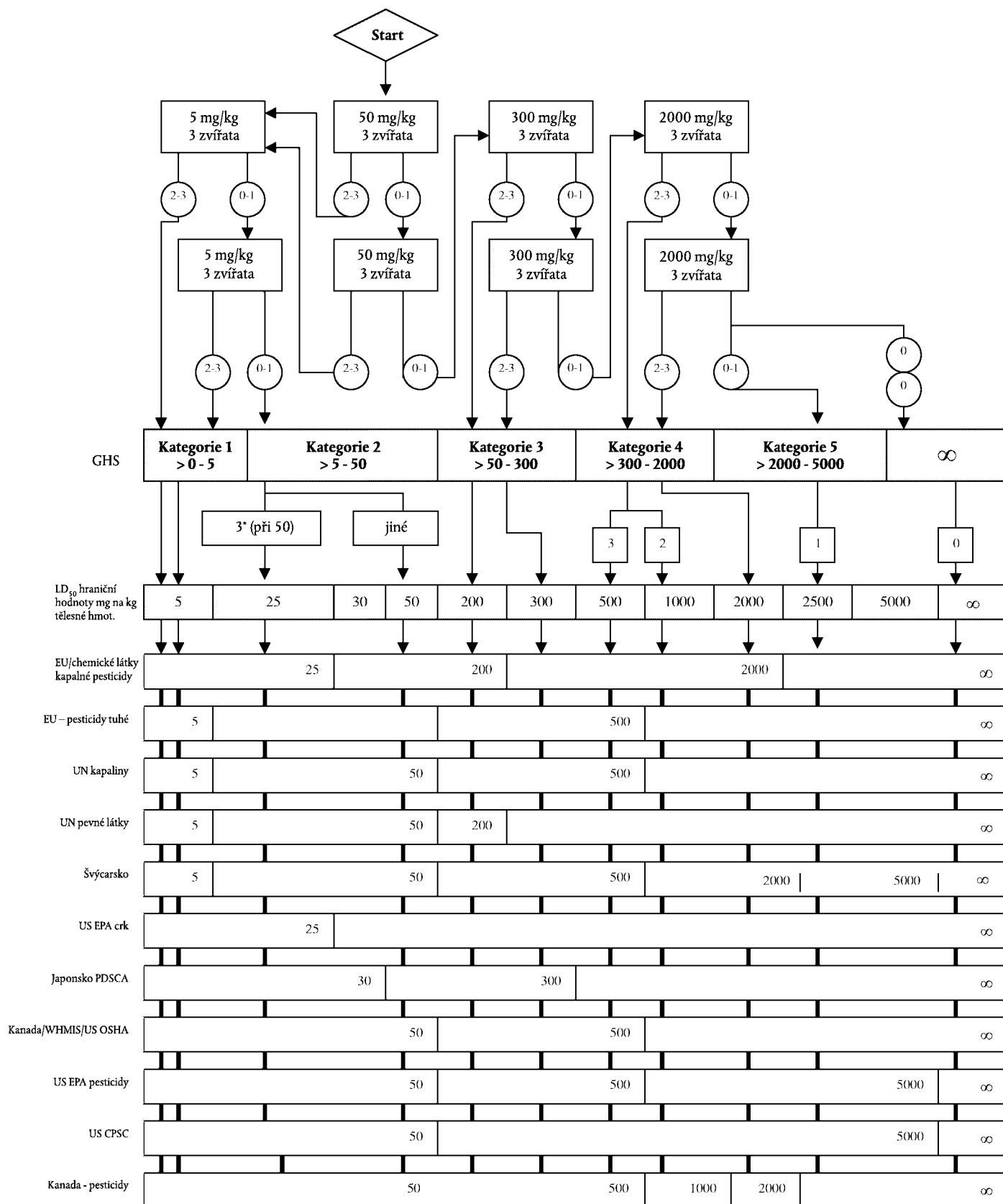


- u každého kroku se použijí 3 zvířata stejného pohlaví (obvykle samice)
 - 0, 1, 2, 3: počet zvířat v agónii nebo uhynulých u každého kroku

- ∞: neklasifikováno
 - GHS: Globálně harmonizovaný systém klasifikace (mg na kg tělesné hmot.)

PŘÍLOHA 3 (pokračování 1)

METODA ZKOUŠENÍ B.1 tris: Pokyny ke klasifikaci podle systému EU pro přechodné období do plného zavedení globálně harmonizovaného systému klasifikace (GHS) (převzato z literatury (8))

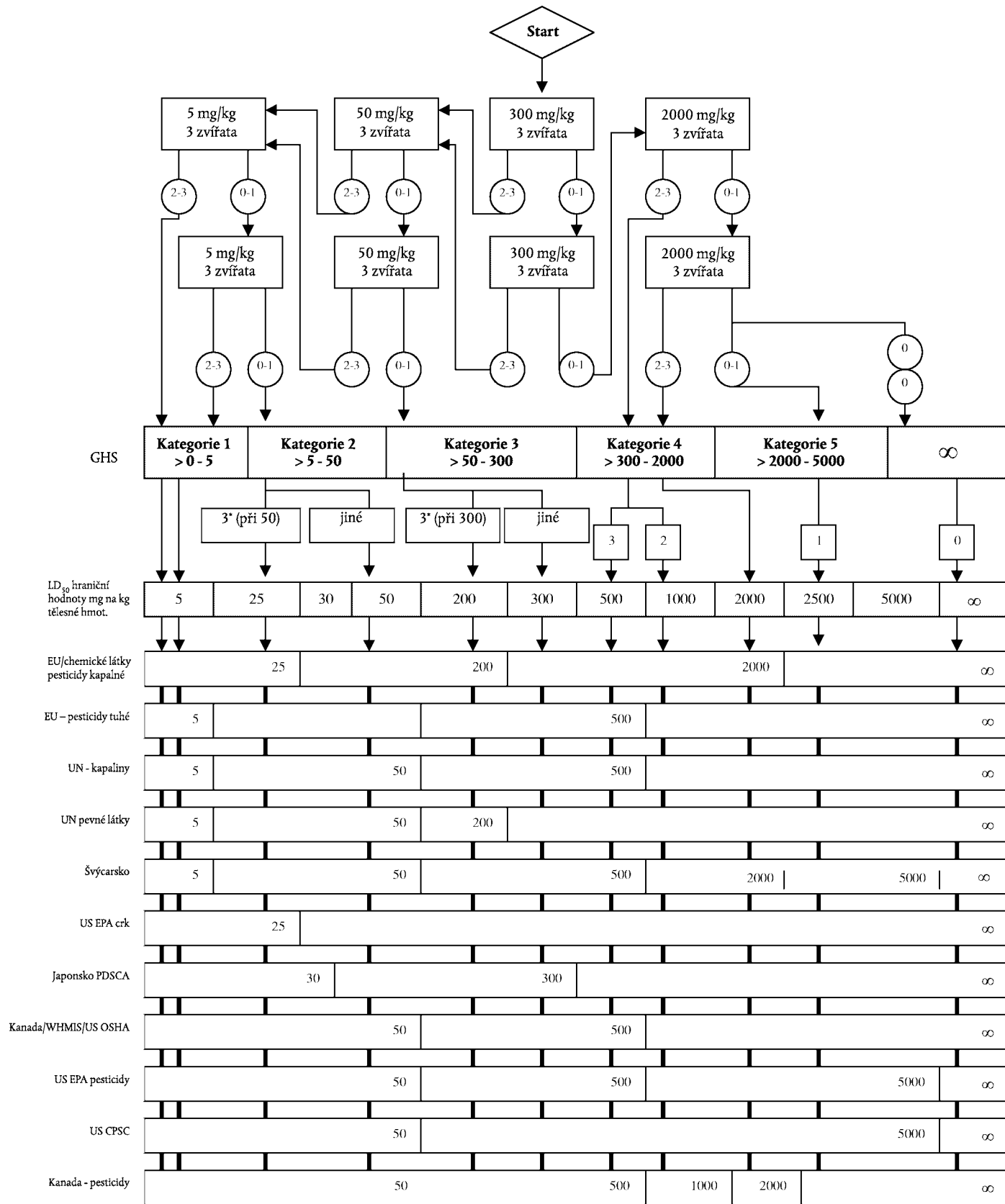


- u každého kroku se použijí 3 zvířata stejného pohlaví (obvykle samice)
- 0, 1, 2, 3: počet zvířat v agónii nebo uhynulých u každého kroku

- ∞ : neklasifikováno
- *: u prvního kroku
- GHS: Globálně harmonizovaný systém klasifikace (mg na kg tělesné hmot.)

PŘÍLOHA 3 (pokračování 2)

METODA ZKOUŠENÍ B.1 tris: Pokyny ke klasifikaci podle systému EU pro přechodné období do plného zavedení globálně harmonizovaného systému klasifikace (GHS) (převzato z literatury (8))

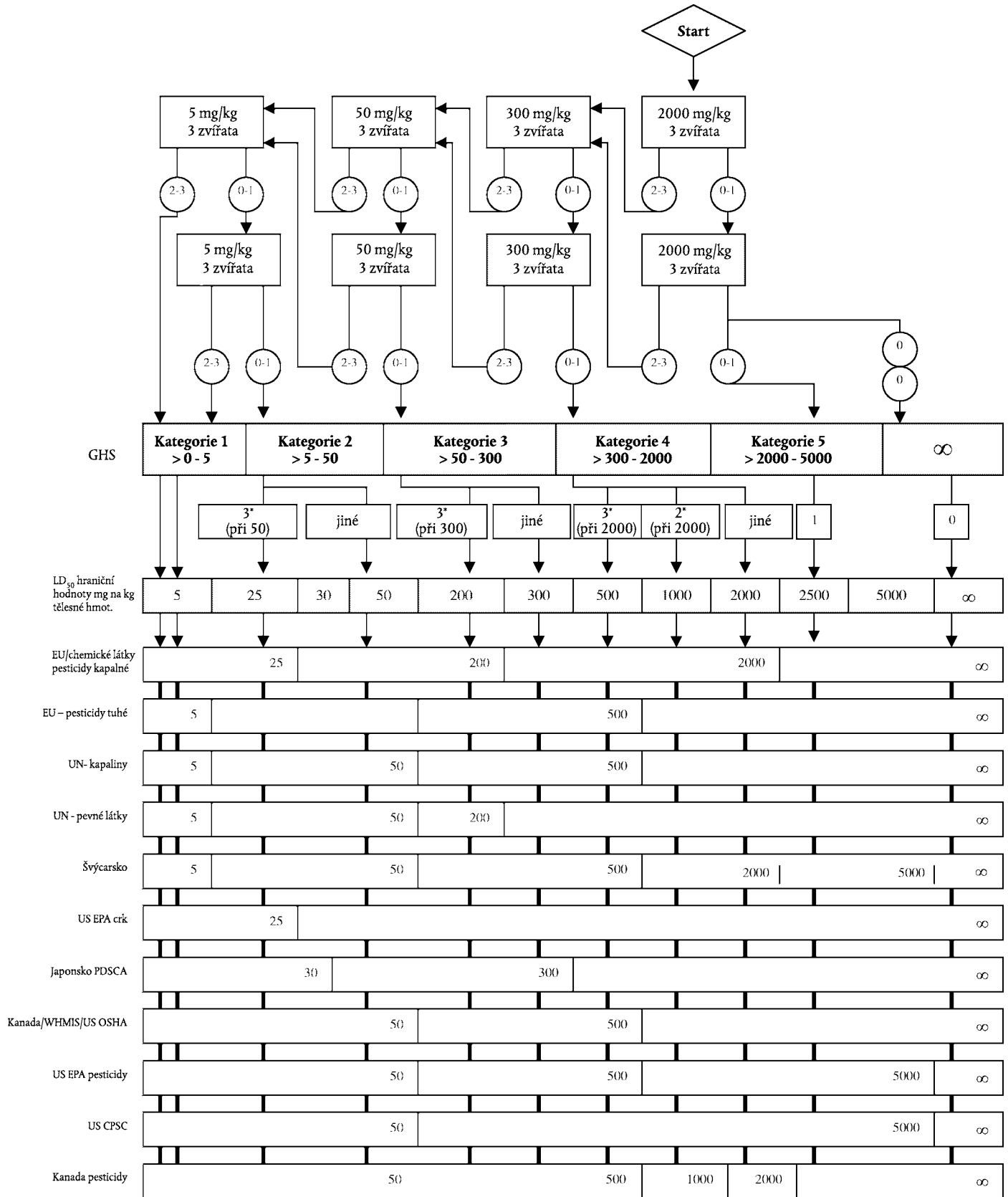


- u každého kroku se použijí 3 zvířata jednoho pohlaví (obvykle samice)
 - 0, 1, 2, 3: počet zvířat v agónii nebo uhynulých zvířat u každého kroku

- ∞: neklasifikováno
 - *: u prvního kroku
 - GHS: Globálně harmonizovaný systém klasifikace (mg na kg těl. hmot.)

PŘÍLOHA 3 (pokračování 3)

METODA ZKOUŠENÍ B.1 tris: Pokyny ke klasifikaci podle systému EU pro přechodné období do plného zavedení globálně harmonizovaného systému klasifikace (GHS) (převzato z literatury (8))



- u každého kroku se použijí 3 zvířata jednoho pohlaví (obvykle samice)
 - 0, 1, 2, 3: počet zvířat v agónii nebo uhynulých zvířat u každého kroku

- ∞: neklasifikováno
 - *: u prvního kroku
 - GHS: Globálně harmonizovaný systém klasifikace (mg na kg těl. hmot.)

PŘÍLOHA 2D

B.4. AKUTNÍ TOXICITA: DRÁŽDIVÉ A LEPTAVÉ ÚČINKY NA KŮŽI

1. METODA

Tato metoda rovnocenná metodě OECD TG 404 (2002).

1.1 ÚVOD

Při přípravě této modernizované metody byla zvláštní pozornost věnována možným zlepšením v oblasti dobrého zacházení se zvířaty a vyhodnocování veškerých existujících informací o zkoušené látce s cílem vyhnout se zkouškám na laboratorních zvířatech, které nejsou nutné. Součástí této metody je doporučení, aby byla před provedením popsané zkoušky dráždivých a leptavých účinků látky na kůži *in vivo* vypracována analýza průkaznosti stávajících relevantních údajů. Pokud jsou k dispozici nedostatečné údaje, lze je s využitím metody postupného zkoušení rozpracovat (1). Strategie zkoušení zahrnuje provedení validovaných a uznaných zkoušek *in vitro* a je popsána v příloze k této metodě. Navíc se v případě potřeby v počáteční zkoušce *in vivo* doporučuje namísto současného aplikování postupná aplikace tří testovacích náplastí.

V zájmu spolehlivého vědeckého přístupu a dobrého zacházení se zvířaty by se zkoušky *in vivo* neměly provádět, dokud nebyly všechny dostupné údaje, významné pro potenciální leptavé nebo dráždivé účinky látky, vyhodnoceny na základě analýzy průkaznosti výsledků. Takové údaje budou zahrnovat důkazy ze stávajících studií na lidech a/nebo laboratorních zvířatech, důkazy leptavých nebo dráždivých účinků jedné nebo více strukturně příbuzných látek nebo směsí takových látek, údaje dokládající silnou kyselost nebo zásaditost látky (2, 3) a výsledky validovaných a uznaných zkoušek *in vitro* nebo *ex vivo* (4, 5, 5a). Tato analýza by měla snížit potřebu zkoušek leptavých nebo dráždivých účinků na kůži metodou *in vivo* u látek, u nichž již existují důkazy z jiných studií, pokud jde o tyto dva ukazatele.

V příloze k této metodě je uvedena upřednostňovaná strategie postupného zkoušení, jejíž součástí je provedení validovaných a uznaných zkoušek leptavých/dráždivých účinků *in vitro* nebo *ex vivo*. Tato strategie byla vypracována na semináři OECD (6), jeho účastníky jednohlasně doporučena a přijata jako doporučená strategie zkoušení v globálně harmonizovaném systému klasifikace chemických látek (GHS) (7). Doporučuje se, aby se podle této strategie zkoušení postupovalo před prováděním zkoušek *in vivo*. U nových látek se doporučuje metoda zkoušení po krocích, díky které lze dosáhnout vědecky spolehlivých údajů o leptavých/dráždivých účincích látky. U existujících látek, o jejichž leptavých/dráždivých účincích na kůži není k dispozici dostatek údajů, by se měla tato strategie využít pro doplnění chybějících informací. Použití jiné strategie nebo postupu zkoušení nebo rozhodnutí nepoužít metodu po krocích musí být odůvodněno.

Pokud pomocí analýzy průkaznosti výsledků nelze o leptavých nebo dráždivých účincích rozhodnout, měla by se v souladu se strategií postupného zkoušení uvážit zkouška *in vivo* (viz příloha).

1.2 DEFINICE

Dráždivé účinky na kůži: vyvolání vratných změn na kůži do 4 h po aplikaci zkoušené látky.

Leptavé účinky na kůži: vyvolání nevratného poškození kůže, zejména viditelné, do koria zasahující nekrózy pokožky, do čtyř hodin po aplikaci zkoušené látky. Reakce po poleptání se projevují vředy, krvácením, krvavými strupy a v závěru čtrnáctidenního pozorování ztrátou barvy v důsledku vyblednutí kůže, úplnými ložisky alopecie a jizvami. K vyhodnocení sporných lézí by se měla uvážit histopatologie.

1.3 PODSTATA ZKOUŠEBNÍ METODY

Látka, která má být zkoušena, se v jedné dávce nanese na kůži pokusného zvířete, přičemž oblasti neexponované kůže pokusného zvířete slouží jako kontrola. Ve stanovených intervalech se určí, vyhodnotí a následně popíše stupeň dráždivých/leptavých účinků, aby bylo možno provést úplné posouzení účinků. Doba studie by měla být dostatečně dlouhá, aby bylo možné zhodnotit vratnost nebo nevratnost pozorovaných účinků.

Zvířata, která v jakékoli fázi zkoušky vykazují přetrvávající příznaky značného utrpení a/nebo bolesti, se humánně utratí a látka se odpovídajícím způsobem vyhodnotí. Kritéria pro rozhodování o utracení umírajících a značně trpících zvířat lze nalézt v literatuře (8).

1.4 POPIS ZKOUŠEBNÍ METODY

1.4.1 Příprava na zkoušku *in vivo*

1.4.1.1 Výběr druhu zvířat

Upřednostňovaným laboratorním zvířetem je albín králíka, používají se mladá dospělá zvířata. Při použití jiného druhu by mělo být zdůvodněno.

1.4.1.2 Příprava zvířat

Asi 24 h před zahájením zkoušky se zvířatům ostříhá srst na zádech. Je třeba dbát na to, aby se kůže neporanila. Smějí se použít pouze zvířata se zdravou, neporaněnou kůží.

Některé kmeny králíka mají plošky husté srsti, které jsou v některých obdobích roku výraznější. Na takových oblastech husté srsti by se zkouška provádět neměla.

1.4.1.3 Podmínky chovu a krmení

Zvířata by měla být chována samostatně. Teplota v místnosti pro pokusná zvířata by měla u králíků být 20 °C (± 3 °C), relativní vlhkost by měla činit minimálně 30 % a pokud možno nepřesáhnout 70 % kromě doby úklidu místnosti, cílem by měla být hodnota 50 – 60 %. Osvětlení bude umělé se střídáním 12 h světla a 12 h tmy. Ke krmení lze použít konvenční laboratorní stravu s neomezenou dodávkou pitné vody.

1.4.2 Postup zkoušky

1.4.2.1 Aplikace zkoušené látky

Zkoušená látka se nanese na malou plochu kůže (asi 6 cm²) a pokryje se plátkem mulu s nedráždivou náplastí. V případech, kdy přímá aplikace není možná (např. kapaliny nebo některé pasty), by se měla zkoušená látka nejprve nanést na plátek mulu, který se následně přiloží na kůži. Po dobu trvání expozice je třeba přidržovat plátek volně na kůži vhodným semiokluzivním obvazem. Pokud se zkoušená látka nanáší na mul, měl by být na kůži připevněn tak, aby se zajistil dobrý kontakt s kůží a rovnoměrné rozložení látky na kůži. Je třeba zabránit tomu, aby se zvíře dostalo k mulu a zkoušenou látku požílo nebo vdechlo.

Zkoušené kapaliny se zpravidla aplikují neředěné. Při zkouškách pevných látek (které mohou být případně rozetřeny na prach) se zkoušená látka navlhčí co nejmenším množstvím vody (v případě potřeby jiným vhodným vehikulem), aby se zajistil dostatečný kontakt s kůží. Pokud se používají jiná vehikula než voda, měl by být potenciální vliv vehikula na dráždivé účinky zkoušené látky na kůži pouze minimální.

Po uplynutí doby expozice, která je obvykle 4 h, se odstraní zbytky zkoušené látky, pokud možno vodou nebo vhodným rozpouštědlem, aniž by došlo k ovlivnění odezvy nebo celistvosti kůže.

1.4.2.2 Úroveň dávek

Na testovací místo se nanese 0,5 ml kapaliny nebo 0,5 g pevné látky nebo pasty.

1.4.2.3 Počáteční zkouška (zkouška dráždivých/leptavých účinků na kůži *in vivo* s použitím jednoho zvířete)

Důrazně se doporučuje, aby byla zkouška *in vivo* provedena nejprve na jednom zvířeti, zejména pokud existuje podezření, že látka má potenciální leptavé účinky. Tento postup je v souladu se strategií postupného zkoušení (viz příloha 1).

Pokud byla na základě analýzy průkaznosti výsledků látka posouzena jako leptavá, není žádné další zkoušení na zvířatech nutné. U většiny látek, u nichž je podezření, že jsou leptavé, nejsou obvykle další zkoušky *in vivo* nutné. Avšak v těch případech, kdy je kvůli nedostatku důkazů považováno za nezbytné zjistit další údaje, mohou být v omezené míře provedeny zkoušky na zvířatech podle tohoto postupu: zvířeti se postupně přiloží nejvýše tři testovací náplasti. První náplast se odstraní po třech minutách. Pokud není pozorována závažná kožní reakce, odstraní se druhá náplast po jedné hodině. Pokud pozorování v této fázi naznačují, že expozici lze bez porušení zásady humánního zacházení prodloužit na čtyři hodiny, přiloží se třetí náplast, která se po čtyřech hodinách odstraní, a vyhodnotí se odezva.

Pokud je po některé ze tří následných expozic pozorován leptavý účinek, zkouška se okamžitě ukončí. Pokud po odstranění třetí náplasti není leptavý účinek pozorován, zvíře se pozoruje po dobu 14 dnů, pokud se u něj poleptání kůže neprojeví dříve.

V takových případech, kdy se u zkoušené látky nepředpokládá, že vyvolá leptavé účinky, ale může být dráždivá, by se měla jednomu zvířeti přiložit jedna náplast na čtyři hodiny.

1.4.2.4 Potvrzující zkouška (zkouška dráždivých účinků na kůži *in vivo* s dalšími zvířaty)

Pokud během počáteční zkoušky není pozorován leptavý účinek, měla by se dráždivá nebo negativní reakce potvrdit na dvou dalších zvířatech, u každého s jednou náplastí a dobou expozice 4 h. Pokud je během počáteční zkoušky pozorován dráždivý účinek, lze potvrzující zkoušku provést postupně, nebo exponováním dvou dalších zvířat současně. Ve výjimečném případě, kdy se počáteční zkouška neprovádí, lze dvěma nebo třem zvířatům přiložit jednu náplast, která se po čtyřech hodinách odstraní. Jestliže se použijí dvě zvířata a u obou se projeví stejná reakce, není žádné další zkoušení nutné. Jinak se zkouší také třetí zvíře. Sporné reakce je možné zhodnotit na dalších zvířatech.

1.4.2.5 Doba pozorování

Doba pozorování by měla být dostatečně dlouhá, aby bylo možné plně zhodnotit vratnost pozorovaných účinků. Zkouška by však měla být ukončena kdykoliv v okamžiku, kdy zvíře vykazuje přetrvávající příznaky značné bolesti nebo utrpení. Za účelem určení vratnosti účinků by se zvířata měla pozorovat 14 dnů po odstranění náplasti. Pokud je vratnost pozorována před uplynutím 14 dnů, zkouška se v tomto okamžiku ukončí.

1.4.2.6 *Klinická pozorování a hodnocení reakcí kůže*

Všechna zvířata se pozorují na příznaky erytému a edému, reakce kůže se hodnotí po 60 min a dále po 24, 48 a 72 h po odstranění náplasti. V počáteční zkoušce na jednom zvířeti se po odstranění náplasti okamžitě vyšetří také testované místo. Kožní reakce se vyhodnotí a zaznamenají podle stupnice v níže uvedené tabulce. Pokud se objeví poškození kůže, které po 72 h nelze označit za dráždivé nebo leptavé účinky, může být nezbytné pozorování až do 14. dne kvůli stanovení vratnosti účinků. Vedle pozorování dráždivých účinků by měly být důkladně popsány a zaznamenány veškeré místní toxické účinky, jako je odtučnění kůže a jakékoli systémové nežádoucí účinky (např. vliv na klinické příznaky toxicity a tělesnou hmotnost). K objasnění sporných reakcí se zváží histopatologické vyšetření.

Hodnocení reakcí kůže je nevyhnutelně subjektivní. S cílem podporovat harmonizaci hodnocení reakcí kůže a napomáhat zkušebním laboratořím a těm, kdo provádějí a interpretují pozorování, musí být zaměstnanci provádějící pozorování odpovídajícím způsobem kvalifikováni pro práci s používaným systémem vyhodnocování (viz níže uvedená tabulka). Jako pomůcku lze použít ilustrované pokyny pro hodnocení dráždivých účinků na kůži a jiných lézí (9).

2. ÚDAJE

2.1 PŘEDKLÁDÁNÍ VÝSLEDKŮ

Výsledky studie se shrnou do tabulky uvedené v závěrečném protokolu o zkoušce. Měly by zpracovávat všechny položky uvedené v části 3.1.

2.2 HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

Stupně dráždivých účinků na kůži se zhodnotí ve spojení s povahou a závažností lézí a jejich vratností nebo nevratností. Jednotlivé stupně nepředstavují absolutní měřítko dráždivých vlastností látky, neboť se hodnotí také jiné účinky zkoušené látky. Jednotlivé stupně by spíše měly být považovány za referenční hodnoty, které je nutno zhodnotit společně s dalšími pozorováními vyplývajícími ze studie.

Při hodnocení dráždivých reakcí se zohlední vratnost kožních lézí. Pokud do ukončení čtrnáctidenní doby pozorování přetrvávají reakce jako alopecie (na omezené ploše), hyperkeratóza, hyperplazie a šupinatění, považuje se zkoušená látka za dráždivou.

3. ZPRÁVY

3.1 PROTOKOL O ZKOUŠCE

Protokol o zkoušce musí obsahovat tyto informace:

Zdůvodnění zkoušení *in vivo*: analýza průkaznosti výsledků předchozích pokusů, včetně výsledků strategie postupného zkoušení:

- popis relevantních údajů z předchozích zkoušek,
- údaje získané v každé fázi strategie zkoušení,
- popis provedených zkoušek *in vitro*, včetně podrobných údajů o postupech a o výsledcích získaných se zkoušenými/referenčními látkami,
- analýza průkaznosti výsledků odůvodňující provedení studie *in vivo*.

Zkoušená látka:

- identifikační údaje (např. číslo CAS, zdroj, čistota, známé nečistoty, šarže),
- fyzikální povaha a fyzikálně-chemické vlastnosti (např. pH, těkavost, rozpustnost, stabilita),
- pokud jde o směs, její složení a relativní podíl složek vyjádřený v procentech.

Vehikulum:

- identifikace, koncentrace (podle potřeby), použitý objem,
- zdůvodnění výběru vehikula.

Pokusná zvířata:

- použitý druh/kmen, zdůvodnění použití jiných zvířat, není-li použit albín králík,
- počet zvířat každého pohlaví,
- hmotnosti jednotlivých zvířat na začátku a v závěru zkoušky,
- stáří na začátku studie,
- původ zvířat, podmínky chovu, strava atd.

Zkušební podmínky:

- technika přípravy oblasti kůže, na kterou se nanese náplast,
- podrobné údaje o materiálech použitých na náplasti a technice aplikování náplastí,
- podrobné údaje o přípravě zkoušené látky, jejím nanesení a odstranění.

Výsledky:

- údaje o stupni odezvy na dráždivé nebo leptavé účinky u každého zvířete v každém okamžiku měření,
- popis všech pozorovaných lézí,
- podrobný popis povahy a stupně pozorovaných dráždivých nebo leptavých účinků a případné histopatologické nálezy,
- popis jiných místních (např. odtučnění kůže) a systémových účinků vedle dráždivých nebo leptavých účinků na kůži.

Rozbor výsledků.

4. LITERATURA

- (1) Barratt, M. D., Castell, J. V., Chamberlain, M., Combes, R. D., Dearden, J. C., Fentem, J. H., Gerner, I., Giuliani, A., Gray, T. J. B., Livingston, D. J., Provan, W. M., Rutten, F. A. J. L., Verhaar, H. J. M., Zbinden, P. (1995). The Integrated Use of Alternative Approaches for Predicting Toxic Hazard. ECVAM Workshop Report 8. ATLA 23, 410 – 429.
- (2) Young, J. R., How, M. J., Walker, A. P., Worth W. M. H. (1988). Classification as Corrosive or Irritant to Skin of Preparations Containing Acidic or Alkaline Substance Without Testing on Animals. *Toxicol. In vitro*, 2, 19 – 26.
- (3) Worth, A. P., Fentem, J. H., Balls, M., Botham, P. A., Curren, R. D., Earl, L. K., Esdaile, D. J., Liebsch, M. (1998). Evaluation of the proposed OECD Testing Strategy for skin corrosion. ATLA 26, 709 – 720.
- (4) ECETOC (1990) Monograph No. 15, „Skin Irritation“, European Chemical Industry, Ecology and Toxicology Centre, Brussels.
- (5) Fentem, J. H., Archer, G. E. B., Balls, M., Botham, P. A., Curren, R. D., Earl, L. K., Edsail, D. J., Holzhutter, H. G., Liebsch, M. (1998) The ECVAM international validation study on in vitro tests for skin corrosivity. 2. Results and evaluation by the Management Team. *Toxicology In vitro*, 12, 483 – 524.
- (5a) Zkušební metoda B.40 Leptavé účinky na kůži.
- (6) OECD (1996) OECD Test Guidelines Programme: Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Solna, Švédsko, 22. – 24. ledna 1996. (<http://www.oecd1.org/ehs/test/background.htm>).
- (7) OECD (1998) Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, November 1998 (<http://www.oecd1.org/ehs/Class/HCL6.htm>).
- (8) OECD (2000). Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. OECD Environmental Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No. 19 (<http://www.oecd1.org/ehs/test/monos.htm>).
- (9) EPA (1990). Atlas of Dermal Lesions, (20T-2004). United States Environmental Protection Agency, Office of Pesticides and Toxic Substances, Washington, DC, August 1990. [Available from OECD Secretariat upon request].

TABULKA I: HODNOCENÍ KOŽNÍCH REAKCÍ

Tvorba erytému a příškvaru

| | |
|--|---|
| Žádný erytém | 0 |
| Velmi slabý erytém (sotva patrný) | 1 |
| Zřetelně viditelný erytém | 2 |
| Mírný až výrazný erytém | 3 |
| Těžký erytém (silné zrudnutí) nebo tvorba příškvaru znemožňující posouzení erytému | 4 |

Maximálně možné: 4

Tvorba edému

| | |
|---|---|
| Žádný edém | 0 |
| Velmi lehký edém (sotva patrný) | 1 |
| Lehký edém (okraje jsou patrné, plocha je ohraničena zřetelným vyvýšením) | 2 |
| Mírný edém (okraje vyvýšeny asi o 1 mm) | 3 |
| Výrazný edém (zduření více než 1 mm a otok přesahující hranice exponované plochy) | 4 |

Maximálně možné: 4

Pro objasnění sporných reakcí lze provést histopatologické vyšetření.

PŘÍLOHA

Strategie postupného zkoušení dráždivých a leptavých účinků na kůži

OBECNÉ ÚVAHY

V zájmu spolehlivého vědeckého přístupu a dobrého zacházení se zvířaty je důležité vyhnout se zbytečnému používání zvířat a minimalizovat jakékoli zkoušky, které u zvířat pravděpodobně vyvolají závažné reakce. Veškeré informace týkající se potenciálních leptavých/dráždivých účinků látky na kůži by se měly zhodnotit před zvažováním zkoušení *in vivo*. Je možné, že již existuje dostatek důkazů pro klasifikaci zkoušené látky podle její schopnosti vyvolávat leptavé nebo dráždivé účinky na kůži, aniž by bylo nutné provádět zkoušky na laboratorních zvířatech. Proto využití analýzy průkaznosti výsledků a strategie postupného zkoušení snižuje potřebu provádět zkoušení *in vivo*, zejména pokud látka pravděpodobně vyvolá závažné reakce.

Doporučuje se, aby se stávající informace týkající se dráždivých nebo leptavých účinků látky na kůži zhodnotily pomocí analýzy průkaznosti výsledků, na jejímž základě se rozhodne o tom, zda by se k lepší charakteristice tohoto potenciálu měly provést další studie jiné než kožní studie *in vivo*. Jsou-li nutné další studie, doporučuje se využít strategie postupného zkoušení a pomocí ní získat relevantní experimentální údaje. U látek, které doposud nebyly zkoušeny, by měla být strategie postupného zkoušení využita k získání souboru údajů, které jsou nezbytné k vyhodnocení jejich možných leptavých nebo dráždivých účinků. Strategie zkoušení popsaná v této příloze byla vypracována na semináři OECD (1) a později potvrzena a rozpracována v Harmonizovaném integrovaném systému klasifikace nebezpečí chemických látek pro lidské zdraví a jejich vlivu na životní prostředí, který schválilo 28. společné zasedání Výboru pro chemické látky a Pracovní skupiny pro chemické látky v listopadu 1998 (2).

Ačkoliv tato strategie postupného zkoušení není nedílnou součástí zkušební metody B.4, vyjadřuje doporučený postup stanovení dráždivých/leptavých účinků na kůži. Tento postup představuje nejlepší praktický i etický standard pro zkoušení dráždivých/leptavých účinků na kůži *in vivo*. Metoda zkoušení poskytuje návod pro provádění zkoušky *in vivo* a shrnuje faktory, které by před zahájením takové zkoušky měly být zváženy. Tato strategie představuje přístup posuzování existujících údajů o dráždivých/leptavých účincích zkoušených látek a odstupňovaný přístup k vytváření relevantních údajů o látkách, u kterých je nutné provést další studie, nebo u nichž žádné studie nebyly doposud provedeny. Doporučuje se také za určitých okolností provést validované a uznané zkoušky *in vitro* nebo *ex vivo* na zjištění dráždivých/leptavých účinků na kůži.

POPIS STRATEGIE VYHODNOCOVÁNÍ A ZKOUŠENÍ

Před zahájením zkoušek v rámci strategie postupného zkoušení (obrázek) se vyhodnotí veškeré dostupné informace, aby se mohlo rozhodnout o nutnosti provést zkoušení *in vivo*. Ačkoliv lze významné informace získat z vyhodnocení jednotlivých parametrů (např. extrémní hodnoty pH), stávající informace by se měly vzít v úvahu jako celek. Všechny relevantní údaje o účincích dotyčné látky nebo jejich obdoba se vyhodnotí na základě rozhodnutí založeném na průkaznosti výsledků. Mělo by se podat zdůvodnění tohoto rozhodnutí. Hlavní důraz by se měl klást na již existující údaje o účincích látky na člověka a zvířata a dále na výsledky zkoušení *in vitro* nebo *ex vivo*. Studie leptavých látek *in vivo* by se měly provádět co nejméně. Mezi faktory uvedené ve strategii zkoušení patří:

Hodnocení existujících údajů o účincích látky na člověka a zvířata (krok 1). Nejprve je nutné vzít v úvahu existující údaje o účincích na člověka, např. klinické studie nebo studie nemocí z povolání, záznamy subjektů hodnocení a/nebo údaje o zkouškách na zvířatech, např. z jednorázových nebo opakovaných studií dermální toxicity, protože z těchto údajů lze získat informace přímo se vztahující k účinkům na kůži. Látky, jejichž dráždivé nebo leptavé účinky jsou známy, a látky, o nichž existují jednoznačné důkazy, že leptavé nebo dráždivé účinky nemají, není nutné zkoušet ve studiích *in vivo*.

Analýza vztahů mezi strukturou a biologickou aktivitou (SAR) (krok 2). Vezmou se v úvahu výsledky zkoušek strukturně příbuzných látek, jsou-li k dispozici. Pokud jsou k dispozici dostatečné údaje o účincích strukturně příbuzných látek nebo jejich směsí na člověka a/nebo zvířata naznačující, že mají schopnost leptavých/dráždivých účinků, lze předpokládat, že hodnocená zkoušená látka vyvolá stejné reakce. V takových případech není nutné tuto látku zkoušet. Negativní údaje získané ze studií strukturně příbuzných látek nebo jejich směsí nepředstavují podle strategie postupného zkoušení dostatečný důkaz o neexistenci leptavých/dráždivých účinků látky. Ke stanovení potenciálních leptavých a dráždivých účinků na kůži by měly být použity validované a uznané postupy vycházející z analýzy SAR.

Fyzikálně-chemické vlastnosti a chemická reaktivita (krok 3). Látky vykazující extrémní hodnoty pH jako $\leq 2,0$ a $\geq 11,5$ mohou mít silné místní účinky. Pokud se leptavé účinky látky na kůži stanoví na základě extrémních hodnot pH, lze také vzít v úvahu kyselou/alkalickou rezervu (pufrací kapacitu) (3, 4). Pokud lze podle pufrací kapacity soudit, že látka možná nemá leptavé účinky na kůži, musí tento předpoklad potvrdit další zkoušky, pokud možno s využitím validované a uznané zkoušky *in vitro* nebo *ex vivo* (viz kroky 5 a 6).

Dermální toxicita (krok 4). Pokud se ukáže, že chemická látka je při podání dermální cestou vysoce toxická, nebude se provádět studie dráždivých/leptavých účinků na kůži *in vivo*, neboť množství zkoušené látky, které se obvykle nanáší, by mohlo přesáhnout vysoce toxickou dávku a mít za následek uhynutí nebo značné utrpení zvířat. Navíc pokud byly studie dermální toxicity využívající albíny králíka již provedeny do limitní úrovně dávky 2 000 mg/kg tělesné hmotnosti nebo vyšší a nebyly zjištěny žádné dráždivé nebo leptavé účinky, nebudou další zkoušky dráždivých/leptavých účinků na kůži zřejmě nutné. Při hodnocení akutní dermální toxicity v předchozích studiích je třeba mít na paměti několik aspektů. Např. zaznamenané informace o dermálních lézích nemusí být úplné. Zkoušení a pozorování mohlo být prováděno na jiných druzích než králík a citlivost reakcí jednotlivých druhů se může do značné míry lišit. Také forma zkoušené látky, která byla zvířatům podávána, možná nebyla vhodná pro hodnocení dráždivých/leptavých účinků na kůži (např. ředění látek určených ke zkoušení dermální toxicity) (5). Avšak v takových případech, kdy byly na králících provedeny dobře navržené a realizované studie dermální toxicity, lze negativní nálezy považovat za dostatečné důkazy, že látka není žíravá nebo dráždivá.

*Výsledky ze zkoušek *in vitro* nebo *ex vivo* (kroky 5 a 6).* Látky, které vykazovaly leptavé nebo výrazně dráždivé účinky ve validované a uznané zkoušce *in vitro* nebo *ex vivo* (6, 7), jejímž cílem bylo hodnocení specifických účinků, není nutné zkoušet na zvířatech. Lze předpokládat, že takové látky vyvolají ve zkoušce *in vivo* podobné závažné účinky.

*Zkouška *in vivo* na králících (kroky 7 a 8).* Pokud je k provedení zkoušení *in vivo* nutné rozhodnutí založené na průkaznosti výsledku, mělo by toto zkoušení začínat s počáteční zkouškou na jednom zvířeti. Pokud výsledky této zkoušky naznačují, že látka má leptavé účinky na kůži, nemělo by se další zkoušení provádět. Pokud během počáteční zkoušky není pozorován leptavý účinek, měla by se dráždivá nebo negativní reakce potvrdit maximálně na dvou dalších zvířatech po dobu expozice 4 h. Pokud je během počáteční zkoušky pozorován dráždivý účinek, lze potvrzující zkoušku provést postupně, nebo exponováním dvou dalších zvířat současně.

LITERATURA

- (1) OECD (1996). Test Guidelines Programme: Final Report on the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Solna, Sweden, 22 – 24 January 1996 (<http://www1.oecd.org/ehs/test/background.htm>).
- (2) OECD (1998). Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, November 1998 (<http://www1.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm>).
- (3) Worth, A. P., Fentem J. H., Balls M., Botham P. A., Curren R. D., Earl, L. K., Esdaile, D. J., Liebsch M. (1998). An Evaluation of the Proposed OECD Testing Strategy for Skin Corrosion. *ATLA* 26, 709 – 720.
- (4) Young, J. R., How, M. J., Walker, A. P., Worth, W. M. H. (1988). Classification as Corrosive or Irritant to Skin of Preparations Containing Acidic or Alkaline Substances, Without Testing on Animals. *Toxic. In vitro*, 2 (1), 19 – 26.
- (5) Patil, S. M., Patrick, E., Maibach, H. I. (1996). Animal, Human, and In vitro Test Methods for Predicting Skin Irritation, In: F. N. Marzulli, H. I. Maibach (eds.): *Dermatotoxicology*. Fifth Edition ISBN 1-56032-356-6, Chapter 31, 411 – 436.

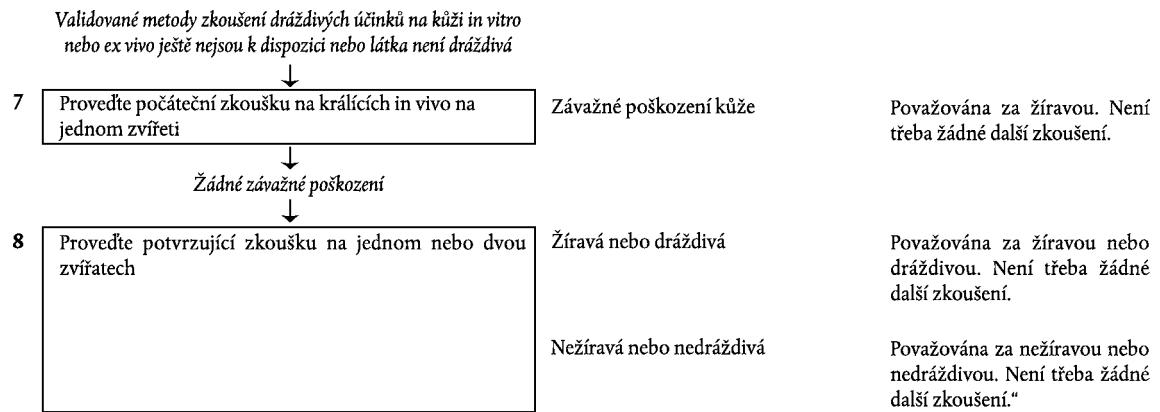
-
- (6) Zkušební metoda B.40.
- (7) Fentem, J. H., Archer, G. E. B., Balls, M., Botham, P. A., Curren, R. D., Earl, L. K., Esdaile, D. J., Holzhutter, H. G., Liebsch, M. (1998). The ECVAM international validation study on in vitro tests for skin corrosivity. 2. Results and evaluation by the Management Team. *Toxic. In vitro*, 12, 483 – 524.

OBRÁZEK

STRATEGIE ZKOUŠENÍ A HODNOCENÍ DRÁŽDIVÝCH/LEPTAVÝCH ÚČINKŮ NA KŮŽI

| Aktivita | Nález | Závěr |
|---|--|--|
| <p>1 Existující údaje o účincích látky na kůži nebo sliznice u člověka a/nebo u zvířat</p> | Žíravá | Dominantní ukazatel; považována za žíravou. Není nutné zkoušet. |
| | Dráždivá | Dominantní ukazatel; považována za dráždivou. Není nutné zkoušet. |
| | Nežíravá/nedráždivá | Dominantní ukazatel; považována za nežíravou nebo nedráždivou. Není nutné zkoušet. |
| ↓ <i>Nejsou k dispozici žádné informace, nebo informace nejsou přesvědčivé</i> | | |
| <p>2 Provedte hodnocení leptavých/dráždivých účinků na kůži podle analýzy SAR</p> | Předpoklad závažného poškození kůže | Považována za žíravou. Není nutné zkoušet. |
| | Předpoklad dráždivých účinků na kůži | Považována za dráždivou. Není nutné zkoušet. |
| ↓ <i>Nelze stanovit žádné předpoklady, nebo jsou předpoklady nepřesvědčivé nebo negativní</i> | | |
| <p>3 Změřte pH (s ohledem na pufrací kapacitu, pokud je významná)</p> | pH ≤ 2 nebo ≥ 11,5 (s vysokou pufrací kapacitou, pokud je významná) | Předpokládáné leptavé účinky. Není nutné zkoušet. |
| ↓ <i>2 < pH < 11,5, nebo pH ≤ 2,0 nebo ≥ 11,5 s nízkou nebo žádnou pufrací kapacitou, pokud je to relevantní</i> | | |
| <p>4 Vyhodnoťte údaje o systémové toxicitě dermální cestou⁽¹⁾</p> | Vysoce toxická | Není třeba žádné další zkoušení. |
| | Nežíravá nebo nedráždivá při zkouškách na králících do limitní dávky 2 000 mg na kg tělesné hmotnosti nebo vyšší | Předpokládáný nežíravý nebo nedráždivý charakter látky. Není třeba žádné další zkoušení. |
| ↓ <i>Takové informace nejsou k dispozici, nebo nejsou přesvědčivé</i> | | |
| <p>5 Provedte validovanou a uznanou zkoušku leptavých účinků na kůži in vitro nebo ex vivo</p> | Leptavé účinky | Předpokládáná žíravost in vivo. Není třeba žádné další zkoušení. |
| ↓ <i>Látka není žíravá</i> | | |
| <p>6 Provedte validovanou a uznanou zkoušku dráždivých účinků na kůži in vitro nebo ex vivo</p> | Dráždivé účinky | Předpokládáná dráždivost in vivo. Není třeba žádné další zkoušení. |

(¹) Lze zvážit kroky 2 a 3.



PŘÍLOHA 2E

B.5. AKUTNÍ TOXICITA: DRÁŽDIVÉ/LEPTAVÉ ÚČINKY NA OČI

1. METODA

Tato metoda je rovnocenná metodě OECD TG 405 (2002).

1.1 ÚVOD

Při přípravě této modernizované metody byla zvláštní pozornost věnována možným zlepšením, jichž lze dosáhnout vyhodnocováním veškerých existujících informací o zkoušené látce s cílem vyhnout se nadbytečným zkouškám na laboratorních zvířatech a zohlednit tak zásadu dobrého zacházení se zvířaty. Součástí této metody je doporučení, aby před provedením popsané zkoušky akutních dráždivých/leptavých účinků na oči *in vivo* byla vypracována analýza průkaznosti (1) stávajících relevantních údajů. Pokud nejsou k dispozici dostatečné údaje, doporučuje se získat je pomocí metody postupného zkoušení (2, 3). Strategie zkoušení zahrnuje provedení validovaných a schválených zkoušek *in vitro* a je popsána v příloze k této metodě zkoušení. Navíc se před zvažováním očního testu *in vivo* doporučuje provést zkoušku dráždivých/leptavých účinků na kůži *in vivo*, na jejímž základě se předpoví možné leptavé účinky na oči.

V zájmu spolehlivého vědeckého přístupu a dobrého zacházení se zvířaty by se ke zkouškám *in vivo* nemělo přistupovat, dokud nebyly všechny dostupné údaje významné pro možné leptavé/dráždivé účinky látky na oči vyhodnoceny na základě analýzy průkaznosti výsledků. Takové údaje budou zahrnovat důkazy ze stávajících studií na lidech a/nebo laboratorních zvířatech, důkazy leptavých/dráždivých účinků jedné nebo více strukturně příbuzných látek nebo směsí těchto látek, údaje dokládající vysokou kyselost nebo zásaditost látky (4, 5) a výsledky validovaných a uznaných zkoušek leptavých a dráždivých účinků na kůži *in vitro* nebo *ex vivo* (6, 6a). Tyto studie mohly být vypracovány před analýzou průkaznosti výsledků nebo na základě zjištění této analýzy.

U některých látek může taková analýza naznačovat nutnost provedení studií možných leptavých/dráždivých účinků látky na oči *in vivo*. Ve všech takových případech se před zvážením použití oční zkoušky *in vivo* nejprve provede studie účinků látky na kůži *in vivo* a zhodnotí se v souladu s metodou zkoušení B.4 (7). Použití analýzy průkaznosti výsledků a strategie postupného zkoušení by mělo omezit potřebu zkoušení leptavých/dráždivých účinků na oči u těch látek, u nichž tyto účinky byly již dostatečně doloženy v jiných studiích. Pokud pomocí strategie postupného zkoušení nelze o možnosti leptavých nebo dráždivých účinků na oči rozhodnout ani po provedení studie leptavých a dráždivých účinků na kůži *in vivo*, lze provést zkoušku leptavých/dráždivých účinků na oči *in vivo*.

Upřednostňovaná strategie postupného zkoušení, jejíž součástí je provedení validovaných zkoušek leptavých/dráždivých účinků *in vitro* nebo *ex vivo*, je uvedena v příloze k této metodě zkoušení. Tato strategie byla vypracována na semináři OECD (8), jeho účastníky jednohlasně doporučena a přijata jako doporučená strategie zkoušení v globálně harmonizovaném systému klasifikace chemických látek (GHS) (9). Doporučuje se, aby se podle této strategie zkoušení postupovalo před prováděním zkoušek *in vivo*. U nových látek se doporučuje metoda zkoušení po krocích, díky níž lze dosáhnout vědecky spolehlivých poznatků o leptavých/dráždivých účincích látky. U existujících látek, o jejichž leptavých/dráždivých účincích na kůži a oči není k dispozici dostatek údajů, by se měla tato strategie využít pro doplnění chybějících informací. Použití jiné strategie nebo postupu zkoušení nebo rozhodnutí nepoužít metodu po krocích musí být odůvodněno.

1.2 DEFINICE

Dráždivé účinky na oči: vyvolání změn v oku po aplikaci zkoušené látky na přední povrch oka. Tyto změny jsou plně vratné do 21 dnů po aplikaci.

Leptavé účinky na oči: vyvolání poškození oční tkáně nebo závažné fyzické zhoršení vidění po aplikaci zkoušené látky na přední povrch oka. Toto poškození není plně vratné do 21 dnů po aplikaci.

1.3 PODSTATA ZKUŠEBNÍ METODY

Látka, která má být zkoušena, se nanese v jedné dávce na jedno oko pokusného zvířete, přičemž neexponované oko slouží jako kontrola. V předem určených intervalech se na základě lézí spojivky, rohovky a duhovky vyhodnotí stupeň dráždivých/leptavých účinků na oči. Popíše se také jiné účinky na oko a nežádoucí systémové účinky, aby bylo možno provést úplné posouzení účinků. Doba studie by měla být dostatečně dlouhá, aby bylo možné zhodnotit vratnost nebo nevratnost účinků.

Zvířata, která v jakékoli fázi zkoušky vykazují přetrvávající příznaky značného utrpení a/nebo bolesti, se humánně utratí a látka se odpovídajícím způsobem vyhodnotí. Kritéria rozhodování o utracení umírajících a značně trpících zvířat lze nalézt v literatuře (10).

1.4 POPIS ZKUŠEBNÍ METODY

1.4.1 **Příprava na zkoušku in vivo**

1.4.1.1 *Výběr živočišných druhů*

Upřednostňovaným laboratorním zvířetem je albín králíka, používají se zdravá mladá dospělá zvířata. Použití jiných kmenů nebo druhů je třeba zdůvodnit.

1.4.1.2 *Příprava zvířat*

24 h před zkouškou se u každého z předběžně vybraných pokusných zvířat provede vyšetření obou očí. Zvířata, u kterých se zjistí podráždění očí, oční defekt nebo poškození rohovky, se nepoužijí.

1.4.1.3 *Podmínky chovu a krmení*

Zvířata se chovají samostatně. Teplota v místnosti pro pokusná zvířata by měla být u králíků 20 °C (\pm 3 °C), relativní vlhkost vzduchu minimálně 30 % a pokud možno nepřesáhnout 70 %, kromě doby úklidu místnosti, cílem však je hodnota 50 – 60 %. Osvětlení bude umělé se střídáním 12 h světla a 12 h tmy. Ke krmení lze použít konvenční laboratorní stravu s neomezenou dodávkou pitné vody.

1.4.2 **Postup zkoušky**

1.4.2.1 *Aplikace zkoušené látky*

Zkoušená látka se aplikuje každému zvířeti do spojivkového vaku jednoho oka tak, že se spodní víčko lehce odchlípne od oční bulvy. Víčka se pak asi na jednu sekundu lehce přidrží u sebe, aby nedošlo ke ztrátě látky. Druhé oko, do kterého se látka neaplikuje, slouží jako kontrola.

1.4.2.2 *Výplach*

Oči pokusných zvířat se do 24 h po instilaci zkoušené látky nevyplachují, s výjimkou pevných látek (viz část 1.4.2.3.2) a okamžitých leptavých nebo dráždivých účinků. Po 24 h je možné v případě potřeby oči vypláchnout.

Použití satelitní skupiny zvířat k vyšetření vlivu výplachu očí se nedoporučuje, pokud to není vědecky odůvodněno. Je-li satelitní skupina nezbytná, použijí se dva králíci. Podmínky výplachu se podrobně zdokumentují, např. doba výplachu, složení a teplota promývacího roztoku, trvání, objem a rychlost aplikace.

1.4.2.3 Úroveň dávek

1.4.2.3.1 Zkoušení kapalin

Při zkoušení kapalin se použije dávka 0,1 ml. K instilaci látky přímo do oka by se neměly používat aerosolové rozstříkovače s čerpadlem. Před instilací 0,1 ml do oka by se měla tekutina z rozstříkovače vypudit a shromáždit do nádoby.

1.4.2.3.2 Zkoušení pevných látek

Při zkoušení pevných látek, past a látek obsahujících částice se použije objem 0,1 ml nebo hmotnost nejvýše 100 mg. Zkoušená látka se rozemele na jemný prášek. Objem pevného materiálu se stanoví až po opatrném zhutnění, např. poklepáním odměrnou nádobkou. Pokud nebyla zkoušená pevná látka odstraněna z oka pokusného zvířete pomocí fyziologických mechanismů do doby prvního pozorování po 1 h po aplikaci, lze oko vypláchnout fyziologickým roztokem nebo destilovanou vodou.

1.4.2.3.3 Zkoušení aerosolů

Před instilací látek do oka se doporučuje zachytit látky obsažené v rozstříkovačích nebo aerosolech do nádoby. Jedinou výjimkou jsou látky obsažené v aerosolové nádobce pod tlakem, které z důvodu odpařování zachytit nelze. V takových případech se oko podrží otevřené a látka se do oka aplikuje přímým vstříknutím trvajícím jednu sekundu ze vzdálenosti 10 cm. Vzdálenost se může lišit podle tlaku v rozprašovači a jeho obsahu. Je třeba dbát na to, aby nedošlo k poškození oka tlakem z rozprašovače. Případně bude nutné vyhodnotit možnost „mechanického“ poškození oka v důsledku rozprašovacího tlaku.

Dávku aerosolu lze odhadnout na základě této simulované zkoušky: látka se nastříká na odvažovací papír otvorem o velikosti králičího oka, který se nachází bezprostředně před papírem. Na základě zvýšení hmotnosti papíru se odhadne množství látky, která se vstříkne do oka. U těkavých látek lze dávku odhadnout pomocí zvážení odběrové nádoby před odstraněním zkoušené látky a po jejím odstranění.

1.4.2.4 Počáteční zkouška (zkouška dráždivých/leptavých účinků na oči *in vivo* na jednom zvířeti)

Jak je uvedeno ve strategii postupného zkoušení (viz příloha 1), důrazně se doporučuje, aby byla zkouška *in vivo* provedena nejprve na jednom zvířeti.

Pokud výsledky této zkoušky naznačují, že látka má leptavé nebo vysoce dráždivé účinky na oči při použití popsáného postupu, další zkoušení dráždivých účinků na oči se neprovádí.

1.4.2.5 Lokální anestetika

V jednotlivých případech lze použít lokální anestetika. Pokud analýza průkaznosti výsledků naznačuje, že látka může způsobit bolest, nebo pokud počáteční zkoušky ukazují, že se objeví bolestivá reakce, lze před instilací zkoušené látky použít lokální anestetika. Typ, koncentraci a dávku lokálního anestetika je třeba pečlivě zvolit, aby bylo zajištěno, že v důsledku jeho použití nedojde k odlišné reakci na zkoušenou látku. Podobně se musí znečitlivět i kontrolní oko.

1.4.2.6 Potvrzující zkouška (zkouška dráždivých účinků na oči *in vivo* na dalších zvířatech)

Pokud během počáteční zkoušky není pozorován leptavý účinek, měla by se dráždivá nebo negativní reakce potvrdit na maximálně dalších dvou zvířatech. Pokud je během počáteční zkoušky pozorován značný dráždivý účinek, který naznačuje možný silný (nevratný) účinek v potvrzující zkoušce, doporučuje se provést potvrzující zkoušku metodou postupného zkoušení na jednom zvířeti spíše než exponováním dalších dvou zvířat současně. Pokud se u druhého zvířete projeví leptavé nebo vysoce dráždivé účinky, ve zkoušce se nepokračuje. K potvrzení slabých nebo mírných dráždivých reakcí bude případně nutné použít další zvířata.

1.4.2.7 *Doba pozorování*

Doba pozorování by měla být dostatečně dlouhá, aby bylo možné plně zhodnotit míru a vratnost pozorovaných účinků. Zkouška by však měla být ukončena vždy, pokud zvíře vykazuje přetrvávající příznaky značné bolesti nebo utrpení (9). Za účelem určení vratnosti účinků by se zvířata měla obvykle pozorovat 21 dnů po podání zkoušené látky. Pokud je vratnost pozorována před uplynutím 21 dnů, zkouška by se měla v tomto okamžiku ukončit.

1.4.2.7.1 *Klinická pozorování a hodnocení očních reakcí*

Oči se vyšetří po 1, 24, 48 a 72 h po podání zkoušené látky. Jakmile se získají konečné informace, nemělo by zkoušení na zvířatech probíhat déle, než je nezbytné. Zvířata se známkami přetrvávajícího utrpení nebo značných bolestí se neprodleně humánně utratí a látka se odpovídajícím způsobem vyhodnotí. Humánně se utratí ta zvířata, u nichž došlo po instilaci k těmto očním lézím: perforace rohovky nebo výrazné zvředovatění rohovky včetně stafylomu; krev v přední komoře oční; zákal rohovky stupně 4 přetrvávající 48 h; absence reakce na osvit (reakce duhovky stupně 2) přetrvávající 72 h; zvředovatění spojivkové membrány; nekróza spojivek nebo slzné žlázy; nebo odlupování nekrotické hmoty. Tento postup je dán nevratností takových lézí.

Zvířata, u nichž oční léze nevzniknou, nelze utratit dříve než 3 dny po instilaci.

Zvířata s mírnými až středními lézemi se pozorují, dokud léze nevymizí, nebo po 21 dnů, po jejichž uplynutí se studie ukončí. Po 7, 14 a 21 dnech se provádí pozorování, aby se určil stav lézí a jejich vratnost nebo nevratnost.

Stupeň reakce oka (spojivek, rohovky a duhovky) je třeba zaznamenat při každém vyšetření (tabulka 1). Uvedou se také jakékoli jiné oční léze (např. panus, zbarvení) nebo nežádoucí systémové účinky.

Vyšetřování reakcí lze usnadnit použitím binokulární lupy, ruční šterbinové lampy, očního mikroskopu nebo jiných vhodných zařízení. Po zaznamenání pozorování po 24 h mohou být oči zvířat dále vyšetřeny fluoresceinem.

Hodnocení očních reakcí je nutně subjektivní. S cílem podporovat harmonizaci hodnocení očních reakcí a napomáhat zkušebními laboratorii a těm, kteří provádějí a interpretují pozorování, musí být zaměstnanci provádějící pozorování odpovídajícím způsobem kvalifikováni pro práci s používaným systémem vyhodnocování.

2. **DATA**

2.2 **HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ**

Stupně dráždivých účinků na oči se zhodnotí ve spojení s povahou a stupněm závažnosti lézí a jejich vratností nebo nevratností. Jednotlivé stupně nepředstavují absolutní měřítko dráždivých vlastností látky, neboť se hodnotí také jiné účinky zkoušené látky. Jednotlivé stupně by spíše měly být považovány za referenční hodnoty, které jsou smysluplné, pouze pokud se opírají o úplný popis a hodnocení veškerých pozorování.

3. ZPRÁVY

3.1 PROTOKOL O ZKOUŠCE

Protokol o zkoušce musí obsahovat následující informace:

zdůvodnění zkoušení *in vivo*: analýza průkaznosti výsledků předchozích pokusů, včetně výsledků strategie postupného zkoušení:

- popis relevantních údajů z předchozích zkoušek;
- údaje získané v každém kroku strategie zkoušení;
- popis provedených zkoušek *in vitro*, včetně podrobných údajů o postupech a o výsledcích získaných se zkoušenými/referenčními látkami;
- popis provedené studie dráždivých/leptavých účinků na kůži *in vivo*, včetně získaných výsledků;
- analýza průkaznosti výsledků odůvodňující provedení studie *in vivo*.

Zkoušená látka:

- identifikační údaje (např. číslo CAS, zdroj, čistota, známé nečistoty, číslo šarže),
- fyzikální povaha a fyzikálně-chemické vlastnosti (např. hodnota pH, těkavost, rozpustnost, stabilita, reaktivita s vodou),
- v případě směsi její složení a relativní podíl složek vyjádřený v procentech,
- je-li použito lokální anestetikum, jeho identifikace, čistota, typ, dávka a možná interakce se zkoušenou látkou.

Vehikulum:

- identifikace, koncentrace (podle potřeby), použitý objem,
- zdůvodnění výběru vehikula.

Pokusná zvířata:

- použitý druh/kmen, zdůvodnění použití jiných zvířat, není-li použit albín králíka,
- stáří každého zvířete na začátku studie,
- počet zvířat každého pohlaví ve zkušebních a kontrolních skupinách (je-li to nutné),
- hmotnosti jednotlivých zvířat na začátku a na konci zkoušky,
- původ, podmínky chovu, strava atd.

Výsledky:

- popis metody vyhodnocení dráždivosti při každém pozorování (např. ruční šterbinová lampa, biomikroskop, fluorescein),
- údaje ve formě tabulky o reakcích na dráždivé nebo leptavé účinky u jednotlivých zvířat při každém pozorování až do vyjmutí každého zvířete ze zkoušky,
- podrobný popis stupně a charakteru pozorovaných dráždivých nebo leptavých účinků,
- popis všech dalších pozorovaných očních lézí (např. vaskularizace, tvorba zánětu rohovky, srůst sousedních tkání, zbarvení),
- popis místních a systémových nepříznivých účinků mimo oči a případné histopatologické nálezy.

Diskuse a interpretace výsledků.

3.2 INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Extrapolace výsledků studií dráždivých účinků na oči laboratorních zvířat na člověka je platná jen v omezené míře. Albín králíka je ve většině případů na dráždivé a leptavé látky citlivější než člověk.

Je třeba dbát na to, aby byla při interpretaci údajů vyloučena dráždivost pramenící ze sekundární infekce.

4. LITERATURA

- (1) Barratt, M. D., Castell, J. V., Chamberlain, M., Combes, R. D., Dearden, J. C., Fentem, J. H., Gerner, I., Giuliani, A., Gray, T. J. B., Livingston, D. J., Provan, W. M., Rutten, F. A. J. L., Verhaar, H. J. M., Zbinden, P. (1995). The Integrated Use of Alternative Approaches for Predicting Toxic Hazard. ECVAM Workshop Report 8. ATLA 23, 410 – 429.
- (2) de Silva, O., Cottin, M., Dami, N., Roguet, R., Catroux, P., Toufic, A., Sicard, C., Dossou, K. G., Gerner, I., Schlede, E., Spielmann, H., Gupta, K. C., Hill, R. N. (1997). Evaluation of Eye Irritation Potential: Statistical Analysis and Tier Testing Strategies. *Food Chem. Toxicol.*, 35, 159 – 164.
- (3) Worth A. P., Fentem J. H. (1999) A general approach for evaluating stepwise testing strategies ATLA 27, 161 – 177.
- (4) Young, J. R., How, M. J., Walker, A. P., Worth W. M. H. (1988). Classification as Corrosive or Irritant to Skin of Preparations Containing Acidic or Alkaline Substance Without Testing on Animals. *Toxicol. In vitro*, 2, 19 – 26.
- (5) Neun, D. J. (1993). Effects of Alkalinity on the Eye Irritation Potential of Solutions Prepared at a Single pH. *J. Toxicol. Cut. Ocular Toxicol.* 12, 227 – 231.
- (6) Fentem, J. H., Archer, G. E. B., Balls, M., Botham, P. A., Curren, R. D., Earl, L. K., Edsaile, D. J., Holzhutter, H. G., Liebsch, M. (1998). The ECVAM international validation study on in vitro tests for skin corrosivity. 2. Results and evaluation by the Management Team. *Toxicology In Vitro*, 12, 483 – 524.
- (6a) Zkušební metoda B.40 Leptavé účinky na kůži.
- (7) Zkušební metoda B.4. Akutní toxicita: dráždivé/leptavé účinky na kůži.
- (8) OECD (1996) OECD Test Guidelines Programme: Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Solna, Švédsko, 22. – 24. ledna 1996. (<http://www.oecd.org/ehs/test/background.htm>).
- (9) OECD (1998) Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, November 1998 (<http://www.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm>).
- (10) OECD (2000) Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. OECD Environmental Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No. 19 (<http://www.oecd.org/ehs/test/monos.htm>).

TABULKA I: STUPNICE OČNÍCH LÉZÍ

Rohovka

Zákal: stupeň hustoty (vyšetří se nejvíce zakalené oblasti) (*)

| | |
|--|---|
| Žádné zvředovatění ani zákal | 0 |
| Rozptýlené nebo difúzní oblasti zákalu (jiné než slabé zastření normálního lesku), detaily duhovky jasně viditelné | 1 |
| Snadno identifikovatelná průhledná oblast, detaily duhovky lehce zastřené | 2 |
| Přítomnost zóny opalescence, detaily duhovky nejsou viditelné, velikost zornice stěží rozeznatelná | 3 |
| Úplná neprůhlednost rohovky, duhovka je zcela neviditelná | 4 |

Maximálně možné: 4

(*) Zaznamená se oblast zákalu rohovky.

Duhovka

| | |
|--|---|
| Normální | 0 |
| Výrazně prohloubené řasy, městnání, otoky, střední překrvení kolem rohovky, nebo překrvení při zánětu; rohovka reaguje na světlo (zpožděná reakce je považována za účinek) | 1 |
| Krvácení, makroskopické poškození nebo bez reakce na světlo | 2 |

Maximálně možné: 2

Spojivky

Zčervenání (podle nejzávažnější změny pozorované na víčkové nebo bulbární spojivce, kromě rohovky a duhovky)

| | |
|--|---|
| Normální | 0 |
| Některé krevní cévy hyperemické (překrvené) | 1 |
| Difúzní, rudá barva, jednotlivé cévy nesnadno rozeznatelné | 2 |
| Difúzní temně rudá barva | 3 |

Maximálně možné: 3

Chemóza

Otoky (týká se víček a/nebo slzných žláz)

| | |
|--|---|
| Normální | 0 |
| Slabě abnormální otok | 1 |
| Patrný otok, s částečným obrácením víček | 2 |
| Otok způsobující uzavření víček zhruba na polovinu | 3 |
| Otok způsobující uzavření víček více než na polovinu | 4 |

Maximálně možné: 4

PŘÍLOHA

Strategie postupného zkoušení dráždivých a leptavých účinků na oči

OBECNÉ ÚVAHY

V zájmu spolehlivého vědeckého přístupu a dobrého zacházení se zvířaty je důležité vyhnout se zbytečnému používání zvířat a minimalizovat jakékoli zkoušky, které u zvířat pravděpodobně vyvolají závažné reakce. Veškeré informace týkající se potenciálních dráždivých/leptavých účinků látky na oči by se měly zhodnotit před zvažováním zkoušení *in vivo*. Může již existovat dostatek důkazů pro klasifikaci zkoušené látky podle jejích potenciálních dráždivých nebo leptavých účinků na oči, aniž by bylo nutné provádět zkoušky na laboratorních zvířatech. Proto využití analýzy průkaznosti výsledků a strategie postupného zkoušení sníží potřebu provádět zkoušení *in vivo*, zejména pokud látka pravděpodobně vyvolá závažné reakce.

Doporučuje se, aby se stávající informace týkající se dráždivých a leptavých účinků látky na oči zhodnotily pomocí analýzy průkaznosti výsledků, na jejímž základě se rozhodne o tom, zda by se k lepší charakteristice tohoto potenciálu měly provést další studie, jiné než oční studie *in vivo*. Jsou-li nutné další studie, doporučuje se využít strategie postupného zkoušení a jejím prostřednictvím získat relevantní experimentální údaje. U látek, které doposud nebyly zkoušeny, by se měla strategie postupného zkoušení využít k získání údajů, které jsou nezbytné k vyhodnocení jejich leptavých nebo dráždivých účinků na oči. Strategie zkoušení popsaná v této příloze byla vypracována na semináři OECD (1). Následně byla tato strategie potvrzena a rozpracována v Harmonizovaném integrovaném systému klasifikace nebezpečí chemických látek pro lidské zdraví a jejich vlivu na životní prostředí, který schválilo 28. společné zasedání Výboru pro chemické látky a Pracovní skupiny pro chemické látky v listopadu 1998 (2).

Ačkoliv tato strategie postupného zkoušení není nedílnou součástí zkušební metody B.5, vyjadřuje doporučený postup stanovení dráždivých/leptavých účinků na oči. Tento postup představuje nejlepší praktický i etický standard pro zkoušení dráždivých/leptavých účinků na oči *in vivo*. Metoda zkoušení obsahuje pokyny pro provádění zkoušky *in vivo* a shrnuje faktory, kterým je nutno před zvažováním takové zkoušky věnovat pozornost. Strategie postupného zkoušení představuje přístup posuzování existujících údajů o dráždivých a leptavých účincích látek na oči a odstupňovaný přístup k získávání relevantních údajů o látkách, u kterých je nutné provést další studie, nebo u nichž žádné studie nebyly doposud provedeny. Součástí této strategie je provedení nejprve validovaných a uznaných zkoušek *in vitro* nebo *ex vivo* a poté za určitých okolností provedení studií dráždivých/leptavých účinků na kůži metodou zkoušení B.4 (3, 4).

POPIS STRATEGIE ZKOUŠENÍ PO KROCÍCH

Před zahájením zkoušek v rámci strategie postupného zkoušení (obrázek) se vyhodnotí veškeré dostupné informace, aby se mohlo rozhodnout o nutnosti provést zkoušení *in vivo*. Ačkoliv lze podstatné informace získat z vyhodnocení jednotlivých parametrů (např. extrémní hodnota pH), stávající informace by se měly hodnotit jako celek. Všechny relevantní údaje o účincích zkoušené látky a jejích strukturálních obdob se vyhodnotí na základě rozhodnutí založeném na průkaznosti výsledků, toto rozhodnutí se zdůvodní. Zvláštní důraz bude kladen na již existující údaje o účincích látky na člověka a zvířata a dále na výsledky zkoušení *in vitro* nebo *ex vivo*. Studie žíravých látek *in vivo* by se měly provádět co nejméně. Mezi faktory uvedené ve strategii zkoušení patří:

Hodnocení existujících údajů o účincích látky na člověka a zvířata (krok 1). Nejprve je nutné vzít v úvahu existující údaje o účincích na člověka, např. klinické studie nebo studie nemocí z povolání, záznamy subjektů hodnocení a/nebo údaje o zkouškách na zvířatech získané z očních studií, protože z těchto dat lze získat informace přímo se vztahující k účinkům na oči. Poté se zhodnotí dostupné údaje ze studií na lidech a/nebo na zvířatech zabývajících se leptavými/dráždivými účinky na kůži. Látky, jejichž leptavé nebo vysoce dráždivé účinky na oči jsou známy, se do očí zvířat neaplikují. To platí rovněž pro látky vykazující leptavé nebo dráždivé účinky na kůži; takové látky se považují za látky s leptavými a/nebo dráždivými účinky rovněž na oči. Látky, o nichž byly v předchozích očních studiích získány dostatečné důkazy, že jsou nežíravé a nedráždivé, se v očních studiích *in vivo* také nezkoušejí.

Analýza vztahů mezi strukturou a biologickou aktivitou (SAR) (krok 2). Vezmou se v úvahu výsledky zkoušek strukturně příbuzných chemických látek, jsou-li k dispozici. Pokud jsou k dispozici dostatečné údaje o účincích strukturně příbuzných látek nebo jejich směsí na člověka a/nebo zvířata naznačující, že mají potenciál leptavých/dráždivých účinků na oči, lze předpokládat, že zkoušená látka vyvolá stejné reakce. V takových případech není nutné tuto látku zkoušet. Negativní údaje získané ze studií strukturně příbuzných látek nebo jejich směsí nezakládají podle strategie postupného zkoušení dostatečný důkaz nežiravosti/nedráždivosti látky. Ke stanovení potenciálu leptavých/dráždivých účinků na kůži i oči by měly být použity validované a uznané postupy vycházející z analýzy SAR.

Fyzikálně-chemické vlastnosti a chemická reaktivita (krok 3). Látky vykazující extrémní hodnoty pH jako $\leq 2,0$ nebo $\geq 11,5$ mohou mít silné místní účinky. Pokud se leptavé nebo dráždivé účinky látky na oči stanoví na základě extrémních hodnot pH, lze také vzít v úvahu kyselou/alkalickou rezervu (pufrační kapacitu) (5, 6). Pokud lze podle pufrační kapacity soudit, že látka zřejmě nemá leptavé účinky na oči, musí tento předpoklad potvrdit další zkoušky, pokud možno s využitím validované a uznané zkoušky *in vitro* nebo *ex vivo* (viz kroky 5 a 6).

Zvážení dalších existujících informací (krok 4). V této fázi se vyhodnotí veškeré dostupné informace o systémové toxicitě dermální cestou. Vezme se v úvahu také akutní dermální toxicita zkoušené látky. Pokud se u zkoušené látky ukázalo, že je při podání dermální cestou vysoce toxická, není nutné zkoušet ji na oku. Ačkoliv mezi akutní dermální toxicitou a dráždivými/leptavými účinky na oči nemusí existovat souvislost, lze se domnívat, že pokud je látka při podání dermální cestou vysoce toxická, bude vysokou toxicitou vykazovat také při instilaci do oka. Takové údaje lze také vzít v úvahu mezi kroky 2 a 3.

*Výsledky ze zkoušek *in vitro* nebo *ex vivo* (kroky 5 a 6).* Látky, které vykazovaly leptavé nebo výrazně dráždivé vlastnosti ve zkoušce *in vitro* nebo *ex vivo* (7, 8), která byla validována a uznána pro hodnocení výlučně leptavých/dráždivých účinků na oči nebo na kůži, není nutné zkoušet na zvířatech. Lze předpokládat, že takové látky vyvolají ve zkoušce *in vivo* podobné závažné účinky. Nejsou-li validované a uznané zkoušky *in vitro* nebo *ex vivo* k dispozici, kroky 5 a 6 se přeskočí a přejde se přímo ke kroku 7.

*Posouzení dráždivých nebo leptavých účinků na kůži *in vivo* (krok 7).* Pokud stávající důkazy k provedení přesvědčivé analýzy průkaznosti výsledků potenciálních dráždivých/leptavých účinků látky na oči opírající se o údaje z výše uvedených studií nepostačují, nejprve se s využitím metody B.4 (4) a průvodní přílohy (9) vyhodnotí potenciál dráždivých/leptavých účinků na kůži *in vivo*. Jestliže se u látky prokáží leptavé nebo silně dráždivé účinky na kůži, považuje se za látku s leptavými a dráždivými účinky na oči, pokud jiné informace nesvědčí o odlišném závěru. Oční zkoušku *in vivo* by tak nebylo nutné provádět. Pokud látka leptavé nebo výrazně dráždivé účinky na kůži nemá, oční zkouška *in vivo* se provede.

*Zkouška *in vivo* na králících (kroky 8 a 9).* Oční zkoušení *in vivo* se zahájí počáteční zkouškou na jednom zvířeti. Pokud výsledky této zkoušky naznačují, že látka má silně dráždivé nebo leptavé účinky na oči, další zkoušení se neprovádí. Pokud zkouška žádné leptavé nebo silně dráždivé účinky neodhalí, provede se potvrzující zkouška na dvou dalších zvířatech.

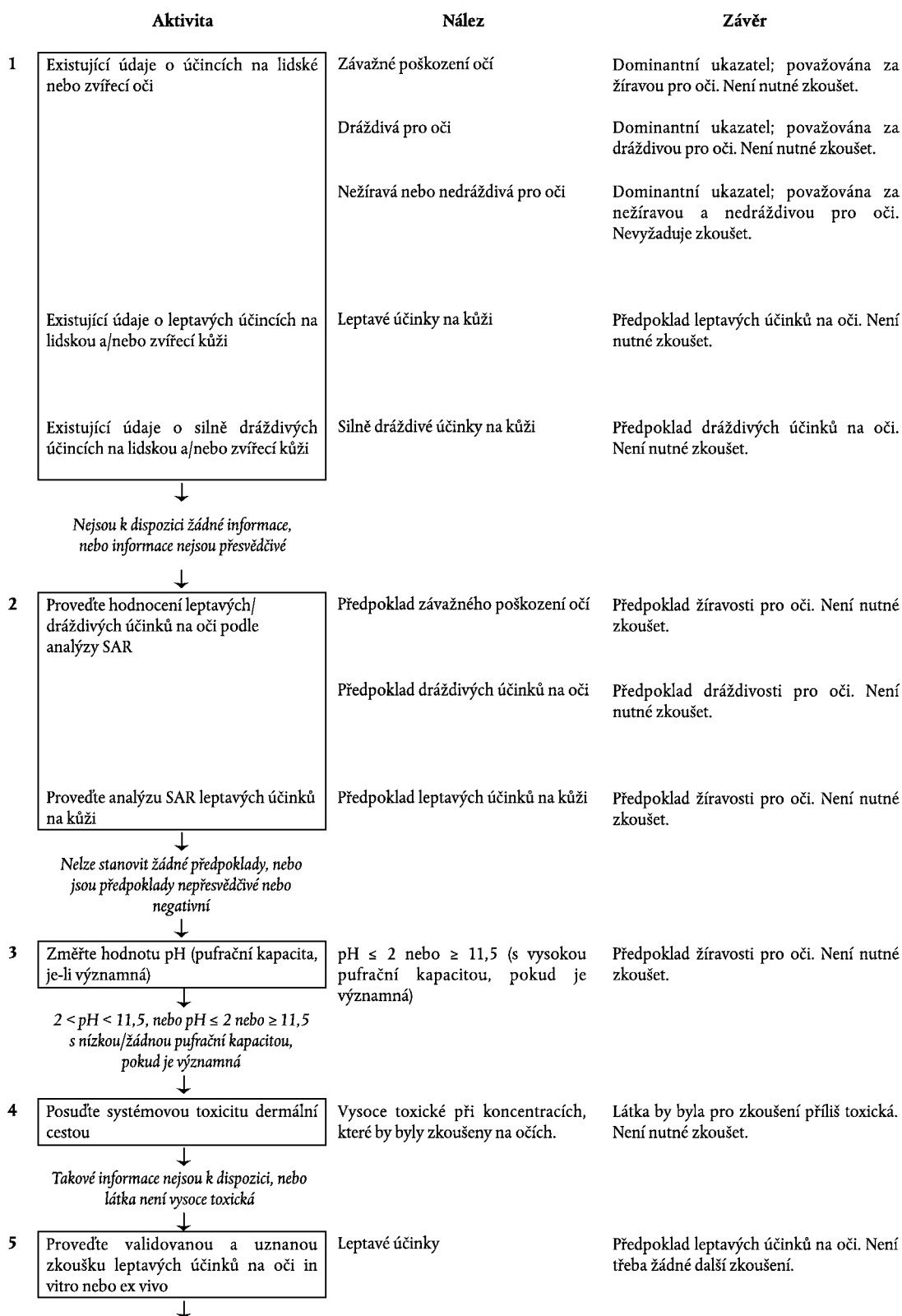
LITERATURA

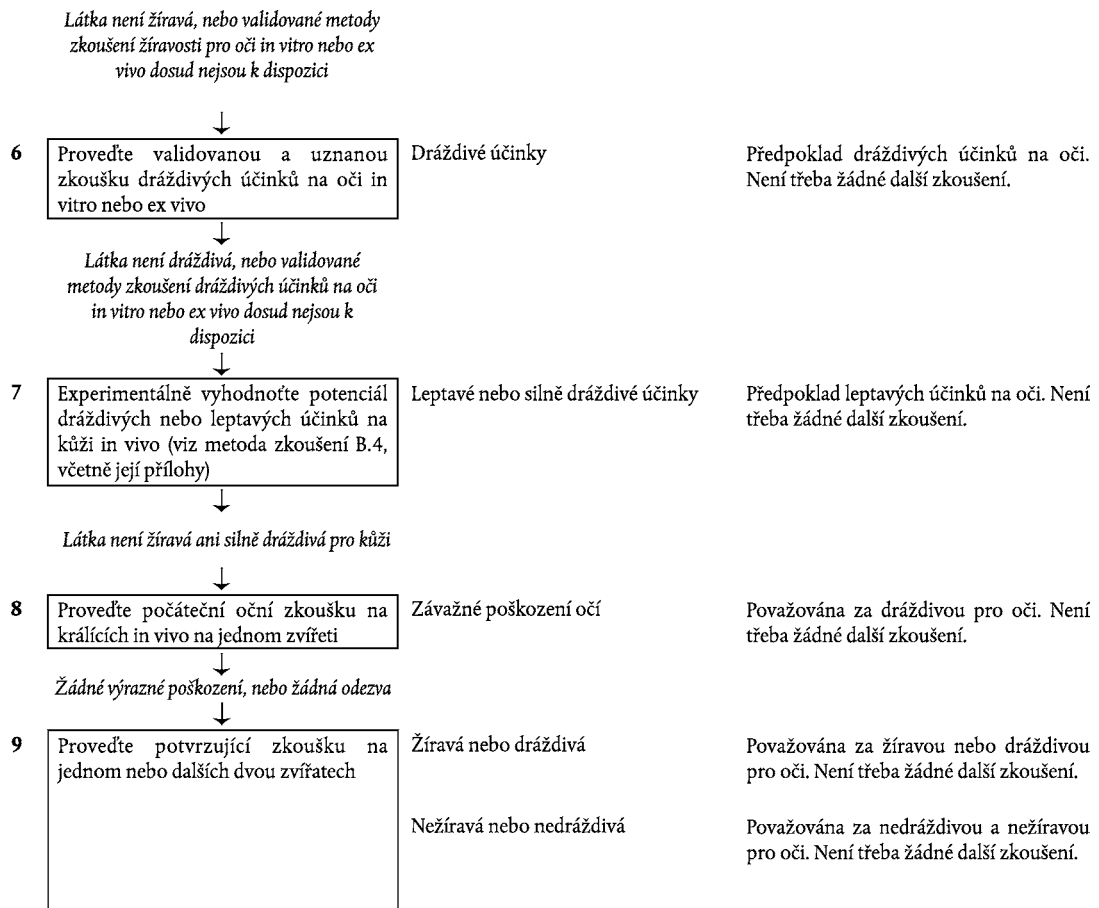
- (1) OECD (1996) OECD Test Guidelines Programme: Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Solna, Švédsko, 22. – 24. ledna 1996. (<http://www1.oecd.org/ehs/test/background.htm>).
- (2) OECD (1998) Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, November 1998 (<http://www1.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm>).
- (3) Worth, A. P., Fentem J. H. (1999). A General Approach for Evaluating Stepwise Testing Strategies. *ATLA* 27, 161 – 177.
- (4) Zkušební metoda B.4. Akutní toxicita: dráždivé/leptavé účinky na kůži.
- (5) Young, J.R., How, M.J., Walker, A.P., Worth W.M.H. (1988) Classification as Corrosive or Irritant to Skin of Preparations Containing Acidic or Alkaline Substance Without Testing on Animals. *Toxicol. In Vitro*, 2, 19 – 26.
- (6) Neun, D. J. (1993) Effects of Alkalinity on the Eye Irritation Potential of Solutions Prepared at a Single pH. *J. Toxicol. Cut. Ocular Toxicol.*, 12, 227 – 231.

-
- (7) Fentem, J. H., Archer, G. E. B., Balls, M., Botham, P. A., Curren, R. D., Earl, L. K., Edsail, D. J., Holzhutter, H. G., Liebsch, M. (1998). The ECVAM international validation study on in vitro tests for skin corrosivity. 2. Results and evaluation by the Management Team. *Toxicology In Vitro*, 12, 483 – 524.
- (8) Zkušební metoda B.40 Leptavé účinky na kůži.
- (9) Příloha zkušební metody B.4: Strategie postupného zkoušení dráždivých a leptavých účinků na kůži.

OBRÁZEK

STRATEGIE ZKOUŠENÍ A HODNOCENÍ DRÁŽDIVÝCH/LEPTAVÝCH ÚČINKŮ NA OČI5





PŘÍLOHA 2F

B.31. STUDIE PRENATÁLNÍ VÝVOJOVÉ TOXICITY

1. METODA

Tato metoda je replikou metody OECD TG 414 (2001).

1.1 ÚVOD

Tato metoda zkoušení vývojové toxicity je určena k získání všeobecných informací týkajících se účinku prenatální expozice na březí pokusné zvíře a na organismus vyvíjející se v děloze; tyto informace mohou zahrnovat jak hodnocení účinku na matku, tak i vliv na uhynutí, strukturální odchylky nebo změněný růst plodu. I když funkční poruchy tvoří významnou část vývoje, nejsou součástí této metody. Zkoušky na tyto poruchy mohou být prováděny v samostatné studii nebo jako doplněk této studie pomocí zkušební metody vývojové neurotoxicity. Informace o zkoušení funkčních poruch a jiných postnatálních účinků lze v případě potřeby získat z dvougenerační zkoušky toxicity pro reprodukci a zkoušky vývojové neurotoxicity.

Tato zkušební metoda může ve specifických případech vyžadovat určitou úpravu na základě specifických znalostí např. fyzikálně-chemických nebo toxikologických vlastností zkoušené látky. Tato úprava je přijatelná, jestliže přesvědčivé vědecké důkazy svědčí o tom, že díky ní bude mít zkouška vyšší vypovídací hodnotou. V takovém případě je třeba tyto vědecké důkazy pečlivě zdokumentovat ve zprávě o studii.

1.2 DEFINICE

Vývojová toxikologie: studie nepříznivých účinků na vyvíjející se organismus, které mohou vyplývat z expozice před početím, během prenatálního vývoje nebo v postnatálním období až do doby pohlavní zralosti. Hlavní projevy vývojové toxicity zahrnují 1) úhyn organismu, 2) strukturální odchylky, 3) změněný růst a 4) funkční poruchu. Vývojová toxikologie se původně nazývala teratologie.

Nepříznivý účinek: jakákoliv odchylka od normálního stavu spojená se zkouškou, která snižuje schopnost organismu přežít, rozmnožovat se nebo se přizpůsobit prostředí. Pokud jde o vývojovou toxikologii v nejširším slova smyslu, zahrnuje tento pojem jakýkoliv účinek, který brání normálnímu vývoji plodu, a to jak před narozením, tak i po něm.

Změněný růst: změna hmotnosti nebo velikosti orgánu nebo těla u potomstva.

Odchylky (anomálie): strukturální změny ve vývoji, které zahrnují jak malformace, tak i odchylky (28).

Malformace/velká odchylka: strukturální změna považovaná za škodlivou pro zvíře (může být i letální); obvykle je vzácná.

Odchylka/malá odchylka: strukturální změna, která nemá žádný nebo má jen malý škodlivý účinek na zvíře; může být přechodná a u kontrolní populace se může vyskytovat poměrně často.

Zárodek: celkové množství derivátů oplodněného vajíčka v jakékoliv fázi vývoje od oplodnění až do narození, včetně dalších zárodečných membrán, embrya nebo plodu.

Implantace (nidace): přichycení blastocytu k epitelové výstelce dělohy, včetně její penetrace do děložního epitelu a zahnízdění v děložní sliznici.

Embryo: raná nebo vývojová fáze organismu, a to zvláště plod vyvíjející se po oplodnění vajíčka poté, co se objeví dlouhá osa a dokud nejsou přítomné všechny hlavní struktury.

Embryotoxicita: toxicita škodlivá pro normální strukturu, vývoj, růst a/nebo životaschopnost embrya.

Zárodek: nenarozený potomek v post-embryonálním období.

Fetotoxicita: toxicita škodlivá pro normální strukturu, vývoj, růst a/nebo životaschopnost plodu.

Potrat: předčasné vyloučení produktů oplodnění – embrya nebo plodu neschopného života – z dělohy.

Resorpce: zárodek, který po implantaci do dělohy později odumřel a vstřebává se nebo se již vstřebal.

Raná resorpce: důkaz o zahnízdění (implantaci) bez rozeznatelného embrya/plodu.

Pozdní resorpce: mrtvé embryo nebo plod se zevními degenerativními změnami.

NOAEL: zkratka pro hladinu bez pozorovaného nepříznivého účinku; odpovídá nejvyšší úrovni dávky nebo expozice, při které nejsou pozorovány žádné nepříznivé nálezy související s podáním látky.

1.3 REFERENČNÍ LÁTKA

Žádná.

1.4 PRINCIP ZKUŠEBNÍ METODY

Obvykle se zkoušená látka podává březím zvířatům nejpozději od implantace až do dne před plánovaným usmrcením, který by se měl co nejvíce přiblížit očekávanému dni vrhu, aniž se riskuje ztráta údajů v důsledku předčasného vrhu. Zkušební metoda není určena výhradně ke zkoumání období organogeneze (např. 5. – 15. den u hlodavce a 6. – 18. den u králíka), ale popřípadě rovněž ke zkoumání účinků před implantací, pro celé období gestace a až do dne před císařským řezem. Krátce před císařským řezem se samice usmrtí, prozkoumá se děložní obsah a u plodů se vyhodnotí zevní viditelné anomálie, změny měkkých tkání a skeletu.

1.5 POPIS ZKUŠEBNÍ METODY

1.5.1 Výběr živočišných druhů

Doporučuje se provádět zkoušení s nevhodnějšími druhy a využívat laboratorní druhy a kmeny, které se běžně používají při zkoušení prenatalní vývojové toxicity. Upřednostňovaným druhem hlodavce je potkan a upřednostňovaným druhem nehlodavce je králík. Použití jiného druhu je třeba odůvodnit.

1.5.2 Podmínky chovu a krmení

Teplota v místnosti pro pokusná zvířata by měla být 22 °C (± 3 °C) pro hlodavce a 18 °C (± 3 °C) pro králíky, relativní vlhkost vzduchu minimálně 30 %, neměla by pokud možno překročit 70 %, kromě doby úklidu místnosti, cílem však je hodnota 50 – 60 %. Osvětlení bude umělé se střídáním 12 h světla a 12 h tmy. Ke krmení lze použít konvenční laboratorní stravu s neomezenou dodávkou pitné vody.

Páření by mělo probíhat v klecích vhodných k tomuto účelu. I když se dává přednost individuálnímu chovu spářených zvířat, přípustný je rovněž chov v malých skupinkách.

1.5.3 Příprava zvířat

Použijí se zdravá zvířata, která se alespoň 5 dnů aklimatizovala na laboratorní podmínky a která nebyla podrobena předcházejícím zkušebním postupům. Pokusná zvířata by měla být charakterizována podle druhu, kmenu, původu, pohlaví, hmotnosti a/nebo stáří. Je-li to možné, měla by mít zvířata ze všech testovaných skupin stejnou hmotnost a věk. Pro každou úroveň dávek se použijí mladé dospělé samice, které by měly být nullipary. Samice se spáří se samci stejného druhu a kmene a nemělo by docházet k páření sourozenců. U hlodavců je nultým dnem gestace den, kdy se pozoruje vaginální zátka a/nebo sperma; u králíků je dnem 0 obvykle den páření nebo umělé inseminace, pokud se tato metoda používá. Oplodněné samice se náhodným výběrem rozdělí do kontrolních a experimentálních skupin. Klece by měly být uspořádány tak, aby byl vliv umístění klecí minimalizován. Každému zvířeti se přidělí vlastní identifikační číslo. Náhodným výběrem se oplodněné samice rozdělí do kontrolních a experimentálních skupin, a jsou-li samice pářeny v sadách, rozdělí se zvířata z jednotlivých sad rovnoměrně do všech skupin. Stejně tak se do všech skupin rozdělí samice oplodněné stejným samcem.

1.6 POSTUP

1.6.1 Počet a pohlaví zvířat

Každá experimentální a kontrolní skupina by měla obsahovat dostatečný počet samic, abych se při pitvě získalo přibližně 20 samic s implantací plodu. Skupiny s méně než 16 zvířaty s implantací plodu nejsou vhodné. Mortalita samic nemusí nutně znamenat znehodnocení studie za předpokladu, že nepřekročí přibližně 10 %.

1.6.2 Příprava dávek

Pokud se pro usnadnění dávkování používá vehikulum nebo jiná přísada, je třeba vzít v úvahu následující typické znaky: vliv na absorpci, distribuci, metabolismus a retenci nebo vylučování zkoušené látky; vliv na chemické vlastnosti zkoušené látky, která může pozměnit svoje toxické znaky, a vliv na spotřebu potravy nebo vody anebo nutričního stavu zvířat. Vehikulum by nemělo být ani vývojově toxické, ani by nemělo mít vliv na rozmnožování.

1.6.3 Dávkování

Zkoušená látka se obvykle podává denně od implantace (např. pátý den po spáření) až do dne před plánovaným císařským řezem. Pokud z případných předběžných studií nevyplývá vysoký potenciál předimplantační ztráty, lze aplikaci prodloužit tak, aby zahrnovala celé období gestace, od spáření až do dne před plánovaným usmrcením. Je známo, že nevhodné zacházení nebo stres během březosti může vést k prenatální ztrátě. S cílem zabránit prenatálním ztrátám z důvodů, které nejsou spojeny s expozicí, je nutné zamezit jak nadbytečné manipulaci se zvířaty, tak i stresu způsobenému zevními faktory, jako je např. hluk.

Použijí se alespoň tři úrovně dávek a souběžná kontrola. Zdravá zvířata se náhodným výběrem rozdělí do kontrolních a experimentálních skupin. Úrovně dávek se rozloží tak, aby byly toxické účinky odstupňovány. Pokud neexistuje žádné omezení fyzickou/chemickou podstatou nebo biologickými vlastnostmi zkoušené látky, zvolí se nejvyšší dávka s cílem vyvolat určitou vývojovou toxicitu a/nebo toxicitu pro matku (klinické znaky nebo snížení tělesné hmotnosti), ale nikoliv uhynutí nebo značné utrpení. Alespoň jedna střední úroveň dávky by měla vyvolat minimální zjistitelné toxické účinky. Nejnižší úroveň dávky by neměla vyvolat žádnou prokazatelnou toxicitu pro matku ani vývojovou toxicitu. S ohledem na prokázání jakékoli reakce související s dávkováním a s úrovní dávky bez pozorovaného nepříznivého účinku (NOAEL) by se měla zvolit sestupná posloupnost úrovní dávek. Pro nastavení sestupných úrovní dávek jsou obvykle optimální dvoj- až čtyřnásobné intervaly a často je vhodnější přidání čtvrté exponované skupiny než používání velkých intervalů mezi dávkami (např. lišících se faktorem 10). Ačkoliv je cílem stanovit hodnotu NOAEL pro samici, přijatelné jsou rovněž studie, které tuto hodnotu nestanoví (1).

Při výběru úrovní dávek je třeba brát v úvahu jakékoliv existující údaje o toxicitě a také jako další informace o metabolismu a toxikokinetice zkoušené látky nebo látek příbuzných. Tyto informace pomohou rovněž při prokazování přiměřenosti dávkovacího režimu.

Použije se souběžná kontrolní skupina. Tato skupina by měla tvořit zdánlivě léčenou kontrolní skupinu nebo kontrolní skupinu s vehikulem, pokud se vehikulum při podávání zkoušené látky používá. Všem skupinám se podává stejné množství zkoušené látky nebo vehikula. Se zvířaty v kontrolní skupině (kontrolních skupinách) se zachází stejně jako se zvířaty v experimentální skupině. Kontrolní skupina s vehikulem by měla dostat vehikulum v nejvyšším používaném množství (jako u experimentální skupiny s nejnižší dávkou).

1.6.4 Limitní zkouška

Pokud zkouška na jedné úrovni dávky v množství alespoň 1 000 mg na kg tělesné hmotnosti na den při orálním podávání nevyvolá při použití postupů předepsaných pro tuto studii žádnou zjistitelnou toxicitu ani u březích zvířat, ani u jejich plodů, a pokud se neočekává účinek ani na základě existujících údajů (např. o sloučeninách s podobnou strukturou a/nebo metabolismem), není nutné uvažovat o kompletní studii využívající tří úrovní dávek. Je možné, že předpokládaná expozice u člověka si vyžádá použití vyšší orální dávky v limitní zkoušce. U dalších způsobů podávání látky, jako je inhalační nebo kožní aplikace, může být maximální dosažitelná úroveň expozice dána fyzikálně-chemickými vlastnostmi zkoušené látky (např. kožní aplikace by neměla způsobit závažnou lokální toxicitu).

1.6.5 Aplikace dávek

Zkoušená látka nebo vehikulum se obvykle podává orálně intubací. Pokud se používá jiný způsob aplikace látky, měl by experimentátor volbu zdůvodnit a objasnit, přičemž možná bude nutné provést odpovídající změny (2, 3, 4). Zkoušená látka se podává každý den přibližně ve stejnou dobu.

Dávka pro jednotlivá zvířata obvykle vychází z aktuální zjištěné tělesné hmotnosti. Je však nutné věnovat velkou pozornost úpravě dávky během posledního trimestru březosti. Dávka by se měla zvolit na základě existujících údajů, aby se zabránilo nadměrné toxicitě u samic. Pokud je však u ošetřovaných samic zaznamenána nadměrná toxicita, tato zvířata se humánně utratí. Pokud několik březích zvířat vykazuje známky nadměrné toxicity, mělo by se zvážit utracení této skupiny. Je-li látka podávána prostřednictvím žaludeční sondy, měla by se zvířatům podávat ve formě jediné dávky pomocí hadičky k výplachu žaludku nebo vhodné intubační kanyly. Maximální množství tekutiny, které lze jednorázově podávat, závisí na velikosti pokusného zvířete. Toto množství by nemělo překročit 1 ml na 100 g tělesné hmotnosti, s výjimkou vodných roztoků, kde lze použít 2 ml/100 g tělesné hmotnosti. Pokud se jako vehikulum používá kukuřičný olej, nemělo by množství překročit 0,4 ml na 100 g tělesné hmotnosti. Kolísání v množství zkoušené látky by se měla omezit nastavením koncentrací tak, aby se zajistilo konstantní množství na všech úrovních dávek.

1.6.6 Sledování samic

Klinická pozorování se provádějí a zaznamenávají minimálně jednou denně, a to každý den nejlépe ve stejnou dobu, a přihlédně se k době vrcholícího předpokládaného účinku po dávkování. Zaznamená se stav zvířat včetně mortality, agónie, relevantních změn chování a všech příznaků zjevné toxicity.

1.6.7 Tělesná hmotnost a spotřeba potravy

Zvířata se zváží během nultého dne gestace anebo nejpozději třetí den gestace, pokud externí chovatel dodává zvířata spářená ve stejnou dobu, první den podávání látky a minimálně každý třetí den v období podávání látky a dále v den plánovaného usmrcení.

Spotřeba potravy se zaznamená v třídním intervalu a měla by se shodovat se dny zjišťování tělesné hmotnosti.

1.6.8 Pitva

Samice se usmrtí jeden den před očekávaným dnem vrhu. Samice vykazující známky potratu nebo předčasného vrhu předcházejícího plánovanému usmrcení se usmrtí a podrobí důkladnému makroskopickému vyšetření.

Samice se v okamžiku usmrcení nebo úhynu během studie makroskopicky vyšetří na strukturální odchylky nebo patologické změny. S cílem minimalizovat neobjektivnost se posuzování samic během císařského řezu a následná fetální analýza provedou pokud možno bez znalosti experimentální skupiny.

1.6.9 Vyšetření děložního obsahu

Okamžitě po usmrcení nebo co nejdříve po uhynutí se samicím vyjme děloha a zjisti se stav březosti. Dělohy, které nesvědčí o graviditě, se dále vyšetří (např. pomocí barvení sulfidem amonným u hlodavců a pomocí Salewského barvení nebo vhodnou alternativní metodou u králíků) a potvrdí se negravidní stav (5).

Gravidní děloha včetně děložního hrdla se zvaží. Hmotnost gravidní dělohy by se neměla zjišťovat u zvířat, která během studie uhynula.

U březích zvířat se zjistí počet žlutých tělísek.

U děložního obsahu se vyšetří počet úhynů embrya nebo plodu a počet životaschopných plodů. Popíše se stupeň resorpce, aby bylo možné odhadnout relativní dobu uhynutí zárodku (viz část 1.2).

1.6.10 Vyšetření plodů

Zjistí se pohlaví a tělesná hmotnost každého plodu.

U každého plodu se vyšetří zevní odchylky (6).

U plodů se vyšetří změny kostry a měkkých tkání (např. odchylky a malformace nebo anomálie) (7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24). Kategorizace fetálních změn je vhodná, ale nikoli nezbytná. Pokud se kategorizace provede, měla by se jasně stanovit kritéria definování jednotlivých kategorií. Zvláštní pozornost je třeba věnovat rozmnožovací soustavě, která se vyšetří na přítomnost známek změněného vývoje.

U hlodavců se pitvá přibližně polovina každého vrhu, u něhož se vyšetří změny skeletu. Zbytek se pitvá a vyšetří na přítomnost změn měkkých tkání pomocí uznaných nebo vhodných metod postupných histologických řezů nebo důkladné pitvy.

U nehlodavců, např. králíků, se prozkoumají jak změny měkkých tkání, tak změny skeletu všech plodů. Opatrným oddělením tkání se u těchto plodů vyšetří změny měkkých tkání, přičemž pitva může zahrnovat i postupy pro další vyhodnocení vnitřní stavby srdce (25). Hlavy poloviny plodů zkoumaných tímto způsobem se oddělí a použijí se k vyhodnocení změn měkkých tkání (včetně očí, mozku, nosních dutin a jazyka), a to pomocí standardních metod postupného segmentování (26) nebo stejně citlivých metod. Těla těchto i zbývajících neporušených plodů se pitvají a vyšetří na přítomnost změn skeletu za použití stejných metod popsanych pro hlodavce.

2. DATA

2.1 ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ

Výsledky se zaznamenají do tabulky samostatně pro samice a pro jejich potomky a u každé pokusné skupiny a každé generace se uvede počet zvířat na začátku zkoušky, počet zvířat uhynulých během zkoušky nebo utracených z humanitních důvodů, doba úhynu nebo humanitního utracení, počet březích samic, počet zvířat vykazujících příznaky toxicity, popis příznaků zjištěné toxicity včetně nástupu, trvání a závažnosti případných toxických účinků, typy pozorování embryí/plodů a všechny důležité údaje o vrhu.

Numerické výsledky se vyhodnotí vhodnou statistickou metodou, přičemž jako jednotka analýzy dat se použije vrh. Použije se všeobecně uznávaná statistická metoda; zvolí se jako součást návrhu studie a musí být zdůvodněna. Rovněž se uvedou údaje získané u zvířat, která nepřežila až do plánovaného usmrcení. Tyto údaje lze v případě potřeby zahrnout do skupinového průměru. Význam údajů získaných od těchto zvířat i jejich zahrnutí nebo nezahrnutí do průměru skupiny by měly být odůvodněny a individuálně posouzeny.

2.2 HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

Výsledky studie prenatalní vývojové toxicity se vyhodnotí na základě zjištěných účinků. Vyhodnocení bude obsahovat následující informace:

- výsledky zkoušky u samic a embrya/plodu, včetně hodnocení vazeb nebo jejich absence mezi expozicí zvířat zkoušené látce a výskytem a závažností všech nálezů;
- kritéria používaná pro kategorizaci zevních změn, změn měkkých tkání a skeletu u plodu, pokud byla tato kategorizace provedena;
- případně předchozí kontrolní údaje ke snazšímu objasnění výsledků studie;
- číselné hodnoty používané při výpočtu všech procentuálních hodnot nebo koeficientů;
- případně odpovídající statistickou analýzu výsledků studie, která by měla zahrnovat dostatečné informace o metodě analýzy, aby nezávislý posuzovatel/statistik mohl tuto analýzu přehodnotit a zrekonstruovat.

U studií, které prokazují nepřítomnost toxických účinků, je třeba zvážit další zkoušky pro zjištění absorpce a biologické dostupnosti zkoušené látky.

2.3 INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Studie prenatalní vývojové toxicity poskytuje informace o účinku opakované expozice látce na březí samice a na nitroděložní vývoj jejich potomstva. Výsledky studie by měly být objasněny v souvislosti s výsledky ze subchronických, reprodukčních, toxikokinetických a dalších studií. Vzhledem k tomu, že se klade důraz jak na výslednou všeobecnou toxicitu z hlediska matky, tak i na vývojovou toxicitu, umožní výsledky této studie do určité míry rozlišit mezi vývojovými účinky vyskytujícími se v nepřítomnosti všeobecné toxicity a mezi účinky vyvolanými pouze na úrovních, které jsou toxické i pro březí zvířata (27).

3. ZPRÁVY3.1**PROTOKOL O ZKOUŠCE**

Protokol o zkoušce musí obsahovat následující specifické informace:

Zkoušená látka:

- fyzikální povaha, a je-li to podstatné, fyzikálně-chemické vlastnosti;
- identifikační údaje, včetně čísla CAS, je-li známo nebo přiděleno;
- čistota.

Vehikulum (je-li použito):

- zdůvodnění výběru jiného vehikula, pokud není použita voda.

Pokusná zvířata:

- použitý druh/kmen;
- počet a stáří zvířat;
- původ, podmínky chovu, strava atd.;
- individuální hmotnosti zvířat na začátku zkoušky.

Zkušební podmínky:

- zdůvodnění výběru úrovně dávky;
- podrobné údaje o přípravě složení zkoušené látky/stravy, dosažené koncentraci, stabilitě a homogenitě přípravku;
- podrobné údaje o podávání zkoušené látky;
- v případě potřeby přepočítání koncentrace zkoušené látky (ppm) ve stravě/pitné vodě na skutečnou dávku (mg na kg tělesné hmotnosti na den), je-li to možné;
- podmínky prostředí;
- podrobné údaje o kvalitě stravy a vody.

Výsledky:

Údaje o toxických reakcích matky podle dávky, např.:

- počet zvířat na začátku zkoušky, počet zvířat, která přežila, počet březích zvířat, počet zvířat, která potratila, a počet zvířat, která předčasně vrhla;
- den úhynu během studie anebo zda zvířata přežila až do dne usmrcení;
- uvedou se údaje o zvířatech, která nepřežila do plánovaného usmrcení, nezahrnou se však do statistických srovnání dat pro skupiny;
- den zjištění každého abnormálního klinického příznaku a jeho následný průběh;
- tělesná hmotnost, změna tělesné hmotnosti a hmotnost gravidní dělohy, včetně případných údajů o změně tělesné hmotnosti korigované o hmotnost gravidní dělohy;
- spotřeba potravy, a měří-li se, spotřeba vody;
- pitevnické nálezy včetně děložní hmotnosti;
- zaznamenají se hodnoty NOAEL účinků na matku a vývojové účinky.

Ukazatele vývojové toxicity podle dávky pro vrhy s implantáty, včetně

- počtu žlutých tělísek;
- počtu zahnízdění, počtu a procenta živých a mrtvých plodů a resorpcí;
- počtu procentuálního podílu před- a post-implantačních ztrát.

Ukazatele vývojové toxicity podle dávky pro vrhy s živými plody, včetně

- počtu a procentuálního podílu živých potomků;
- poměru pohlaví;
- fetální tělesné hmotnosti, pokud možno podle pohlaví a pro obě pohlaví dohromady;
- zevních malformací, malformací měkkých tkání a skeletu a jiných významných odchylek;
- případně kritérií kategorizace;
- celkového počtu a procentuálního podílu plodů a vrhů s jakýmkoli zevními a kosterními odchylkami, odchylkami měkkých tkání a rovněž typů a výskytů individuálních anomálií a jiných významných odchylek.

Diskuse o výsledcích.

Závěry.

4. LITERATURA

- (1) Kavlock R. J. a kol., (1996), A Simulation Study of the Influence of Study Design on the Estimation of Benchmark Doses for Developmental Toxicity. *Risk Analysis*, 16, 399 – 410.
- (2) Kimmel, C. A., Francis, E. Z., (1990), Proceedings of the Workshop on the Acceptability and Interpretation of Dermal Developmental Toxicity Studies. *Fund. Appl. Toxicol.*, 14, 386 – 398.
- (3) Wong, B. A., a kol., (1997), Developing Specialized Inhalation Exposure Systems to Address Toxicological Problems. *CIIT Activities*, 17, 1 – 8.
- (4) US Environmental Protection Agency, (1985), Subpart E-Specific Organ/Tissue Toxicity, 40 CFR 798.4350: Inhalation Developmental Toxicity Study.
- (5) Salewski, E., (1964), Faerbermethode zum Makroskopischen Nachweis von Implantations Stellen am Uterusder Ratte. *Naunyn-Schmeidebergs Archiv für Pharmakologie und Experimentelle Pathologie*, 247, 367.
- (6) Edwards, J. A., (1968), The external Development of the Rabbit and Rat Embryo. In: *Advances in Teratology*. D. H. M. Woolam (ed.), Vol. 3, Academic Press, NY.
- (7) Inouye, M., (1976), Differential Staining of Cartilage and Bone in Fetal Mouse Skeleton by Alcian Blue and Alizarin Red S. *Congenital Anomalies*, 16, 171 – 173.
- (8) Igarashi, E., a kol., (1992), Frequency Of Spontaneous Axial Skeletal Variations Detected by the Double Staining Techniquefor Ossified and Cartilaginous Skeleton in Rat Foetuses. *Congenital Anomalies*, 32, 381 – 391.
- (9) Kimmel, C. A. a kol., (1993), Skeletal Development Following Heat Exposure in the Rat. *Teratology*, 47, 229 – 242.
- (10) Marr, M. C. a kol., (1988), Comparison of Single and Double Staining for Evaluation of Skeletal Development: The Effects of Ethylene Glycol (EG) in CD Rats. *Teratology*, 37, 476.
- (11) Barrow, M. V., Taylor, W. J., (1969), A Rapid Method for Detecting Malformations in Rat Foetuses. *J. Morphol*, 127, 291 – 306.
- (12) Fritz, H., (1974), Prenatal Ossification in Rabbits as Indicative of Foetal Maturity. *Teratology*, 11, 313 – 320.
- (13) Gibson, J. P. a kol., (1966), Use of the Rabbit in Teratogenicity Studies, *Toxicol. Appl. Pharm.*, 9, 398 – 408.
- (14) Kimmel, C. A., Wilson, J. G., (1973), Skeletal Deviation in Rats: Malformations or Variations?, *Teratology*, 8, 309 – 316.

- (15) Marr, M. C. a kol., (1992), Developmental Stages of the CD (Sprague-Dawley) Rat Skeleton after Maternal Exposure to Ethylene Glycol. *Teratology*, 46, 169 – 181.
- (16) Monie, I. W., a kol., (1965), Dissection Procedures for Rat Foetuses Permitting Alizarin Red Staining of Skeleton and Histological Study of Viscera. Supplement to Teratology Workshop Manual, 163 – 173.
- (17) Spark, C., Dawson, A. B., (1928), The Order and Time of appearance of Centers of Ossification in the Fore and Hind Limbs of the Albino Rat, with Special Reference to the Possible Influence of the Sex Factor. *Am. J. Anat.*, 41, 411 – 445.
- (18) Staples, R. E., Schnell, V. L., (1964), Refinements in Rapid Clearing Technique in the KOH-Alizarin Red S Method for Fetal Bone. *Stain Technology*, 39, 61 – 63.
- (19) Strong, R. M., (1928), The Order Time and Rate of Ossification of the Albino Rat (*Mus Norvegicus Albinus*) Skeleton. *Am. J. Anat.*, 36, 313 – 355.
- (20) Stuckhardt, J. L., Poppe, S. M., (1984), Fresh Visceral Examination of Rat and Rabbit Foetuses Used in Teratogenicity Testing. *Teratogen., Carcinogen., Mutagenen.*, 4, 181 – 188.
- (21) Walker, D. G., Wirtschafter, Z. T., (1957), The Genesis of the Rat Skeleton. Thomas, Springfield, IL.
- (22) Wilson, J. G., (1965), Embryological Considerations in Teratology. In *Teratology: Principles and Techniques*, Wilson J.G., Warkany J. (eds.). University of Chicago, Chicago, IL, 251 – 277.
- (23) Wilson, J. G., Fraser, F. C. (1977), *Handbook of Teratology*, Vol. 4, Plenum, NY.
- (24) Varnagy, L., (1980), Use of Recent Fetal Bone Staining Techniques in the Evaluation of Pesticide Teratogenicity. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.*, 28, 233 – 239.
- (25) Staples, R. E., (1974), Detection of visceral Alterations in Mammalian Foetuses. *Teratology*, 9, 37 – 38.
- (26) Van Julsingha, E. B., Bennett, C. G., (1977), A Dissecting Procedure for the Detection of Anomalies in the Rabbit Foetal Head. In: *Methods in Prenatal Toxicology*, Neubert, D., Merker, H. J., Kwasigroch, T.E. (eds.). University of Chicago, Chicago, IL, 126 – 144.
- (27) US Environmental Protection Agency, (1991), Guidelines for Developmental Toxicity Risk Assessment. *Federal Register*, 56, 63798 – 63826.
- (28) Wise, D. L., a kol., (1997), Terminology of Developmental Abnormalities in Common Laboratory Mammals (Version 1) *Teratology*, 55, 249 – 292.

PŘÍLOHA 2G

B.35. DVOUGENERAČNÍ STUDIE REPRODUKČNÍ TOXICITY**1. METODA**

Tato metoda je replikou metody OECD TG 416 (2001).

1.1 ÚVOD

Tato metoda zkoušení dvougenerační reprodukce je určena k získání všeobecných informací týkajících se účinků zkoušené látky na integritu a výkonnost samčí a samičí rozmnožovací soustavy, včetně funkcí pohlavních žláz, estrálního cyklu, způsobu chování při páření, plození, gestaci, vrhu, laktaci, odstavení, růstu a vývoje potomstva. Studie může rovněž poskytnout informace o účinku zkoušené látky na neonatální nemocnost a úmrtnost a předběžné informace o prenatální a postnatální vývojové toxicitě a může sloužit jako návod pro další zkoušky. Mimo zkoumání růstu a vývoje generace F1 je tato zkušební metoda určena rovněž k hodnocení integrity a výkonnosti samčí a samičí rozmnožovací soustavy a rovněž růstu a vývoje generace F2. S cílem získat další informace o vývojové toxicitě a funkčních poruchách lze do tohoto protokolu začlenit další prvky studie, přičemž jako vhodné se jeví metody vývojové toxicity a/nebo vývojové neurotoxicity, anebo lze tyto konečné výsledky zkoumat v samostatných studiích pomocí vhodných metod zkoušení.

1.2 PRINCIP ZKUŠEBNÍ METODY

Zkoušená látka se podává v odstupňovaných dávkách několika skupinám samců a samic. Samcům z generace P se látka podává během růstu a během minimálně jednoho dokončeného spermatogenetického cyklu (přibližně 56 dnů u myši a 70 dnů u potkana), aby bylo možné zachytit jakékoliv nepříznivé účinky na spermatogenezi. Účinky na spermie se stanoví pomocí parametrů pro spermie (např. morfologie a motilita spermií), z pitvy tkání a podrobné histopatologie. Jsou-li k dispozici informace o spermatogenezi z předešlých dostatečně dlouhých studií opakovaného dávkování, např. 90denní studie, není do hodnocení nutné zahrnovat samce z generace P. Tyto vzorky nebo digitální záznamy o spermiích z generace P je však vhodné uchovat pro možnost pozdějšího vyhodnocení. Samicím z generace P se látka podává během růstu a během několika dokončených estrálních cyklů, aby bylo možné odhalit jakékoliv nepříznivé účinky zkoušené látky na normální průběh estrálního cyklu. Zkoušená látka se podává rodičovské (P) generaci zvířat během jejich páření, následně březosti a až do doby odstavení jejich potomstva F1. Po odstavení se u generace F1 v podávání látky pokračuje během růstu až do dospělosti, v průběhu páření a produkce generace F2 a až do doby, kdy dojde k odstavení generace F2.

U všech zvířat se provádějí klinická sledování a patologická vyšetření příznaků toxicity, a to se zvláštním důrazem na její vliv na integritu a výkonnost samčí a samičí rozmnožovací soustavy a na růst a vývoj jejich potomstva.

1.3 POPIS ZKUŠEBNÍ METODY

1.3.1 Výběr živočišných druhů

Nejvhodnějším druhem pro testování je potkan. Použití jiných druhů je třeba zdůvodnit a provést odpovídající úpravy. Nemí vhodné používat kmeny s nižší plodností nebo s typicky vysokým výskytem vývojových vad. Na začátku studie by měly být u používaných zvířat jen minimální odchylky hmotnosti, které by neměly překročit 20 % průměrné hmotnosti u každého pohlaví.

1.3.2 Podmínky chovu a krmení

Teplota v místnosti pro pokusná zvířata by měla být 22 °C (\pm 3 °C, relativní vlhkost vzduchu minimálně 30 %, neměla by překročit 70 %, kromě doby úklidu místnosti, cílem však je hodnota 50 – 60 %. Osvětlení bude umělé se střídáním 12 h světla a 12 h tmy. Ke krmení lze použít konvenční laboratorní stravu s neomezenou dodávkou pitné vody. Výběr stravy může být ovlivněn nutností zajistit vhodnou přísadu zkoušené látky, je-li látka podávána tímto způsobem.

Zvířata lze chovat jednotlivě, anebo je umístit v klecích v malých skupinkách zvířat stejného pohlaví. Páření by mělo probíhat v klecích, které jsou k tomuto účelu vhodné. Po spáření je třeba umístit oplodněné samice individuálně do klecí určených k vrhu nebo chovu mláďat. Oplodněné potkany lze rovněž chovat v malých skupinách a oddělit jeden až dva dny před vrhem. Když se blíží doba vrhu, je nutné oplodněným zvířatům poskytnout odpovídající a přesně stanovený materiál pro tvorbu hnízda.

1.3.3 Příprava zvířat

Použijí se zdravá zvířata, která se alespoň 5 dnů aklimatizovala na laboratorní podmínky a která nebyla podrobena předcházejícím zkušebním postupům. Pokusná zvířata by měla být charakterizována podle druhu, kmene, původu, pohlaví, hmotnosti a/nebo stáří. K dispozici by měly být veškeré informace o sourozeneckých vztazích, aby se nepářili sourozenci. Zvířata se náhodným výběrem rozdělí do kontrolních a experimentálních skupin (doporučuje se rozdělení podle tělesné hmotnosti). Klece by měly být uspořádány tak, aby byl vliv umístění klecí minimalizován. Každému zvířeti se přiřadí vlastní identifikační číslo. U generace P se tato čísla přiřadí před zahájením podávání dávek. U generace F1 je nutné přidělit tato čísla po odstavení zvířat vybraných k páření. U všech vybraných zvířat generace F1 se vedou záznamy označující původ vrhu. Kromě toho se doporučuje individuální identifikace mláďat co nejdříve po narození, kdy se provádí individuální vážení mláďat nebo jakékoliv funkční zkoušky.

Na začátku podávání dávek musí být rodičovská (P) generace zvířat stará přibližně 5 až 9 týdnů. Je-li to možné, měla by mít zvířata ze všech zkušebních skupin stejnou hmotnost a věk.

1.4 POSTUP

1.4.1 Počet a pohlaví zvířat

Každá experimentální i kontrolní skupina by měla obsahovat dostatečný počet zvířat, aby bylo možné získat minimálně 20 březích samic s přibližně stejným termínem vrhu. To pravděpodobně nebude možné u látek, které vyvolávají nežádoucí účinky spojené s aplikací (např. sterilitu, nadměrnou toxicitu při vysoké dávce). Cílem je získat dostatečný počet březích samic, a tím zajistit smysluplné hodnocení potenciálu dané látky na plodnost, březost, chování samice a kojených mláďat, růst a vývoje potomstva generace F1 od doby početí až do doby dospělosti a vývoj jejich potomstva (F2) až do odstavení. Nepodaří-li se však dosáhnout požadovaného počtu březích zvířat (tj. 20), nemusí to nutně znamenat znehodnocení studie, a proto by hodnocení mělo vždy probíhat individuálně případ od případu.

1.4.2 Příprava dávek

Není-li jiný vhodnější způsob aplikace (např. kožní nebo inhalační), doporučuje se orální podávání zkoušené látky (ve stravě, pitné vodě nebo pomocí žaludeční sondy).

Zkoušená látka se v případě potřeby rozpustí nebo suspenduje ve vhodném vehikulu. Je-li to možné, doporučuje se zvážit použití vodného roztoku/suspenze, poté použití roztoku/emulze v oleji (např. v kukuřičném oleji) a nakonec roztoku jiného vehikula. U jiného typu vehikula, než je voda, je třeba znát jeho toxické charakteristiky. Stanoví se stálost zkoušené látky v daném vehikulu.

1.4.3 Dávkování

Použijí se alespoň tři úrovně dávek a souběžná kontrola. Není-li dávka limitována fyzikálně-chemickou podstatou nebo biologickými účinky zkoušené látky, zvolí se nejvyšší úroveň dávky tak, aby vyvolala toxicitu, ale nezpůsobila úhyn nebo značné utrpení. V případě neočekávané úmrtnosti jsou obvykle ještě přijatelné studie s úmrtností rodičovských (P) zvířat nižší než přibližně 10 %. Ve snaze prokázat jakoukoli reakci související s dávkováním a s hodnotou dávky bez pozorovatelného nepříznivého účinku (NOAEL) se zvolí sestupná posloupnost úrovní dávek. Pro nastavení sestupných úrovní dávek jsou obvykle optimální intervaly lišící se faktorem 2 až 4 a často je vhodnější přidání čtvrté zkušební skupiny než používání velkých intervalů mezi jednotlivými dávkami (např. lišících se faktorem 10). U studií stravy by dávky neměly být více než trojnásobné. Při výběru úrovně dávek je třeba vzít v úvahu jakékoliv existující údaje o toxicitě, a to zvláště v případě výsledků studií po opakované dávce. Rovněž je třeba vzít v úvahu jakékoliv existující informace o metabolismu a kinetice zkoušené sloučeniny nebo příbuzných látek. Tyto informace navíc napomohou rovněž při prokazování přiměřenosti dávkovacího režimu.

Kontrolní skupina je neexponovaná skupina nebo kontrolní skupina s vehikulem, pokud se vehikulum pro aplikaci zkoušené látky používá. S výjimkou aplikace zkoušené látky je třeba se zvířaty v kontrolní skupině zacházet stejným způsobem jako se zvířaty v experimentální skupině. Používá-li se vehikulum, podá se kontrolní skupině v nejvyšším používaném objemu. Podává-li se zkoušená látka ve stravě a způsobuje-li snížený příjem nebo využití potravy, pak je třeba zvážit nutnost použití párově krmené kontrolní skupiny. Jinak lze místo souběžné párově krmené kontrolní skupiny použít údaje získané z kontrolovaných studií určených k hodnocení účinků snížené spotřeby potravy na reprodukční parametry.

Pozornost je třeba věnovat následujícím typickým znakům vehikula a jiných přísad: účinku na absorpci, distribuci, metabolismus, a/nebo retenci zkoušené látky, dále vlivu na chemické vlastnosti zkoušené látky, které mohou změnit její toxické vlastnosti, a vlivu na spotřebu potravy, vody nebo nutriční stav zvířat.

1.4.4 Limitní zkouška

Pokud orální studie s jednou úrovní dávky v množství alespoň 1 000 mg na kg tělesné hmotnosti a den a/nebo rovnocenné procento látky v potravě nebo pitné vodě při aplikaci dávky v potravě nebo pitné vodě pomocí postupů předepsaných pro tuto studii nevyvolá žádnou zjištěnou toxicitu ani u rodičovských zvířat, ani u jejich potomstva a pokud se neočekává ani toxicita na základě existujících údajů o strukturně/metabolicky příbuzných sloučeninách, pak není nutné uvažovat o kompletní studii využívající několika úrovní dávek. Limitní zkouška se použije, pokud expozice u člověka nevyžaduje použití vyšší úroveň orální dávky. U dalších způsobů podávání látky, jako je inhalační nebo kožní aplikace, může být maximální dosažitelná úroveň expozice dána fyzikálně-chemickými vlastnostmi zkoušené látky.

1.4.5 Aplikace dávek

Zkoušená látka se podává zvířatům 7 dnů v týdnu. Upřednostňuje se orální způsob podávání (ve stravě, pitné vodě nebo žaludeční sondou). Pokud se používá jiný způsob podávání, je třeba podat zdůvodnění a provést odpovídající modifikace. Všem zvířatům by měla být látka během odpovídajícího experimentálního období podávána stejným způsobem. Je-li látka podávána žaludeční sondou, podává se hadičkou určenou k výplachu žaludku. Množství jednorázově podávané tekutiny by nemělo překročit 1 ml na 100 g tělesné hmotnosti (u kukuřičného oleje maximum představuje dávka 0,4 ml na 100 g tělesné hmotnosti), výjimkou jsou vodní roztoky, kde lze použít 2 ml na 100 g tělesné hmotnosti. S výjimkou dráždivých nebo žíravých látek, které ve vyšších koncentracích obvykle odhalí další zhoršení účinků, se proměnlivost množství zkoušené látky sníží nastavením takové koncentrace, která zajistí konstantní množství na všech úrovních dávek. Ve studiích zaměřených na podávání látky žaludeční sondou budou mláďata dostávat zkoušenou látku obvykle nepřímo prostřednictvím mléka, dokud nezačne přímé dávkování po jejich odstavení. Ve studiích zaměřených na podávání látky ve stravě nebo pitné vodě budou mláďata navíc dostávat zkoušenou látku přímo, jakmile začnou během posledního týdne laktace sama žrát.

U látky podávané ve stravě nebo pitné vodě je velmi důležité zajistit, aby množství použité zkoušené látky nebránilo vyváženosti běžné stravy nebo vody. Je-li zkoušená látka podávána ve stravě, je třeba používat buď konstantní koncentrace (ppm) ve stravě, nebo konstantní úrovně dávky ve vztahu k tělesné hmotnosti zvířete. Použití jiného způsobu je třeba zdůvodnit. Látka podávaná žaludeční sondou se podává každý den přibližně ve stejnou dobu a alespoň jednou týdně se přizpůsobí tak, aby se udržela konstantní úroveň dávky vzhledem k tělesné hmotnosti zvířete. Při přizpůsobování dávky podle hmotnosti u podávání látky sondou je třeba vzít v úvahu informace týkající se placentární distribuce.

1.4.6 Plán zkoušky

S každodenním podáváním zkoušené látky se u rodičovské generace (P) samců a samic zahájí od 5. do 9. týdne věku. Denní podávání látky u samců a samic generace F1 je třeba zahájit po jejich odstavení; stále je třeba mít na paměti, že v případě, kdy se zkoušená látka podává prostřednictvím stravy nebo pitné vody, může docházet k přímé expozici mláďat F1 zkoušené látce již během laktačního období. U obou pohlaví (P i F1) by se mělo s podáváním látky pokračovat alespoň 10 týdnů před obdobím páření. S dávkováním se u obou pohlaví pokračuje i během dvoutýdenního období páření. Nejsou-li samci již potřební k hodnocení reprodukčních účinků, měli by být humánním způsobem utraceni a vyšetřeni. U rodičovské generace (P) samic dávkování pokračuje i během březosti a až do odstavení potomstva generace F1. Pozornost je třeba věnovat modifikacím dávkovacího programu na základě dostupných informací o zkoušené látce, včetně existujících údajů o toxicitě, indukci metabolismu nebo bioakumulaci. Obvykle by dávka pro jednotlivá zvířata měla vycházet z aktuálně zjištěné tělesné hmotnosti. Velkou pozornost je však třeba věnovat úpravě dávek během posledního trimestru březosti.

Podávání látky samcům a samicím generací P a F1 pokračuje až do doby jejich utracení. Všichni dospělí samci a samice generace P a F1 se humánním způsobem utratí, pokud již nejsou potřební k hodnocení reprodukčních účinků. Potomstvo generace F1, které není vybráno k páření, a celé potomstvo generace F2 se po odstavení humánním způsobem utratí.

1.4.7 Páření

1.4.7.1 Přípouštění rodičovské generace (P)

U každého páření se samice umístí s jedním samcem se stejnou úrovní dávek (páření 1:1), dokud nedojde ke spáření, nebo po dobu alespoň 2 týdnů. Každý den se samice vyšetří na přítomnost spermatu nebo vaginální zátky. Nultým dnem březosti je den, kdy je pozorována vaginální zátka a/nebo spermie. V případě, že je páření neúspěšné, se zváží spáření se samci s osvědčenou plodností ze stejné skupiny. Spářené páry se v záznamech jasně označí. Je třeba se vyvarovat páření sourozenců.

1.4.7.2 Páření generace F1

U páření zvířat generace F1 se za účelem produkce generace F2 po odstavení vybere z každého vrhu alespoň jeden samec a samice pro spáření s jinými zvířaty ze stejné dávkové skupiny, ale z odlišného vrhu. Výběr zvířat z každého vrhu se provede náhodně, pokud nejsou mezi zvířaty z daného vrhu pozorovány žádné výrazné odlišnosti v tělesné hmotnosti nebo vzhledu. V případě zjištěných odlišností se z každého vrhu vyberou nejvyšší jedinci. Z hlediska pragmatického by bylo nejlepší tento výběr provádět na základě tělesné hmotnosti, vhodnějším se však může jevit výběr na základě vzhledu. Potomstvo generace F1 by se nemělo pářit před dosažením plné pohlavní zralosti.

Páry bez potomstva, je třeba vyšetřit za účelem zjištění skutečné příčiny neplodnosti. Tento postup může zahrnovat umožnění další příležitosti k oplodnění se zvířetem s osvědčenou plodností, mikroskopické vyšetření reprodukčních orgánů anebo vyšetření estrálního cyklu a spermatogeneze.

1.4.7.3 *Druhé páření*

V určitých případech, jako např. u odchylek velikosti vrhu spojených s aplikací nebo při zjištění nejednoznačného účinku po prvním páření, se doporučuje opětovné připuštění dospělých zvířat z generace P a F1 za účelem produkce druhého vrhu. Rovněž se doporučuje znovu připustit samice nebo samce, u kterých nedošlo k produkci mláďat s osvědčeným zvířaty. Pokud je u jakékoli generace nezbytná produkce druhého vrhu, zvířata budou opakovaně připuštěna přibližně jeden týden po odstavení posledního vrhu.

1.4.7.4 *Velikost vrhu*

Zvířatům se ponechá možnost normálně vrhnout a pečovat o svoje potomstvo až do jeho odstavení. Standardizace velikosti vrhů je dobrovolná. Pokud se standardizace provádí, je nutné používanou metodu detailně popsat.

1.5 POZOROVÁNÍ

1.5.1 **Klinická pozorování**

Všeobecné klinické pozorování se provádí denně a v případě podávání látky žaludeční sondou časový rozvrh zohlední očekávané doby nejvyšších účinků po podání látky. Zaznamenají se významné změny chování, známky ztíženého nebo prodlužovaného vrhu a všechny příznaky toxicity. Alespoň jednou týdně se u každého zvířete provede další podrobnější vyšetření, nejlépe v době vážení zvířete. Dvakrát denně, během víkendu případně jednou denně, se provádí pozorování nemocnosti a úmrtnosti všech zvířat.

1.5.2 **Tělesná hmotnost a spotřeba potravy/vody u rodičovských zvířat**

Rodičovská zvířata (generace P a F1) se zváží v první den podávání látky a poté alespoň jednou týdně. Samice rodičovské generace (P a F1) se zváží 0., 7., 14. a 20. nebo 21. den gestace, během stejných dnů v průběhu laktace, při vážení vrhů a poté v den utracení zvířat. Tato pozorování se zaznamenají individuálně u každého dospělého zvířete. V období před pářením a během gestačního období se spotřeba potravy měří minimálně každý týden. Pokud se látka podává ve vodě, měří se spotřeba vody alespoň jednou týdně.

1.5.3 **Estrální cyklus**

Před pářením a popřípadě i během páření se u samic generace P a F1 hodnotí délka a normalnost estrálního cyklu pomocí vaginálních stěrů, dokud se nezíská důkaz o březnutí. Při získávání vaginálních/cervikálních buněk je třeba neporušit sliznice a následně také nevyvolat stav falešné březosti (1).

1.5.4 Parametry spermatu

U všech samců generace P a F1 se po utracení zaznamená hmotnost varlat a nadvarlat a jeden z každého orgánu se ponechá pro histopatologické vyšetření (viz odstavec 1.5.7, 1.5.8.1). Zbylá varlata a nadvarlata z podskupiny alespoň deseti samců z každé generace P a F1 se použijí pro výpočet homogenizačně odolných spermatid a kaudálních epididymálních rezerv spermií. Od stejné podskupiny samců se shromáždí spermie z kaudálních částí nadvarlat nebo spermie z chámovodů za účelem vyhodnocení jejich motility a morfologie. Pokud se zjistí účinky spojené s aplikací látky anebo jsou z jiných studií k dispozici důkazy o možném účinku na spermatogenezi, provede se hodnocení spermatu u všech samců z každé skupiny podle dávky; jinak se výpočet omezí pouze na samce z kontrolní skupiny a ze skupiny generace P a F1 s vysokou dávkou.

Vypočítá se celkový počet homogenizačně odolných testikulárních spermatid a spermií z kaudální části nadvarlat (2, 3). Kaudální rezervy spermií lze odvodit z koncentrace a objemu spermií v suspenzi používané k doplnění kvalitativních hodnocení a počtu spermií získaných pomocí následného rozřezání a/nebo homogenizování zbylé kaudální tkáně. Pokud nejsou zhotoveny digitální záznamy nebo videozáznamy anebo nejsou-li vzorky zmrazeny a analýza provedena později, je nutné výpočet u vybrané podskupiny samců ze všech dávkových skupin provést okamžitě po utracení zvířat. V těchto případech se nejprve provádí analýza u kontrolní skupiny a u skupiny s vysokou dávkou. Pokud se nezjistí žádné účinky spojené s aplikací (např. vliv na počet, motilitu nebo morfologii spermií), není nutné provádět analýzu u ostatních dávkových skupin. Pokud se zjistí účinky spojené s aplikací u skupiny s vysokou dávkou, je nutné zhodnotit i skupiny s nižšími dávkami.

Motilita epididymálních spermií (nebo spermií z chámovodu) se vyhodnotí nebo zaznamená na video okamžitě po utracení. Spermie se odeberou tak, aby došlo k minimálnímu poškození, a pomocí vhodných metod se zřídí pro analýzu motility (4). Procento progresivně pohyblivých spermií se stanoví subjektivně, nebo objektivně. Pokud se provádí počítačová analýza pohyblivosti (5, 6, 7, 8, 9, 10), spočívá odvození progresivní motility v mezních uživatelsky nastavených hodnotách průměrné rychlosti dráhy a přímosti nebo lineárního koeficientu. Pokud se pořídí videozáznam vzorků (11) anebo jsou zobrazení během pitvy zaznamenána jiným způsobem, stačí provést následnou analýzu pouze u kontrolní skupiny a u skupiny s vysokou dávkou u samců z generací P a F1, pokud nedojde ke zjištění účinků spojených s aplikací. V takovém případě je nutné vyhodnotit rovněž skupiny s nižší úrovní dávek. Pokud nejsou k dispozici žádné digitální záznamy ani videozáznam, analyzují se pitvou všechny vzorky od všech experimentálních skupin.

Provede se morfologické hodnocení vzorků epididymálních spermií (nebo spermií z chámovodů). Spermie (minimálně 200 na vzorek) se vyšetří jako stabilní, mokré preparáty (12) a klasifikují se jako normální nebo abnormální. Příklady morfologických odchylek spermií by měly zahrnovat syntézu, izolované a zdeformované hlavičky a/nebo ocásky. Hodnocení se provádí u vybraných podskupin samců ze všech skupin podle úrovní dávek bezprostředně po utracení zvířat, nebo později na základě digitálních záznamů nebo videozáznamů. Jsou-li stěry zakonzervované, lze je rovněž vyhodnotit později. V takovém případě se analyzuje nejprve kontrolní skupina a skupiny s vysokou dávkou. Pokud se nezjistí žádné účinky spojené s aplikací (např. účinek na morfologii spermií), není nutné analyzovat ostatní dávkové skupiny. Pokud se zjistí účinky spojené s aplikací u skupiny s vysokou dávkou, pak je nutné zhodnotit i skupiny s nižšími dávkami.

Pokud již byly kterékoliv výše zmíněné parametry spermií zkoumány v rámci nejméně 90 dnů trvající studie systémové toxicity, není nutné je v rámci dvougenerační studie opakovat. Doporučuje se však veškeré vzorky nebo digitální záznamy spermií z generace P uchovat pro pozdější hodnocení.

1.5.5 **Potomstvo**

Vrhy se vyšetří co nejdříve po vrhu (v nultý den laktace), aby bylo možné stanovit počet a pohlaví mládat, počet mrtvých a živě narozených mládat a přítomnost nápadných anomálií. Mládata, která byla nalezena mrtvá v den 0, se vyšetří na možné defekty a příčinu smrti (nejsou-li rozložena) a posléze se uchovají. Živá mládata se spočítají, každé se ihned po narození zváží (v nultý den laktace) nebo během 1. dne a poté v pravidelných intervalech, např. v 4., 7., 14., a 21. den laktace. Zaznamenají se fyzické nebo behaviorální abnormality zjištěné u samic nebo jejich potomstva.

Fyzický vývoj u potomstva se zaznamenává hlavně podle přírůstku tělesné hmotnosti. Další fyzické parametry (např. otevření uší a očí, prořezávání zubů, růst srsti) mohou poskytnout doplňkové informace, ale u těchto údajů se dává přednost hodnocení v kontextu údajů o pohlavní zralosti (např. stáří a tělesná hmotnost při vaginálním otevření nebo odpojení předkožky) (13). Doporučuje se provést funkční vyšetření (např. pohybová aktivita, smyslové funkce, reflexní ontogeneze) potomstva generace F1 před a/nebo po odstavení, a to zvláště vyšetření týkající se pohlavní zralosti, nejsou-li taková vyšetření součástí samostatných studií. U odstavených potomků generace F1 vybraných k připuštění je třeba stanovit stáří, ve kterém došlo k vaginálnímu otevření a odloučení předkožky. U mládat generace F2 je třeba změřit anogenitální vzdálenost během postnatálního dne 0, je-li vyvolána změnami v poměru pohlaví u generace F1 nebo načasováním pohlavní zralosti.

Funkční sledování lze vynechat u skupin, které jinak vykazují jasné známky nepříznivých účinků (např. významné snížení přírůstku hmotnosti atd.). Pokud se provádí funkční vyšetření, nemělo by se provádět u mládat vybraných k páření.

1.5.6 **Celková pitva**

Po utracení nebo uhynutí během studie se všechna zvířata rodičovské generace (P a F1), všechna mládata se zevními odchylkami nebo klinickými známkami a rovněž jedno náhodně vybrané mládě z každého pohlaví a vrhu z obou generací F1 a F2 makroskopicky vyšetří na jakékoliv strukturální abnormality anebo patologické změny. Speciální pozornost je třeba věnovat orgánům rozmnožovací soustavy. U mládat, která jsou humánním způsobem utracena ve stavu agónie, a u mrtvých mládat, která nejsou rozložena, se provede vyšetření za účelem zjištění možných defektů a/nebo příčiny uhynutí. Mládata se uchovají.

Děloha všech prvorodiček se vyšetří na přítomnost a počet zachycených vajíček v děloze způsobem, který nebude mít vliv na histopatologické hodnocení.

1.5.7 Hmotnost orgánů

V okamžiku utracení se u všech rodičovských zvířat generace P a F1 stanoví tělesná hmotnost a hmotnost těchto orgánů (párové orgány je třeba vážit jednotlivě):

- děloha, vaječníky;
- varlata, nadvarlata (celkem a kaudální);
- prostata;
- semenné vajíčky s koagulačními žlázami a jejich tekutinami a s prostatou (jako jedna jednotka);
- mozek, játra, ledviny, slezina, hypofýza, štítná žláza a nadledvinky a známé cílové orgány.

U mláďat generace F1 a F2 vybraných k pitvě se stanoví tělesná hmotnost v okamžiku utracení. U jednoho náhodně vybraného mláděte z každého pohlaví a vrhu (viz odstavec 1.5.6) se zváží tyto orgány: mozek, slezina a brzlík.

Je-li to proveditelné, zhodnotí se výsledky celkové pitvy a hmotnosti orgánů v souvislost s výsledky zjištěnými v jiných studiích opakovaného dávkování.

1.5.8 Histopatologie

1.5.8.1 Rodičovská zvířata

Pro histopatologické vyšetření se připraví a ve vhodném prostředí uchovají tyto orgány a tkáně rodičovských zvířat (P a F1) nebo jejich reprezentativní vzorky:

- vagina, děloha s děložním hrdlem a vaječníky (uložené ve vhodném konzervačním prostředku);
- jedno varle (uložené v Bouinově roztoku nebo jiném srovnatelném prostředku), jedno nadvarle, semenné vajíčky, prostata a koagulační žláza;
- již dříve určený cílový orgán nebo orgány od všech zvířat generace P a F1 vybraných k páření.

U všech zvířat generace P a F1 ze skupiny s vysokou dávkou a z kontrolní skupiny vybraných k páření se provede kompletní histopatologické vyšetření všech výše vyjmenovaných uchovaných orgánů a tkání. Vyšetření vaječníků u zvířat generace P není povinné. Provede se rovněž vyšetření orgánů vykazujících změny spojené s aplikací látky u zvířat ze skupiny s nízkou a střední dávkou, které mohou napomoci stanovit dávku NOAEL. Histopatologické vyšetření se navíc provede u reprodukčních orgánů zvířat ze skupiny s nízkou a střední dávkou, u kterých je podezření na sníženou plodnost, např. u těch, u kterých nedošlo k páření, březnutí, zplodnění nebo k vrhu zdravého potomstva nebo u kterých byl ovlivněn estrální cyklus nebo počet, motilita nebo morfologie spermií. Vyšetří se všechny makroskopické léze, jako např. atrofie nebo tumory.

Za účelem zjištění účinků spojených s aplikací, jako jsou např. nevyvinuté spermatidy, chybějící vrstva nebo typ zárodečných buněk, mnohojaderné obří buňky nebo rozrušení spermatických buněk v dutině, se provede podrobné histopatologické vyšetření varlat (např. pomocí Bouinova roztoku, zalití do parafínu a příčných řezů o tloušťce 4 – 5 µm) (14). Vyšetření intaktního nadvarlete by mělo zahrnovat vyšetření hlavy, těla a kaudální části, čehož lze dosáhnout vyhodnocením podélného řezu. U nadvarlete se vyšetří leukocytová infiltrace, změna v prevalenci typů buněk, aberantní typy buněk a fagocytóza spermií. K vyšetření samčí rozmnožovací soustavy lze použít PAS a hematoxylin.

Postlaktanční vaječník by měl obsahovat původní a rostoucí folikuly a rovněž zvětšená žlutá tělíška z období laktace. Histopatologické vyšetření by mělo odhalit kvalitativní snížení celkového počtu původních folikulů. U samic generace F1 se provede kvantitativní vyhodnocení původních folikulů. K vyhodnocení použitého postupu je nutné mít statisticky odpovídající počet zvířat, výběr řezů vaječníků a velikost vzorků řezů. S cílem umožnit srovnání vaječníků u testované a kontrolní skupiny by mělo vyšetření zahrnovat výpočet počtu původních folikulů, které lze zkombinovat s malými rostoucími folikuly (15, 16, 17, 18, 19).

1.5.8.2 *Odstavená mláďata*

Pro histopatologické vyšetření se ve vhodném prostředí připraví a uchová makroskopicky abnormální tkáň a cílové orgány od všech mláďat se zevními odchylkami nebo klinickými příznaky a rovněž od jednoho náhodně vybraného mláděte z každého pohlaví a vrhu z obou generací F1 a F2, které nebyly vybrány k páření. Kompletní histopatologická charakterizace uchovaných tkání se provede se speciálním důrazem na orgány rozmnožovací soustavy.

2. ÚDAJE

2.1 ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ

Výsledky se zaznamenávají individuálně a shrnou se do tabulek tak, aby byl u každé experimentální skupiny a každé generace uveden počet zvířat na začátku zkoušky, počet zvířat uhynulých během zkoušky nebo utracených z humanitních důvodů, doba úhynu nebo humanitního utracení, počet plodných samic, počet březích samic, počet zvířat vykazujících příznaky toxicity, popis pozorovaných příznaků toxicity včetně doby nástupu, trvání a závažnosti veškerých toxických účinků, typy pozorování rodičovských zvířat a jejich potomstva a všechny významné údaje o vrhu.

Numerické výsledky se vyhodnotí pomocí vhodné, všeobecně uznávané statistické metody; metody se zvolí v rámci návrhu studie a je třeba je zdůvodnit. Pro analýzu dat je vhodné použít statistické modely dávka-odezva. Protokol by měl obsahovat dostatečné informace o použité metodě analýzy a počítačovém programu, aby mohl tuto analýzu znovu vyhodnotit a rekonstruovat nezávislý statistik.

2.2 HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

Výsledky této dvougenerační studie reprodukční toxicity se vyhodnotí ve vztahu k pozorovaným účinkům včetně pitvy a mikroskopických nálezů. V hodnocení musí být uvedeno, zda existuje nebo neexistuje souvislost mezi dávkou zkoušené látky a přítomností nebo nepřítomností, výskytem a závažností abnormalit včetně makroskopických lézí stanovených cílových orgánů, vlivu na plodnost, klinických abnormalit, vlivu na reprodukční výkonnost a schopnost vrhu, změny tělesné hmotnosti, vlivu na úmrtnost a další toxické účinky. Při hodnocení výsledků zkoušky se přihlédne k fyzikálně-chemickým vlastnostem zkoušené látky a toxikokinetickým údajům, jsou-li k dispozici.

Správně provedená zkouška reprodukční toxicity by měla zajistit dostačující odhad úrovně dávky bez účinku a vysvětlení nepříznivých účinků na reprodukci, vrh, laktaci, postnatální vývoj včetně růstu a pohlavního vývoje.

2.3 INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Dvougenerační studie reprodukční toxicity poskytne informace o účinku opakované expozice látky během všech fází reprodukčního cyklu. Studie zejména poskytne informace o reprodukčních parametrech a o vývoji, růstu, dozrávání a přežívání potomstva. Výsledky studie se interpretují v souvislosti s výsledky ze subchronických, reprodukčních, toxikokinetických a dalších studií. Výsledky této studie lze použít k posouzení potřeby dalšího zkoušení chemické látky. Extrapolace výsledků této studie na člověka platí pouze v omezené míře. Největší význam těchto výsledků spočívá v tom, že poskytují informace o úrovni dávky bez účinků a o přípustné expozici člověka (20, 21, 22, 23).

3. ZPRÁVY**PROTOKOL O ZKOUŠCE**

Protokol o zkoušce musí obsahovat následující informace:

Zkoušená látka:

- fyzikální vlastnosti, a je-li to podstatné, též fyzikálně-chemické vlastnosti;
- identifikační údaje;
- čistota.

Vehikulum (je-li použito):

- zdůvodnění výběru jiného vehikula, pokud není použita voda.

Pokusná zvířata:

- použitý druh a kmen;
- počet, stáří a pohlaví zvířat;
- původ, podmínky chovu, strava, materiál na výrobu hnízda atd.;
- hmotnost jednotlivých zvířat na začátku zkoušky.

Zkušební podmínky:

- zdůvodnění výběru úrovně dávky;
- podrobné údaje o složení zkoušené látky/krmiva, o dosažené koncentraci;
- stabilita a homogenita přípravku;
- podrobné údaje o podávání zkoušené látky;
- v případě potřeby přepočet koncentrace zkoušené látky (ppm) ve stravě/pitné vodě na skutečnou dávku (mg na kg tělesné hmotnosti na den), je-li to možné;
- podrobné údaje o kvalitě stravy a vody.

Výsledky:

- spotřeba stravy a vody, jsou-li k dispozici, využití stravy (přírůstek tělesné hmotnosti na gram spotřebované potravy) a spotřeba zkoušené látky u zvířat generace P a F1 s výjimkou období kohabitace a minimálně poslední třetiny laktace;
- údaje o absorpci (jsou-li k dispozici);
- údaje o tělesné hmotnosti zvířat z generace P a F1 vybraných k páření;
- údaje o hmotnosti vrhu a mláďat;
- tělesná hmotnost při utracení a údaje o absolutní a relativní hmotnosti orgánů u rodičovských zvířat;
- povaha, závažnost a trvání klinických pozorování (vratných i nevratných);
- den úhynu během studie nebo údaj, že zvířata přežila až do dne utracení;
- údaje o toxické reakci podle pohlaví a dávky, včetně koeficientů páření, plodnosti, gestace, porodnosti, životaschopnosti a laktace; zpráva by měla uvádět údaje využité při výpočtu těchto koeficientů;
- toxické nebo jiné účinky na reprodukci, potomstvo, postnatální růst atd.;
- pitevní nálezy;
- podrobný popis všech histopatologických nálezů;
- počet samic s normálním cyklem z generace P a F1 a délka cyklu;
- celkový počet kaudálních epididymálních spermií, procento progresivně pohyblivých spermií, procento morfologicky normálních spermií a procento spermií se všemi identifikovanými abnormalitami;
- doba do páření včetně počtu dnů před pářením;
- délka gestace;
- počet implantátů, žlutých tělísek, velikost vrhu;
- počet živě narozených mláďat a postimplantačních ztrát;
- počet mláďat s makroskopicky viditelnými abnormalitami a počet zakrslých mláďat, pokud byl zjišťován;
- údaje o fyzických vývojových znacích u mláďat a další údaje o postnatálním vývoji; hodnocené fyzické vývojové znaky je nutno zdůvodnit;
- případně údaje o funkčním pozorování mláďat a dospělých zvířat;
- statistické vyhodnocení výsledků, je-li to možné.

Rozbor výsledků.

Závěry včetně hodnot NOAEL pro účinky na samice a potomstvo.

4. **LITERATURA**

- (1) Sadleir, R. M. F. S., (1979). Cycles and Seasons, In: Reproduction in Mammals: I. Germ Cells and Fertilization, Auston, C. R., Short, R. V (eds.), Cambridge, New York.
- (2) Gray, L. E., a kol., (1989). A Dose-Response Analysis of Methoxychlor-Induced Alterations of Reproductive Development and Function in the Rat. *Fund. Applied Toxic.*, 12, 92 – 108.
- (3) Robb, G. W. a kol., (1978). Daily Sperm Production and Epididymal Sperm Reserves of Pubertal and Adult Rats. *J. Reprod. Fertility*, 54, 103 – 107.
- (4) Klinefelter, G. R. a kol., (1991). The Method of Sperm Collection Significantly Influences Sperm Motion Parameters Following Ethane Dimethanesulfonate Administration in the Rat. *Reproductive Toxicology*, 5, 39 – 44.
- (5) Seed, J. a kol. (1996). Methods for Assessing Sperm Motility, Morphology, and Counts in the Rat, Rabbit, and Dog: a Consensus Report. *Reproductive Toxicology* 10(3), 237 – 244.
- (6) Chapin, R. E. a kol., (1992). Methods for Assessing Rat Sperm Motility. *Reproductive Toxicology*, 6, 267 – 273.
- (7) Klinefelter, G. R. a kol., (1992). Direct Effects of Ethane Dimethanesulphonate on Epididymal Function in Adult Rats: an In Vitro Demonstration. *J. Andrology*, 13, 409 – 421.
- (8) Slott, V. L., a kol., (1991). Rat Sperm Motility Analysis: Methodologic Considerations. *Reproductive Toxicology*, 5, 449 – 458.
- (9) Slott, V. L., Perreault, S. D., (1993). Computer – Assisted Sperm Analysis of Rodent Epididymal Sperm Motility Using the Hamilton-Thorn Motility Analyzer. In: Methods in Toxicology, Part A., Academic, Orlando, Florida, 319 – 333.
- (10) Toth, G. P. a kol., (1989). The Automated Analysis of Rat Sperm Motility Following Subchronic Epichlorhydrin Administration: Methodologic and Statistical Considerations. *J. Andrology*, 10, 401 – 415.
- (11) Working, P. K., Hurtt, M., (1987). Computerized Videomicrographic Analysis of Rat Sperm Motility. *J. Andrology*, 8, 330-337.
- (12) Linder, R. E. a kol., (1992). Endpoints of Spermatotoxicity in the Rat After Short Duration Exposures to Fourteen Reproductive Toxicants. *Reproductive Toxicology*, 6, 491 – 505.

- (13) Korenbrot, C. C. a kol., (1977). Preputial Separation as an External Sign of Pubertal Development in the Male Rat. *Biological Reproduction*, 17, 298 – 303.
- (14) Russell, L. D. a kol., (1990). *Histological and Histopathological Evaluation of the Testis*, Cache River Press, Clearwater, Florida.
- (15) Heindel, J. J., Chapin, R. E. (vyd.) (1993). Part B. Female Reproductive Systems, *Methods in Toxicology*, Academic, Orlando, Florida.
- (16) Heindel, J. J., a kol., (1989). Histological Assessment of Ovarian Follicle Number in Mice As a Screen of Ovarian Toxicity. In: *Growth Factors and the Ovary*, A. N. Hirshfield (ed.), Plenum, New York, 421 – 426.
- (17) Manson, J. M., Kang, Y. J., (1989). Test Methods for Assessing Female Reproductive and Developmental Toxicology. In: *Principles and Methods of Toxicology*, A. W. Hayes (ed.), Raven, New York.
- (18) Smith, B. J., a kol., (1991). Comparison of Random and Serial Sections in Assessment of Ovarian Toxicity. *Reproductive Toxicology* 5, 379 – 383.
- (19) Heindel, J. J., (1999). Oocyte Quantitation and Ovarian Histology. In: *An Evaluation and Interpretation of Reproductive Endpoints for Human Health Risk Assessment*, G. Daston, C. A. Kimmel (eds.), ILSI Press, Washington, DC.
- (20) Thomas, J. A., (1991). Toxic Responses of the Reproductive System. In: *Casarett and Doull's Toxicology*, M.O. Amdur, J. Doull, and C.D. Klaassen (eds.), Pergamon, New York.
- (21) Zenick, H., Clegg, E. D., (1989). Assessment of Male Reproductive Toxicity: A Risk Assessment Approach. In: *Principles and Methods of Toxicology*, A. W. Hayes (ed.), Raven Press, New York.
- (22) Palmer, A. K., (1981). In: *Developmental Toxicology*, C.A. Kimmel J. Buelke-Sam (eds.), Raven Press, New York.
- (23) Palmer, A. K., (1978). In: *Handbook of Teratology*, Vol. 4, J. G. Wilson, F.C. Fraser (eds.), Plenum Press, New York.

PŘÍLOHA 2H

B.42. SENZIBILIZACE KŮŽE: ZKOUŠKA S VYŠETŘENÍM LOKÁLNÍCH LYMFATICKÝCH UZLIN**1. METODA**

Tato zkušební metoda je rovnocenná metodě OECD TG 429 (2002).

1.1 ÚVOD

Zkouška s vyšetřením lokálních lymfatických uzlin (LLNA) byla dostatečně validována a uznána, což opravňuje její přijetí jako nové metody (1, 2, 3). Jedná se o druhou metodu zaměřenou na hodnocení schopnosti chemických látek senzibilizovat kůži zvířat. První metoda (B.6) využívá zkoušek na morčatech, a to zvláště maximalizační zkoušku na morčatech a Bühlerův test (4).

LLNA představuje alternativní metodu pro identifikaci chemických látek způsobujících senzibilizaci kůže a pro potvrzení, že chemické látky nemají významný potenciál senzibilizovat kůži. To však neznamená, že by se metoda LLNA měla používat ve všech případech místo zkoušek na morčatech; znamená to spíše, že tato metoda má stejnou hodnotu a že ji lze použít jako alternativní metodu, jejíž pozitivní ani negativní výsledky již nevyžadují žádné další potvrzování.

LLNA poskytuje určité výhody, pokud jde o vědecký pokrok a dobré zacházení se zvířaty. Metoda zkoumá indukční fázi senzibilizace kůže a poskytuje kvantitativní údaje, které jsou vhodné pro hodnocení vztahu dávky a odezvy. Podrobné údaje o validaci metody LLNA a přehled prací spojených s touto metodou byly publikovány (5, 6, 7, 8). Kromě toho je třeba poznamenat, že mírně nebo středně silně senzibilizující látky, které se doporučují jako vhodné pozitivní kontrolní látky u zkoušek na morčatech, jsou vhodné také pro metodu LLNA (6, 8, 9).

LLNA je metodou *in vivo* a jako taková neeliminuje používání zvířat při hodnocení senzibilizující aktivity působící kontaktem. Tato metoda však umožňuje snížit počet zvířat, která jsou k tomuto účelu nezbytná. Kromě toho LLNA nabízí podstatné zlepšení zacházení se zvířaty, která jsou používána ke zkoušení kontaktní senzibilizace. Metoda LLNA je založená na posouzení imunologických jevů navozených chemickými látkami během indukční fáze senzibilizace. Na rozdíl od zkoušek na morčatech metoda LLNA nevyžaduje umělé vyvolání kožní přecitlivělosti. Kromě toho metoda LLNA nevyžaduje ani používání adjuvantu, jak je tomu v případě maximalizační zkoušky na morčatech. Díky tomu metoda LLNA snižuje utrpení zvířat. Ale i přes výhody, které má metoda LLNA ve srovnání s tradičními maximalizačními zkouškami na morčatech, je třeba si uvědomit, že zde existují určitá omezení, která si mohou vyžádat použití tradičních zkoušek na morčatech (např. falešně negativní výsledky při použití LLNA s určitými kovy, falešně pozitivní výsledky u určitých látek způsobujících podráždění kůže) (10).

Viz také Úvod část B.

1.2 PRINCIP ZKUŠEBNÍ METODY

Základní princip metody LLNA spočívá v tom, že senzibilizátory navozují primární proliferaci lymfocytů v lymfatických uzlinách drenujících místo aplikace chemické látky. Tato proliferace je úměrná aplikované dávce (a potenciálu alergenu) a poskytuje jednoduchý prostředek k získání objektivního kvantitativního měření senzibilizace. LLNA ji hodnotí jako vztah dávka odezva a za tímto účelem se porovnává proliferace ve zkušebních skupinách s proliferací u skupin, kterým se podává vehikulum. Poměr proliferace u exponovaných skupin a u skupin s vehikulem, nazvaný index stimulace, musí být alespoň 3, aby bylo možné zkoušenou látku dále hodnotit jako případný senzibilizátor kůže. Metody, které jsou zde popsány, jsou založené na využívání radioaktivního značení k měření buněčné proliferace. Hodnocení této proliferace je však možné opřít i o další závěrečná zjištění, a to za předpokladu, že jsou zdůvodněná a existují pro ně vhodné vědecké důkazy, včetně úplných citací a popisu metodiky.

1.3 POPIS ZKUŠEBNÍ METODY

1.3.1 Přípravy

1.3.1.1 Podmínky chovu a krmení

Teplota v místnosti pro pokusná zvířata by měla být 22 °C (\pm 3 °C), relativní vlhkost vzduchu minimálně 30 % a pokud možno nepřesáhnout 70 %, kromě doby úklidu místnosti, cílem však je hodnota 50 – 60 %. Osvětlení bude umělé se střídáním 12 h světla a 12 h tmy. Ke krmení lze použít konvenční laboratorní stravu s neomezenou dodávkou pitné vody.

1.3.1.2 Příprava zvířat

Zvířata se náhodně vyberou, pro usnadnění individuální identifikace se označí (v žádném případě formou značení uší), a chovají se v klecích minimálně 5 dnů před začátkem podávání látky, aby se mohla přizpůsobit laboratorním podmínkám. Před začátkem aplikace látky se všechna zvířata vyšetří, aby se ověřilo, že nemají žádné pozorovatelné kožní léze.

1.3.2 Zkušební podmínky

1.3.2.1 Pokusná zvířata

Vhodným druhem pro tuto zkoušku je myš. Používají se mladé dospělé samice myší z kmene CBA/Ca nebo CBA/J, které musí být nullipary a nesmějí být březí. Na začátku podávání dávek by zvířata měla být přibližně 8 až 12 týdnů stará a odchylky v hmotnosti zvířat by měly být pouze minimální a neměly by překročit 20 % průměrné hmotnosti. Ostatní kmeny a samci by se měli používat pouze tehdy, je-li k dispozici dostatek údajů, které by dokazovaly, že v rámci reakcí v metodě LLNA skutečně neexistují žádné specifické odlišnosti mezi kmeny a/nebo pohlavími.

1.3.2.2 Kontrola spolehlivosti

Pozitivní kontroly se používají k prokázání řádného provedení zkoušky a odborné způsobilosti laboratoře úspěšně provést zkoušku. Pozitivní kontrola by měla vyvolat pozitivní reakci na LLNA při úrovni expozice, u které se očekává zvýšení indexu stimulace (SI) $>$ 3 ve srovnání s negativní kontrolní skupinou. Je třeba zvolit takovou pozitivní kontrolní dávku, aby reakce byla zřetelná, nikoliv však přehnaná. K preferovaným látkám patří 2-benzylidenoktanal (CAS 101-86-0, EINECS 202-983-3) a 2-sulfanylbenzothiazol (CAS 149-30-4, EINECS 205-736-8). Mohou existovat určité okolnosti, za nichž lze při řádném zdůvodnění použít jiné kontrolní látky, které splňují výše uvedená kritéria. I když se pro každou zkoušku obvykle vyžaduje pozitivní kontrolní skupina, mohou se rovněž vyskytnout situace, kdy mají zkušební laboratoře k dispozici předchozí údaje o pozitivní kontrole prokazující homogenitu dostatečné reakce během šesti měsíců nebo delšího časového období. V takovém případě může být vhodnější méně četné testování s pozitivními kontrolami v intervalech, které by neměly být delší než 6 měsíců. Ačkoliv by se pozitivní kontrolní látky měly testovat ve vehikulu, o kterém je známo, že vyvolává stále stejnou reakci (např. aceton, olivový olej), mohou nastat určité situace, kdy je z důvodů požadovaných v právních předpisech nezbytné provést zkoušku s použitím nestandardního vehikula (klinicky/chemicky relevantní receptura přípravku). V takovém případě je třeba testovat možnou interakci pozitivní kontroly s tímto nestandardním vehikulem.

1.3.2.3 Počet zvířat, úrovně dávek a výběr vehikula

Na každou dávkovou skupinu se použijí alespoň čtyři zvířata, přičemž se použijí minimálně tři koncentrace zkoušené látky, dále se použije negativní kontrolní skupina, které se podává pouze vehikulum zkoušené látky, a v případě potřeby pozitivní kontrola. Jestliže se shromažďují údaje o jednotlivých zvířatech, použije se na každou dávkovou skupinu minimálně pět zvířat. S výjimkou aplikace zkoušené látky se se zvířaty v kontrolní skupině zachází stejným způsobem jako se zvířaty v experimentální skupině.

Volba dávkování a vehikula by měla být založena na doporučeních uvedených v literatuře (1). Dávky se vybírají z řady koncentrací 100 %, 50 %, 25 %, 10 %, 5 %, 2,5 %, 1 %, 0,5 % atd. Při výběru tří po sobě jdoucích koncentrací je třeba zvážit již existující údaje o akutní toxicitě a kožní dráždivosti, jsou-li k dispozici, aby nejvyšší koncentrace maximalizovala expozici, ale aby současně nevyvolala systémovou toxicitu a nadměrné podráždění kůže (2, 11).

Vehikulum by mělo být vybráno tak, aby se maximalizovaly zkušební koncentrace a rozpustnost k přípravě roztoku/suspenze vhodné pro aplikaci zkoušené látky. Upřednostňují se vehikula v následujícím pořadí: aceton/olivový olej (4:1 obj.), *N,N*-dimethylformamid, ethyl(methyl)keton, propan-1,2-diol a dimethylsulfoxid (2, 10), jsou-li předloženy dostatečné vědecké důvody, mohou být použita i jiná vehikula. V určitých případech může být nezbytné použít jako doplňující kontrolu klinicky relevantní rozpouštědlo nebo běžný přípravek, v němž je zkoušená látka uváděna na trh. Zvláštní pozornost je třeba věnovat zajištění toho, aby byly hydrofilní materiály zapracovány do takového vehikula, které zvlhčí kůži a nesteče ihned z pokožky. Z tohoto důvodu není vhodné používat zcela vodná vehikula.

1.3.3 Zkušební postup

1.3.3.1 Harmonogram zkoušky

Harmonogram zkoušky je následující:

- *Den 1:*

Každé zvíře se zváží a zaznamená se jeho hmotnost. Proveďte se otevřená aplikace 25 μ l příslušného ředění zkoušené látky, samotného vehikula nebo případně pozitivní kontrolní látky na dorsální část obou uší.

- *Den 2 a 3:*

Zopakujte se postup aplikace provedený v den 1.

- *Den 4 a 5:*

Žádná aplikace.

- *Den 6:*

Zaznamená se hmotnost každého zvířete. Přes ocasní žílu se všem pokusným i kontrolním myším vpíchne 250 μ l fyziologického roztoku ve fosfátovém pufru (PBS), obsahujícího 20 μ Ci ($7,4 \cdot 10^5$ Bq) [3 H]thymidinu (tritiovaném na metylu), nebo lze všem myším přes ocasní žílu vpíchnout 250 μ l PBS obsahujícího 2 μ Ci ($7,4e + 8 \cdot 10^4$ Bq) [125 I]joddeoxyuridinu a 10^{-5} M fluorodeoxyuridinu.

O pět hodin později se myši usmrtí. Drenující aurikulární lymfatické uzliny z obou uší se vyjmou a shromáždí se v PBS společně pro celou zkušební skupinu (metoda sdružení exponované skupiny), nebo se od každého zvířete vyjme pár lymfatických uzlin a tento pár se uloží do PBS (metoda individuálního přístupu ke zvířatům). Podrobnosti a grafické znázornění označení uzlin a jejich disekce lze nalézt v příloze I v literatuře 10.

1.3.3.2 Příprava buněčné suspenze

Jedna společná buněčné suspenze s buňkami lymfatických uzlin (LNC) buď od celé exponované skupiny, nebo jejich párů od jednotlivých zvířat se připraví pomocí jemné mechanické deagregace přes 200 µm sítko z korozivzdorné oceli. Lymfatické buňky se dvakrát propláchnou v dostatečném množství PBS a nechají se vysrážet v roztoku s 5 % trichloroctovou kyselinou (TCA) při 4 °C po dobu 18 h (2). Sediment se buď resuspenduje v 1 ml TCA a přemístí do scintilačních kyvet obsahujících 10 ml kapalného scintilátoru pro měření aktivity ³H, nebo se přenese přímo do zkumavek pro měření aktivity ¹²⁵I.

1.3.3.3 Stanovení buněčné proliferace (inkorporované radioaktivity)

Inkorporace [³H]thymidinu se měří β-scintilační metodou a vyjádří se v rozpadech za minutu (dpm). Inkorporace [¹²⁵I]joddeoxyuridinu se měří prostřednictvím aktivity ¹²⁵I a rovněž se vyjádří v dpm. V závislosti na použitém přístupu se inkorporace vyjádří v dpm na zkušební skupinu (metoda sdružení) nebo v dpm na zvíře (individuální přístup).

1.3.3.4 Pozorování

1.3.3.4.1 Klinická pozorování

Zvířata se jednou denně pečlivě vyšetří na jakékoli klinické příznaky, ať již ve formě lokálního podráždění v místě aplikace, nebo ve formě systémové toxicity. Všechna sledování se systematicky zaznamenávají, přičemž záznamy se vedou zvlášť pro každé zvíře.

1.3.3.4.2 Tělesná hmotnost

Jak je uvedeno v odstavci 1.3.3.1, tělesnou hmotnost u jednotlivých zvířat je třeba zaznamenat na začátku zkoušky a v den plánovaného usmrcení zvířat.

1.3.4 Výpočet výsledků

Výsledky se vyjádří jako index stimulace (SI). Při metodě sdružení exponované skupiny se SI stanoví jako podíl sdružené inkorporované aktivity u jednotlivých experimentálních skupin a sdružené radioaktivity kontrolní skupiny s vehikulem; získá se tak průměrná hodnota SI. Při individuálním přístupu se SI stanoví jako podíl průměrné hodnoty dpm na zvíře jak u každé exponované skupiny, tak u pozitivní kontrolní skupiny, a průměrné hodnoty dpm na zvíře u kontrolní skupiny s rozpouštědlem/vehikulem. Průměrná hodnota SI pro kontrolní skupiny s vehikulem je proto 1.

Použití individuálního přístupu při výpočtu SI umožní provést statistickou analýzu dat. Při výběru vhodné metody pro statistickou analýzu si musí být experimentátor vědom možných nestejných odchylek a jiných souvisejících problémů, které si mohou vyžádat transformaci dat nebo neparametrickou statistickou analýzu. Správný přístup k analýze dat spočívá ve vyhodnocení všech jednotlivých dat exponovaných kontrol a kontrol s vehikulem a odvození nejhodnější křivky závislosti odezvy na dávce, přičemž je třeba zohlednit intervaly spolehlivosti (8, 12, 13). V každém případě si však experimentátor musí uvědomovat možné „odlehle“ reakce u jednotlivých zvířat v rámci skupiny, které mohou vyžadovat použití jiného hodnocení odezvy (např. použití mediánu namísto průměru) nebo vyřazení těchto odlehklých hodnot.

Do rozhodování, zda jde o pozitivní odezvu, se zahrnuje index stimulace ≥ 3 a zohledňuje se závislost odezvy na dávce a popřípadě statistická významnost (3, 6, 8, 12, 14).

Je-li nezbytné objasnit získané výsledky, je třeba věnovat pozornost různým vlastnostem zkoušené látky, včetně toho, zda se její struktura podobá struktuře známých senzibilizátorů kůže, zda způsobuje nadměrné podráždění kůže a také povaze zjištěné závislosti odezvy na dávce. Těmito body a dalšími úvahami se podrobně zabývá literatura (7).

2. DATA

Data se shrnou do tabulky, přičemž pro každou dávkovou skupinu se uvedou průměrné a individuální hodnoty dpm a indexy stimulace (včetně kontrolní skupiny s vehikulem).

3. ZPRÁVY**3.1 PROTOKOL O ZKOUŠCE**

Protokol o zkoušce musí obsahovat následující informace:

Zkoušená látka:

- identifikační údaje (např. číslo CAS, je-li k dispozici; zdroj, čistota; známé nečistoty; číslo šarže);
- skupenství a fyzikálně-chemické vlastnosti (např. prchavost, stálost, rozpustnost);
- jedná-li se o směs, složení a poměrné procentuální zastoupení složek.

Vehikulum:

- identifikační údaje (čistota; popřípadě koncentrace; použitý objem);
- zdůvodnění výběru vehikula.

Pokusná zvířata:

- použitý druh myši;
- mikrobiologický stav zvířat, je-li znám;
- původ, podmínky chovu, strava atd.;
- počet, stáří a pohlaví zvířat.

Zkušební podmínky:

- podrobnosti o přípravě a aplikaci zkoušené látky;
- zdůvodnění výběru dávek, včetně výsledků z orientační studie, pokud byla provedena; použité koncentrace vehikula a zkoušené látky a celkové aplikované množství látky;
- podrobnosti o jakosti vody a potravy (včetně druhu/zdroje stravy, zdroje vody).

Kontrola spolehlivosti:

- souhrn výsledků z poslední kontroly spolehlivosti, včetně informací o použité látce, koncentraci a vehikulu;
- data ze souběžných a/nebo dřívějších pozitivních nebo negativních kontrolních skupin v dané laboratoři.

Výsledky:

- hmotnost jednotlivých zvířat na počátku aplikace a v době plánovaného usmrcení;
- tabulka průměrných (sdružená metoda) a individuálních (individuální přístup) hodnot dpm a rovněž rozpětí hodnot u obou přístupů a indexy stimulace pro jednotlivé dávkové skupiny (včetně kontrolní skupiny s vehikulem);
- případná statistická analýza;
- u každého zvířete časový průběh nástupu příznaků toxicity, včetně podráždění kůže v místě aplikace, pokud k němu dojde.

Diskuse o výsledcích

- stručný komentář k výsledkům, k analýze závislosti odezvy na dávce a k případným statistickým analýzám a dále závěr, zda lze zkušební látku považovat za senzibilizátor kůže.

4. LITERATURA

- (1) Kimber, I., Basketter, D. A., (1992). The murine local lymph node assay; collaborative studies and new directions: A commentary. *Food Chem. Toxic.*, 30, 165 – 169.
- (2) Kimber, I., Derman, R. J., Scholes E. W., Basketter, D. A., (1994). The local lymph node assay: developments and applications. *Toxicology*, 93, 13 – 31.
- (3) Kimber, I., Hilton, J., Dearman, R. J., Gerberick, G. F., Ryan, C. A., Basketter, D. A., Lea, L., House, R. V., Ladies, G. S., Loveless, S. E., Hastings, K. L., (1998). Assessment of the skin sensitisation potential of topical medicaments using the local lymph node assay: An interlaboratory exercise. *J. Toxic. Environ. Health*, 53, 563 – 79.
- (4) Zkušební metoda B.6.
- (5) Chamberlain, M., Basketter, D. A., (1996). The local lymph node assay: status of validation. *Food Chem. Toxic.*, 34, 999 – 1002.
- (6) Basketter, D. A., Gerberick, G. F., Kimber, I., Loveless, S. E., (1996). The local lymph node assay – A viable alternative to currently accepted skin sensitisation tests. *Food Chem. Toxic.*, 34, 985 – 997.
- (7) Basketter, D. A., Gerberick, G. F., Kimber, I., (1998). Strategies for identifying false positive responses in predictive sensitisation tests. *Food Chem. Toxic.*, 36, 327 – 333.
- (8) Van Och, F. M. M., Slob, W., De Jong, W. H., Vandebriel, R. J., Van Loveren, H., (2000). A quantitative method for assessing the sensitising potency of low molecular weight chemicals using a local lymph node assay: employment of a regression method that includes determination of uncertainty margins. *Toxicology*, 146, 49 – 59.
- (9) Dearman, R. J., Hilton, J., Evans, P., Harvey, P., Basketter, D. A., Kimber, I. (1998). Temporal stability of local lymph node assay responses to hexyl cinnamic aldehyde. *J. Appl. Toxic.*, 18, 281 – 284.
- (10) National Institute of Environmental Health Sciences (1999). The Murine Local Lymph Node Assay: A Test Method for Assessing the Allergic Contact Dermatitis Potential of Chemicals/Compounds: The Results of an Independent Peer Review Evaluation Coordinated by the Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) and the National Toxicology Program Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICETAM). NIH Publication No: 99-4494, Research Triangle Park, N.C. (<http://iccvam.niehs.nih.gov>).
- (11) Zkušební metoda B.4.
- (12) Basketter, D. A., Selbie, E., Scholes, E. W., Lees, D., Kimber, I., Botham, P. A., (1993). Results with OECD recommended positive control sensitizers in the maximisation, Buehler and local lymph node assays. *Food Chem. Toxic.*, 31, 63 – 67.
- (13) Basketter, D. A., Lea L. J., Dickens A., Briggs, D., Pate, I., Dearman, R. J., Kimber, I., (1999). A comparison of statistical approaches to the derivation of EC₃ values from local lymph node assay dose responses. *J. Appl. Toxic.*, 19, 261 – 266.
- (14) Basketter, D. A., Blaikie, L., Derman, R. J., Kimber, I., Ryan, C. A., Gerberick, G. F., Harvey, P., Evans, P., White, I. R., Rycroft, R. T. G., (2000). Use of local lymph node assay for the estimation of relative contact allergenic potency. *Contact Dermatitis*, 42, 344 – 48.

B.43. ZKOUŠKA NEUROTOXICITY NA HLODAVČÍCH**1. METODA**

Tato zkušební metoda je rovnocenná metodě OECD TG 424 (1997).

Tato zkušební metoda byla navržena za účelem získání informací, které jsou nezbytné ke schválení nebo k další charakterizaci potenciální neurotoxicity chemických látek u dospělých zvířat. Tuto metodu lze buď kombinovat s již existujícími zkušebními metodami pro studium toxicity po opakovaných dávkách, nebo ji lze provést jako samostatnou zkoušku. Pro usnadnění plánování studií založených na této zkušební metodě se doporučuje prostudovat Doporučení OECD o strategiích a metodách zkoušení neurotoxicity (*Neurotoxicity Testing Strategies and Methods*) (1). To je zvláště důležité tehdy, je-li třeba zvážit změnu sledování a zkušebních postupů, jak jsou doporučeny pro rutinní používání této metody. Doporučení byla připravena pro usnadnění výběru zkušebních postupů pro specifické podmínky použití. Posouzení vývojové neurotoxicity není předmětem této metody.

1.1 ÚVOD

Při posuzování a vyhodnocování toxických vlastností chemických látek je velmi důležité zvážit potenciál neurotoxických účinků. Již metoda zkoušení systémové toxicity po opakovaných dávkách zahrnuje sledování, která mají odkrýt potenciální neurotoxicitu. Tuto zkušební metodu lze používat při plánování studie za účelem získání dalších informací o neurotoxických účincích zjištěných při studii systémové toxicity po opakovaných dávkách, nebo pro jejich potvrzení. Z úvah o potenciální neurotoxicitě určitých druhů chemických látek však může vyplynout, že by mohly být vhodněji posouzeny pomocí této metody, pokud neexistují údaje o potenciální neurotoxicitě ze studií systémové toxicity po opakovaných dávkách. Tyto úvahy zahrnují například:

- pozorování neurologických příznaků nebo neuropatologických lézí v jiných studiích toxicity než studiích systémové toxicity po opakovaných dávkách, nebo
- strukturní podobnost nebo jiné informace, které posuzovanou látku spojují se známými neurotoxickými látkami.

Kromě toho mohou existovat i další případy, kdy je použití této metody vhodné; další podrobnosti jsou uvedeny v literatuře (1).

Tato metoda byla navržena tak, aby ji bylo možné přizpůsobit zvláštním potřebám při potvrzování specifické histopatologické a behaviorální neurotoxicity chemických látek a při charakterizaci a kvantifikaci neurotoxických účinků.

Dříve se za neurotoxicitu považovaly neuropatie zahrnující neuropatologické léze nebo neurologické dysfunkce, jako např. záchvaty, ochrnutí nebo třes. I když jsou neuropatie významným projevem neurotoxicity, dnes je již jasné, že existují mnohé další příznaky toxicity pro nervový systém (např. ztráta motorické koordinace, senzorké výpadky, poruchy učení a paměti), které se nemusí projevovat ani neuropatií, ani v jiných typech zkoušek.

Tato metoda zkoušení neurotoxicity je navržena tak, aby odhalovala závažné neurobehaviorální a neuropatologické účinky na dospělé hlodavce. Zatímco behaviorální účinky i při nepřítomnosti morfoloogických změn mohou odrážet nepříznivý vliv na organismus, neznamená to, že všechny behaviorální změny jsou specifické pro nervový systém. Z tohoto důvodu by se měly jakékoliv zjištěné změny vyhodnotit v souvislosti s histopatologickými, hematologickými nebo biochemickými údaji, jakož i s údaji o ostatních typech systémové nervové toxicity. Zkoušení požadované v této metodě za účelem charakterizace a kvantifikace neurotoxických odpovědí zahrnuje specifické histopatologické a behaviorální postupy, které lze navíc podpořit elektrofyziologickým a/nebo biochemickým vyšetřením (1, 2, 3, 4).

Neurotoxické látky mohou působit na množství cílových struktur v rámci nervového systému a prostřednictvím různých mechanismů. Protože neexistuje jediná sada zkoušek pro posouzení neurotoxického potenciálu u všech látek, může být nezbytné využít dalších zkoušek *in vivo* nebo *in vitro*, které jsou specifické pro typ pozorované nebo očekávané neurotoxicity.

Tuto zkušební metodu lze použít také společně s doporučeními OECD o strategiích a metodách testování neurotoxicity (*OECD Guidance Document on Neurotoxicity Testing Strategies and Methods*) (1) při plánování zkoušek určených k další charakterizaci nebo zvýšení citlivosti kvantifikace vztahu dávka-odezva s cílem lépe odhadnout úroveň nevyvolávající pozorovatelné nepříznivé účinky, anebo potvrdit známá nebo očekávaná rizika chemických látek. Lze například navrhnout zkoušky, které by identifikovaly a zhodnotily neurotoxický mechanismus (neurotoxické mechanismy) nebo doplnily údaje, které již byly získány základními neurobehaviorálními a neuropatologickými vyšetřovacími postupy. Takové studie nemusí replikovat údaje použitím standardních postupů doporučených v této metodě, jsou-li takové údaje již k dispozici a nepovažují se za nezbytné k interpretaci výsledků z této studie.

Používá-li se tato zkouška neurotoxicity samotná nebo v kombinaci, poskytuje informace, které mohou

- určit, zda zkoušené chemické látky ovlivňují nervový systém trvale, nebo vratně;
- přispět k charakterizaci změn nervového systému spojených s expozicí chemické látky a přispět k pochopení mechanismů účinku.
- stanovit vztahy mezi dávkou a odezvou a časem a odezvou s cílem odhadnout úroveň nevyvolávající pozorovatelné nepříznivé účinky (NOAEL) (kterou lze použít pro vytvoření bezpečnostních kritérií pro chemickou látku).

Tato zkušební metoda používá orální aplikaci zkušební látky. Jiné typy aplikace (např. kožní nebo inhalační) mohou být vhodnější a mohou si také vyžádat modifikaci doporučovaných postupů. Výběr způsobu aplikace závisí na způsobu expozice člověka a na dostupných toxikologických nebo kinetických informacích.

1.2 DEFINICE

Nepříznivý účinek: je jakákoliv změna spojená s aplikací, která snižuje schopnost organismu přežít, rozmnožovat se nebo přizpůsobit prostředí.

Dávka: je množství podané zkoušené látky. Dávka se vyjadřuje jako hmotnost zkoušené látky (v gramech nebo miligramech) nebo jako hmotnost zkoušené látky na jednotku hmotnosti pokusného zvířete (např. v miligramech na kilogram tělesné hmotnosti) nebo jako konstantní koncentrace v potravě (v ppm nebo v miligramech na kilogram potravy).

Dávkování: je obecný termín zahrnující dávku, četnost a trvání podávání látky.

Neurotoxicita: je nepříznivá změna struktury nebo funkce nervového systému, která je výsledkem expozice chemickému, biologickému nebo fyzikálnímu činitele.

Neurotoxické agens: je jakýkoliv chemický, biologický nebo fyzikální činitel, který má neurotoxický potenciál.

NOAEL: je zkratka pro hladinu bez pozorovaného nepříznivého účinku; odpovídá nejvyšší úrovni dávky nebo expozice, při které nejsou pozorovány žádné nepříznivé nálezy související s podáním látky.

1.3 PRINCIP ZKUŠEBNÍ METODY

Zkoušená chemická látka se podává orálně v různých dávkách několika skupinám laboratorních hlodavců. Obvykle se vyžaduje podávání opakovaných dávek a dávkovací režim může být buď 28denní, nebo subchronický (90 dnů), nebo chronický (1 rok nebo déle). Postupy stanovené v této zkušební metodě lze použít i při studii akutní neurotoxicity. Zvířata jsou testována za účelem zjištění nebo charakterizace behaviorálních a/nebo neurologických odchylek. Během každého pozorovacího období se hodnotí řada znaků chování, které by mohly být ovlivněny neurotoxickými látkami. Na konci zkoušky se u podskupiny zvířat obou pohlaví z každé skupiny provede perfuze *in situ* a připraví se a vyšetří řezy mozku, míchy a periferních nervů.

Pokud se zkouška provádí jako samostatná zkouška pro vyšetření neurotoxicity nebo charakterizaci neurotoxických účinků, lze zvířata z každé skupiny, která nebyla použita k perfuzi a k následnému histopatologickému vyšetření (viz tabulka 1), použít ke specifickým neurobehaviorálním, neuropatologickými, neurochemickým nebo elektrofyziologickým vyšetřením, která mohou doplnit údaje získané ze standardních vyšetření vyžadovaných v této metodě (1). Tyto doplňující postupy mohou být zvláště užitečné tehdy, jestliže empirická pozorování nebo předpokládané účinky naznačují specifický typ nebo cílovou strukturu neurotoxicity chemické látky. Zbývající zvířata lze případně použít k některým jiným hodnocením, jako jsou např. hodnocení požadovaná ve zkušebních metodách u studií toxicity po opakovaných dávkách na hlodavcích.

Pokud se postupy této zkušební metody kombinují s postupy jiných zkušebních metod, je nezbytný dostatečný počet zvířat, aby byly splněny požadavky pro pozorování v obou studiích.

1.4 POPIS ZKUŠEBNÍ METODY

1.4.1 Výběr živočišných druhů

Upřednostňovaným druhem hlodavce je potkan, s odpovídajícím zdůvodněním lze použít i jiné druhy hlodavců. Mělo by se jednat o běžně používané laboratorní kmeny mladých zdravých dospělých zvířat. Samice musí být nullipary a nesmějí být březí. Podávání látky by mělo začít co nejdříve po odstavení, nejlépe když zvířata dosáhnou stáří šesti týdnů a v každém případě dříve, než dosáhnou stáří devíti týdnů. Pokud se však tato zkouška kombinuje s dalšími zkouškami, je možné, že požadavky týkající se stáří zvířat budou vyžadovat určité změny. Na začátku studie by měl být u používaných zvířat jen minimální rozptyl hmotnosti a neměl by překročit 20 % průměrné hmotnosti u jednotlivých pohlaví. Pokud se před dlouhodobou studií provádí orientační krátkodobá studie toxicity po opakovaných dávkách, je třeba u obou studií použít pokusná zvířata ze stejných kmenů a stejného zdroje.

1.4.2 Podmínky chovu a krmení

Teplota v místnosti pro pokusná zvířata by měla být 22 °C (\pm 3 °C), relativní vlhkost vzduchu minimálně 30 % a pokud možno nepřesáhnout 70 %, kromě doby úklidu místnosti, cílem však je hodnota 50 – 60 %. Osvětlení bude umělé se střídáním 12 h světla a 12 h tmy. Ke krmení lze použít konvenční laboratorní stravu s neomezenou dodávkou pitné vody. Na výběr stravy může mít vliv nutnost zajistit vhodnou přísadu pro zkoušenou látku, je-li látka podávána touto metodou. Zvířata lze chovat jednotlivě, anebo je lze umístit v klecích v malých skupinkách zvířat stejného pohlaví.

1.4.3 Příprava zvířat

Zdravá mladá zvířata jsou náhodně rozdělena do experimentálních a kontrolních skupin. Klece by měly být uspořádány tak, aby byl vliv umístění klecí minimalizován. Jednotlivá zvířata se jednoznačně identifikují a umístit se do klecí nejméně pět dnů před začátkem studie, aby si mohla zvyknout na laboratorní podmínky.

1.4.4 Způsob aplikace a příprava dávek

V této zkušební metodě se jedná konkrétně o orální způsob aplikace zkoušené látky. Orální aplikaci lze provádět prostřednictvím žaludeční sondy, potravy, pitné vody nebo tobolek. Použití lze i jiné způsoby aplikace (např. kožní nebo inhalační), které si mohou vyžádat modifikaci doporučených postupů. Výběr způsobu aplikace závisí na typu expozice člověka a na dostupných toxikologických nebo kinetických informacích. Je třeba uvést důvody pro výběr způsobu aplikace a odpovídající modifikace postupů v rámci této zkušební metody.

Zkoušená látka se podle potřeby rozpustí nebo suspenduje ve vhodném vehikulu. Je-li to možné, doporučuje se zvážit použití vodného roztoku/suspense, potom použití roztoku/emulze v oleji (např. v kukuřičném oleji) a nakonec roztoku/suspense v jiném vehikulu. Je třeba znát toxické vlastnosti vehikula. Kromě toho je třeba věnovat pozornost následujícím typickým znakům vehikula: účinku na absorpci, distribuci, metabolismus nebo retenci zkoušené látky a dále účinku na chemické vlastnosti zkoušené látky, které mohou pozměnit její toxické charakteristiky, a účinku na spotřebu potravy nebo vody anebo nutriční stav zvířat.

1.5 POSTUPY

1.5.1 Počet a pohlaví zvířat

Pokud se studie provádí jako samostatná studie, je třeba použít v každé dávkové a kontrolní skupině alespoň 20 zvířat (10 samic a 10 samců) pro vyhodnocení podrobných klinických a funkčních pozorování. Alespoň u pěti samců a pěti samic vybraných z těchto deseti samců a samic je třeba na konci zkoušky provést perfúzi *in situ* a použít je k podrobnému neurohistopatologickému vyšetření. V případě, kdy jsou v dané dávkové skupině pozorovány příznaky neurotoxických účinků pouze u omezeného počtu zvířat, je třeba zvážit přiřazení těchto zvířat ke zvířatům vybraným pro perfúzi. Pokud se studie provádí v kombinaci se studií toxicity po opakovaných dávkách, je třeba použít odpovídající počet zvířat, aby bylo možné splnit cíle obou studií. Minimální počet zvířat na skupinu u nejrůznějších kombinací studií je uveden v tabulce 1. Pokud se plánuje utracení ve vložených intervalech nebo vytvoření reparační skupiny ke sledování vratných účinků, perzistence nebo zpožděného výskytu toxických účinků po skončení aplikace, nebo se zvažují dodatečná sledování, je třeba zvýšit počet zvířat, aby se zajistil dostatečný počet zvířat požadovaných ke sledování a k histopatologickému vyšetření.

1.5.2 Experimentální a kontrolní skupina

Obecně by měly být použity nejméně tři experimentální a jedna kontrolní skupina; pokud se však podle jiných údajů neočekávají žádné účinky po opakovaných dávkách 1 000 mg na kg tělesné hmotnosti na den, může být provedena limitní zkouška. Nejsou-li k dispozici žádné vhodné údaje, může být provedena předběžná studie pro stanovení rozpětí dávek, které mají být použity. S výjimkou aplikace zkoušené látky je třeba se zvířaty v kontrolní skupině zacházet naprosto stejným způsobem, jako se zvířaty v experimentální skupině. Pokud se při podávání zkoušené látky používá vehikulum, podává se kontrolní skupině v nejvyšším použitelném objemu.

1.5.3 Kontrola spolehlivosti

Laboratoř provádějící zkoušku by měla předložit údaje prokazující její způsobilost pro uskutečnění zkoušky a citlivost používaných postupů. Takové údaje by měly poskytnout důkaz o schopnosti odhalit a popřípadě kvantifikovat změny v různých ukazatelích doporučených ke sledování, jako jsou např. vegetativní příznaky, reaktivita na smyslové podněty, síla úchopu a motorická aktivita. Informace o chemických látkách, které způsobují různé typy neurotoxických reakcí a které jsou vhodné jako pozitivní kontrolní látky, lze nalézt v literatuře (2 až 9). Historické údaje lze použít tehdy, pokud zůstanou stejné základní aspekty experimentálních postupů. Doporučuje se pravidelná aktualizace historických údajů. Nové kontrolní údaje by měly být doplněny tehdy, pokud provádějící laboratoř v průběhu zkoušky změní některý základní prvek provádění zkoušky nebo postupu.

1.5.4 Výběr dávky

Úrovně dávek je třeba vybrat s ohledem na předchozí zjištěnou toxicitu a kinetické údaje dostupné pro zkoušenou sloučeninu nebo podobné látky. Nejvyšší úroveň dávky se zvolí tak, aby vyvolala neurotoxické nebo jasné systémové toxické účinky, aby bylo možné prokázat závislost odpovědi na dávkách a úroveň dávky bez pozorovatelného nepříznivého účinku (NOAEL), zvolí se sestupná posloupnost úrovní dávek. V zásadě je třeba stanovit úrovně dávek tak, aby bylo možné odlišit primární toxické účinky na nervový systém od systémové toxicity. Obvykle jsou optimální dva až tři intervaly a často je vhodnější přidání čtvrté zkušební skupiny než používání velkých intervalů mezi jednotlivými dávkami (např. lišících se faktorem 10). Rovněž je třeba vzít v úvahu i odhad úrovně expozice u člověka, je-li k dispozici.

1.5.5 Limitní zkouška

Pokud zkouška provedená podle postupů popsaných v této studii při jedné dávce nejméně 1 000 mg na kg tělesné hmotnosti na den nevyvolá pozorovatelné neurotoxické účinky a pokud se na základě údajů o látkách s podobnou strukturou nepředpokládá toxicita, není nezbytné provádět kompletní studii za použití tří úrovní dávek. V některých případech předpokládána expozice u člověka si vyžádá použití vyšší orální dávky v limitní zkoušce. U dalších způsobů podávání látky, jako je inhalační nebo kožní aplikace, může být maximální dosažitelná úroveň expozice dána fyzikálně-chemickými vlastnostmi zkoušené látky. Při provedení orální akutní zkoušky by dávka pro limitní zkoušku měla činit alespoň 2 000 mg/kg.

1.5.6 Aplikace dávek

Zkoušená látka se podává zvířatům denně, 7 dnů v týdnu, po dobu alespoň 28 dnů. Použití 5denního dávkovacího režimu nebo kratší expozice je třeba zdůvodnit. Je-li látka podávána prostřednictvím žaludeční sondy, měla by se podávat v jedné dávce pomocí sondy nebo vhodné intubační kanyly. Maximální množství tekutiny, které lze jednorázově podat, závisí na velikosti pokusného zvířete. Objem by neměl překročit 1 ml na 100 g tělesné hmotnosti. V případě vodných roztoků je však možné zvážit i použití až 2 ml na 100 g tělesné hmotnosti. Kromě dráždivých nebo žíravých látek, které při vyšších koncentracích obvykle vyvolávají silnější účinky, by se měly změny množství zkoušené látky minimalizovat upravením koncentrace, aby se na všech úrovních dávek zajistilo konstantní množství.

U látek podávaných prostřednictvím potravy nebo pitné vody je důležité zajistit, aby množství použité zkoušené látky neovlivnilo vyváženost běžné potravy nebo příjmu vody. Je-li zkoušená látka podávána v potravě, je třeba používat buď konstantní koncentraci v potravě (v ppm), nebo konstantní úroveň dávky, pokud jde o tělesnou hmotnost zvířete. Použití jiné alternativy je třeba zdůvodnit. U látky podávané prostřednictvím žaludeční sondy je třeba dávku podávat každý den přibližně ve stejnou dobu a alespoň jednou týdně ji přizpůsobit tak, aby se udržela konstantní úroveň dávky vzhledem k tělesné hmotnosti zvířete. Provádí-li se studie s opakovanou dávkou jako předběžná studie pro dlouhodobou studii, měla by být v obou studiích používána stejná potrava. Nelze-li v případě studie akutní toxicity použít jednotlivou dávku, je možné podávat dávku po menších částech po dobu, která nepřekročí 24 h.

1.6 POZOROVÁNÍ

1.6.1 Četnost pozorování a zkoušek

U studií s opakovanou dávkou by doba pozorování měla pokrýt celé dávkovací období. U studií akutní toxicity pokračuje pozorování ještě 14 dnů po skončení aplikace. U zvířat v satelitních skupinách, která jsou v období po skončení aplikace chována bez expozice, by pozorování mělo zahrnovat i toto období.

Pozorování je třeba provádět dostatečně často, aby se maximalizovala pravděpodobnost odhalení všech behaviorálních a/nebo neurologických anomálií. Pozorování se provádí denně, pokud možno ve stejnou dobu a s přihlédnutím k době očekávaného maxima účinku po podání látky. Četnost klinických pozorování a funkčních zkoušek je shrnuta v tabulce 2. Pokud kinetické nebo jiné údaje získané z předchozích studií naznačují potřebu zvolit časové body pozorování nebo zkoušek nebo období po skončení pozorování, je nutné zvolit takový náhradní plán, na jehož základě lze získat co nejvíce informací. Změny plánu je třeba zdůvodnit.

1.6.1.1 *Pozorování celkového zdravotního stavu a úmrtnosti/nemocnosti*

U všech zvířat se alespoň jednou denně pečlivě zkontroluje jejich zdravotní stav a nejméně dvakrát denně se provede prohlídka všech zvířat za účelem zjištění nemocnosti a úmrtnosti.

1.6.1.2 *Podrobná klinická pozorování*

Podrobná klinická pozorování se provedou u všech zvířat vybraných k těmto účelům (viz tabulka 1) nejprve před první expozicí (aby bylo možné intraindividuální srovnání) a poté v různých intervalech podle trvání studie (viz tabulka 2). Podrobná klinická pozorování u satelitních zotavovacích skupin se provedou na konci zotavovacího období. Podrobná klinická pozorování se provádějí mimo chovnou klec ve standardním pozorovacím prostoru. Pozorování se pečlivě zaznamenávají pomocí systémů hodnocení, které zahrnují kritéria nebo bodovací stupnice pro jednotlivá měření v rámci pozorování. Používaná kritéria nebo stupnice musí být explicitně definována zkušební laboratoří. Je třeba dbát na to, aby byly rozdíly ve zkušebních podmínkách co nejmenší (a nesouvisely systematicky s aplikací) a aby vyšetření prováděly osoby, které nejsou informovány o skupině, do které zvíře patří.

Doporučuje se provádět pozorování strukturovaně, přičemž se u každého zvířete při každém pozorování systematicky používají jasně definovaná kritéria (včetně definice normálního „rozpětí“). „Normální rozpětí“ je třeba dostatečně zdokumentovat. Všechny pozorované příznaky se zaznamenají. Je-li to možné, zaznamená se rovněž závažnost pozorovaných příznaků. Klinická pozorování zahrnují kromě jiného změny kůže, srsti, očí a sliznic, výskyt sekretů a exkretů a autonomních funkcí (slzení, zjevení srsti, velikost zornic, nezvyklý průběh dýchání a/nebo dýchání ústy, nezvyklé příznaky močení nebo defekace a zbarvení moči).

Zaznamenají se rovněž nezvyklé projevy, pokud jde o polohu těla, úroveň aktivity (např. snížené nebo zvýšené zkoumání standardního pozorovacího prostoru) a koordinaci pohybu. Zaznamenají se také změny chůze (např. kolébání, ataxie), polohy (nahrbení hřbetu) a reakce na manipulaci, umístění a další stimuly související s prostředím, dále přítomnost klonických a tonických pohybů, křečí nebo třesu, stereotypů v chování (např. nadměrného čištění, nezvyklých pohybů hlavy nebo opakovaného kroužení) nebo zvláštního chování (např. kousání nebo nadměrného olizování, sebepoškozování, pohybu pozpátku, vydávání zvuků) anebo agresivity.

1.6.1.3 Funkční zkoušky

Podobně jako podrobná klinická pozorování se u jednotlivých zvířat vybraných k těmto účelům provedou i funkční zkoušky – nejprve před expozicí a potom vícekrát po jejím provedení (viz tabulka 1). Četnost funkčního testování závisí rovněž na trvání studie (viz tabulka 2). Mimo dobu pozorování stanovenou v tabulce 2 se provede také funkční pozorování satelitní zotavovací skupiny, a to těsně před plánovaným usmrcením. Funkční zkoušky zahrnují reakce na různé smyslové podněty [např. sluchové, zrakové a propioceptivní podněty (5, 6, 7)], změní se síla úchopu končetiny (8) a motorická aktivita (9). Motorická aktivita se měří pomocí automatického přístroje schopného odhalit jak snížení, tak i zvýšení této aktivity. Pokud se použije jiný systém, měl by být kvantitativní a je třeba prokázat jeho citlivost a spolehlivost. Každý přístroj je nutné otestovat, aby se zajistila jeho spolehlivost po celé časové období a homogenita s ostatními přístroji. Další podrobnosti o postupech, kterými se lze řídit, jsou uvedeny v příslušných odkazech. Pokud neexistují žádné údaje (např. údaje o vztahu mezi strukturou a biologickou aktivitou, epidemiologické údaje, jiné toxikologické studie), které by ukazovaly na potenciální neurotoxické účinky, je nutné za účelem podrobnějšího vyšetření těchto možných účinků zvážit začlenění specializovanějších zkoušek smyslových a motorických funkcí nebo učení a paměti. Další informace o specializovanějších zkouškách a jejich používání je uvedeno v literatuře (1).

Ve výjimečných případech lze zvířata vykazující známky toxicity v takové míře, která by významně narušila provedení funkčních zkoušek, z této zkoušky vyřadit. Vyřazení těchto zvířat z funkčních zkoušek je nutné zdůvodnit.

1.6.2 Tělesná hmotnost a spotřeba potravy a vody

U studií s délkou trvání do 90 dnů se všechna zvířata váží alespoň jednou týdně a každý týden se rovněž provádí měření spotřeby potravy (měření spotřeby vody se provádí tehdy, je-li zkoušená látka aplikována prostřednictvím tohoto média). U dlouhodobých studií se všechna zvířata váží alespoň jednou týdně během prvních 13 týdnů a poté alespoň jednou za 4 týdny. Během prvních 13 týdnů se měří spotřeba potravy (měření spotřeby vody se provádí tehdy, je-li zkoušená látka aplikována prostřednictvím tohoto média) a poté přibližně v tříměsíčních intervalech, pokud si změny zdravotního stavu nebo změny tělesné hmotnosti nevyžadají jiný interval.

1.6.3 Oftalmologické vyšetření

U studií delších než 28 dnů se před aplikací zkoušené látky a před ukončením studie provede oftalmologické vyšetření pomocí oftalmoskopu nebo jiného vhodného nástroje, a to nejlépe u všech zvířat, alespoň však u všech zvířat ze skupin s vysokou dávkou a z kontrolních skupin. Pokud se zjistí změny na očích nebo pokud klinické příznaky ukazují na nutnost vyšetření očí, vyšetří se všechna zvířata. U dlouhodobých studií se oftalmologické vyšetření provede ve 13. týdnu stáří zvířat. Oftalmologická vyšetření není nutné provádět tehdy, jsou-li již k dispozici údaje z jiných podobně dlouhých studií s podobnými úrovněmi dávek.

1.6.4 Hematologické a biochemické vyšetření

Pokud se studie neurotoxicity provádí v kombinaci se studií systémové toxicity po opakovaných dávkách, provede se hematologické vyšetření a stanovení klinických biochemických parametrů tak, jak je uvedeno v příslušné metodě studie systémové toxicity. Odebírání vzorků se provede tak, aby se minimalizovaly jakékoliv účinky na chování.

1.6.5 Histopatologie

Neuropatologické vyšetření se navrhne tak, aby doplnilo a rozšířilo pozorování provedená v rámci této studie během fáze *in vivo*. Tkáně alespoň 5 zvířat každého pohlaví z každé skupiny (viz tabulka 1 a další odstavec) se fixují *in situ* za použití obecně uznávaných perfuzních a fixačních technik (viz odkaz na literaturu 3, kapitola 5 a odkaz 4, kapitola 50). Zaznamenají se jakékoliv výrazné změny. Pokud se studie provádí jako samostatná studie neurotoxicity nebo studie charakterizující neurotoxické účinky, lze použít zbytek zvířat buď ke specifickým neurobehaviorálním (10, 11), neuropatologickým (10, 11, 12, 13), neurochemickým (10, 11, 14, 15), nebo elektrofyziologickým (10, 11, 16, 17) postupům, které mohou doplnit zde popsané postupy a vyšetření, anebo zvýšit počet subjektů vyšetřovaných k histopatologickým účelům. Tyto doplňkové postupy jsou zvláště užitečné tehdy, pokud empirická pozorování nebo očekávané účinky ukazují na specifický typ nebo cílovou strukturu neurotoxicity (2, 3). Je také možné zbytek zvířat použít k běžným patologickým hodnocením, která jsou popsána v metodě studií po opakovaných dávkách.

U všech tkáňových vzorků zalitých parafínem se provede běžný postup barvení, např. pomocí hematoxylinu a eosinu (H&E), a mikroskopické vyšetření. Jsou-li pozorovány nebo existuje-li podezření na příznaky periferní neuropatie, vyšetří se vzorky periferních nervů zalitých do pryskyřic (vosků). Klinické příznaky mohou rovněž poukázat na další místa, která je nutné vyšetřit, nebo na nutnost použít speciální postupy barvení. Pokyny k určení dalších míst, která je třeba vyšetřit, lze nalézt v literatuře (3, 4). K prokázání charakteristických typů patologické změny může přispět i odpovídající speciální barvení (18).

U reprezentativních řezů centrálního a periferního nervového systému se provede histologické vyšetření (viz odkaz na literaturu 3, kapitola 5 a odkaz 4, kapitola 50). Mezi vyšetřované oblasti obvykle patří: přední mozek, střední část mozku, včetně řezu hippocampem, střední mozek, mozeček, Varolův most, prodloužená mícha, oko se zrakovým nervem a sítnicí, mícha v oblasti cervikálního a lumbálního zesílení, dorsální kořenová ganglia, dorsální a ventrální kořenová vlákna, proximální část *n. ischiadicus* a proximální část *n. tibialis* (v oblasti kolena) a *n. tibialis* z oblasti lýtkového svalu. Řezy míchy a periferních nervů by měly zahrnovat jak příčné, tak i podélné řezy. Pozornost je nutné věnovat uspořádání cév v oblasti nervového systému. Rovněž se vyšetří vzorky z kosterního svalstva, a to zvláště z lýtkového svalu. Zvláštní pozornost je nutné věnovat místům s buněčnou a vláknitou strukturou a těm strukturám v oblasti CNS a PNS, o nichž je známo, že na ně mají neurotoxické látky značný vliv.

Informace o neuropatologických změnách, které typicky vznikají v důsledku expozice toxickým látkám, lze nalézt v literatuře (3, 4). Doporučuje se postupně vyšetření tkáňových vzorků, při kterém se porovnají nejprve vzorky řezů ze skupiny s vysokou dávkou se vzorky řezů z kontrolní skupiny. Nejsou-li ve vzorcích z těchto skupin zjištěny žádné neuropatologické změny, není nutné provádět další analýzu. Jsou-li zjištěny ve skupině s vysokou dávkou neuropatologické změny, je třeba následně okódotovat a vyšetřit vzorky ze všech potenciálně zasažených tkání ze skupin se střední a nízkou dávkou.

Pokud je během kvalitativního vyšetření zjištěna přítomnost neuropatologických změn, provede se druhé vyšetření všech oblastí nervového systému, které vykazují tyto změny. Okódují se řezy ze všech dávkových skupin ze všech potenciálně zasažených oblastí a vyšetří v náhodném pořadí bez znalosti kódu. Zaznamená se četnost a závažnost všech lézí. Po zhodnocení všech oblastí ze všech dávkových skupin se kód odkryje a provede se statistická analýza za účelem vyhodnocení vztahu dávka-odezva. U každé léze se popíše příklady různých stupňů závažnosti.

Neuropatologické výsledky se vyhodnotí v souvislosti s pozorováním a měřením chování a rovněž spolu s dalšími údaji z předchozích a souběžných studií systémové toxicity zkoušené látky.

2. DATA**2.1 ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ**

Uvedou se jednotlivá data, která se shrnou do tabulky, přičemž se pro každou experimentální nebo kontrolní skupinu uvede počet zvířat na začátku zkoušky, počet zvířat uhynulých v průběhu zkoušky nebo počet zvířat usmrcených z humanitních důvodů a doba uhynutí nebo humanitního usmrcení, počet zvířat vykazujících příznaky toxicity, popis zjištěných příznaků toxicity, včetně doby nástupu, trvání, typu a závažnosti jakýchkoliv příznaků toxicity, počet zvířat vykazujících léze, včetně typu a závažnosti léze (lézí).

2.2 HODNOCENÍ A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Výsledky studie je třeba vyhodnotit z hlediska výskytu, závažnosti a korelace neurobehaviorálních a neuropatologických účinků (rovněž i neurochemických nebo elektrofyziologických účinků, jsou-li provedena doplňující vyšetření) a z hlediska dalších zjištěných nepříznivých účinků. Je-li to možné, je třeba vyhodnotit číselné výsledky vhodnými a obecně uznávanými statistickými metodami. Statistické metody je třeba zvolit během plánování studie.

3. ZPRÁVY**3.1 PROTOKOL O ZKOUŠCE**

Protokol o zkoušce musí obsahovat následující informace:

Zkoušená látka:

- fyzikální vlastnosti (včetně isomerie, čistoty a fyzikálně-chemických vlastností);
- identifikační údaje.

Vehikulum (je-li použito):

- zdůvodnění volby vehikula.

Pokusná zvířata:

- použité druhy a kmen;
- počet, stáří a pohlaví zvířat;
- původ, podmínky chovu, aklimatizace, potrava atd.;
- hmotnost jednotlivých zvířat na začátku zkoušky.

Zkušební podmínky:

- podrobné údaje o úpravě směsi zkoušené látky či přípravě potravy, dosažené koncentraci, stabilitě a homogenitě přípravku;
- specifikace aplikovaných dávek, včetně podrobností o vehikulu, objemu a fyzikální formě aplikovaného materiálu;
- podrobnosti o způsobu podávání zkoušené látky;
- zdůvodnění výběru úrovní dávek;
- zdůvodnění způsobu aplikace a trvání expozice;
- přepočítání koncentrace zkoušené látky v potravě nebo pitné vodě (ppm) na skutečnou denní dávku v mg na kg tělesné hmotnosti;
- podrobnosti o potravě a kvalitě vody.

Pozorovací a zkušební postupy:

- podrobnosti o přiřazení zvířat z jednotlivých skupin do podskupin s perfuzí;
- podrobnosti o systémech hodnocení, včetně kritérií a hodnotících stupnic pro jednotlivá měření v rámci podrobných klinických pozorování;
- podrobnosti o funkčních zkouškách pro měření reakce na různé smyslové podněty (např. sluchové, zrakové a hmatové), pro měření síly úchopu končetiny, motorické aktivity (včetně podrobností o automatických zařízeních pro zjišťování aktivity) a další použité postupy;
- podrobnosti o oftalmologických vyšetřeních, hematologických a klinických biochemických zkouškách s příslušnými výchozími (normálními) hodnotami;
- podrobnosti o specifických neurobehaviorálních, neuropatologických, neurochemických nebo elektrofyziologických postupech.

Výsledky:

- tělesná hmotnost a její změny, včetně tělesné hmotnosti v době usmrčení;
- spotřeba potravy a případně vody;
- údaje o toxických reakcích podle pohlaví a úrovně dávek, včetně popisu příznaků toxicity nebo úmrtnosti;
- povaha, závažnost a trvání (doba nástupu a následný průběh) podrobných klinických nálezů (zda jsou vratné nebo nevratné);
- podrobný popis všech výsledků funkčních testů;
- pitevní nálezy;
- podrobný popis všech neurobehaviorálních, neuropatologických a neurochemických nebo elektrofyziologických výsledků, jsou-li k dispozici;
- údaje o absorpci a metabolismu, jsou-li k dispozici;
- statistické vyhodnocení výsledků, kde je to možné.

Diskuse o výsledcích:

- informace o závislosti účinku na dávce;
- význam jakýchkoliv dalších toxických účinků pro závěry týkající se neurotoxického potenciálu zkoušené chemické látky;
- dávková úroveň bez pozorovatelných nepříznivých účinků (NOAEL).

Závěry:

- je žádoucí uvést konkrétní vyjádření o celkové neurotoxicitě zkoušené chemické látky.

4. LITERATURA

- (1) OECD Guidance Document on Neurotoxicity Testing Strategies and Test Methods. OECD, Paris (návrh).
- (2) Test Guideline for a Developmental Neurotoxicity Study, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals (návrh).
- (3) World Health Organization (WHO), (1986). Environmental Health Criteria document 60: Principles and Methods for the Assessment of Neurotoxicity associated with Exposure to Chemicals.
- (4) Spencer, P. S., Schaumburg, H. H., (1980). Experimental and Clinical Neurotoxicology (eds. Spencer, P.S., Schaumburg, H.H.), Williams and Wilkins, Baltimore/London.
- (5) Tupper, D. E., Wallace, R. B. (1980). Utility of the Neurological Examination in Rats. *Acta Neurobiol. Exp.*, 40, 999 – 1003.
- (6) Gad, S. C., (1982). A Neuromuscular Screen for Use in Industrial Toxicology. *J. Toxicol. Environ. Health*, 9, 691 – 704.
- (7) Moser, V. C., McDaniel, K. M., Phillips, P.M., (1991). Rat Strain and Stock Comparisons Using a Functional Observational Battery: Baseline Values and Effects of amitraz. *Toxic. Appl. Pharmacol.*, 108, 267 – 283.

- (8) Meyer, O. A., Tilson, H. A., Byrd, W. C., Riley, M. T., (1979). A Method for the Routine Assessment of Fore- and Hind- limb Grip Strength of Rats and Mice. *Neurobehav. Toxicol.*, 1, 233 – 236.
- (9) Crofton, K. M., Haward, J.L., Moser, V. C., Gill, M. W., Reirer, L.W., Tilson, H. A., MacPhail, R. C., (1991). Interlaboratory Comparison of Motor Activity Experiments: Implication for Neurotoxicological Assessments. *Neurotoxicol. Teratol.*, 13, 599 – 609.
- (10) Tilson, H. A., Mitchell, C. L. eds., (1992). *Neurotoxicology Target Organ Toxicology Series*. Raven Press, New York.
- (11) Chang, L. W., (1995). *Principles of Neurotoxicology*. Marcel Dekker, New York.
- (12) Broxup, B., (1991). Neuopathology as a screen for Neurotoxicity Assessment. *J. Amer. Coll. Toxicol.*, 10, 689 – 695.
- (13) Moser, V. C., Anthony, D. C., Sette, W. F., MacPhail, R. C., (1992). Comparison of Subchronic Neurotoxicity of 2-Hydroxyethyl Acrylate and Acrylamide in Rats. *Fund. Appl.Toxicol.*, 18, 343 – 352.
- (14) O'Callaghan, J. P., (1988). Neurotypic and Gliotypic Proteins as Biochemical Markers of Neurotoxicity. *Eurotoxicol. Teratol.*, 10, 445 – 452.
- (15) O'Callaghan J. P., Miller, D. B., (1988). Acute Exposure of the Neonatal Rat to Triethyltin Results in Persistent Changes in Neurotypic and Gliotypic Proteins. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 244, 368 – 378.
- (16) Fox, D. A., Lowndes, H. E., Birkamper, G. G., (1982). Electrophysiological Techniques in Neurotoxicology. In: *Nervous System Toxicology* (ed. Mitchell, C.L.). Raven Press, New York, 299 – 335.
- (17) Johnson, B. L., (1980). Electrophysiological Methods in neurotoxicity Testing. In: *Experimental and Clinical Neurotoxicology* (eds. Spencer, P.S., Schaumburg, H.H.), Williams and Wilkins Co., Baltimore/London, 726 – 742.
- (18) Bancroft, J.D., Steven A., (1990). Theory and Practice of Histological Techniques. Chapter 17, *Neuropathological Techniques*. (eds. Lowe, J., Cox, G.), Churchill Livingstone.

Tabulka 1:

Minimální počet zvířat na skupinu, provádí-li se studie neurotoxicity samostatně nebo v kombinaci s dalšími studiiemi

| | TYP PROVEDENÉ STUDIE NEUROTOXICITY: | | | |
|---|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|---|
| | Samostatná studie | Kombinovaná studie s 28denní studii | Kombinovaná studie s 90denní studii | Kombinovaná studie se studii chronické toxicity |
| Počet zvířat na skupinu | 10 samců a 10 samic | 10 samců a 10 samic | 15 samců a 15 samic | 25 samců a 25 samic |
| Počet zvířat vybraných k funkčnímu testování, včetně podrobných klinických pozorování | 10 samců a 10 samic | 10 samců a 10 samic | 10 samců a 10 samic | 10 samců a 10 samic |
| Počet zvířat vybraných k perfuzi <i>in situ</i> a neurohistopatologickému vyšetření | 5 samců a 5 samic | 5 samců a 5 samic | 5 samců a 5 samic | 5 samců a 5 samic |
| Počet zvířat vybraných k pozorování toxicity po opakované dávce subchronické/chronické, k hematologickému vyšetření, klinickému biochemickému vyšetření, k histopatologickému vyšetření atd., jak je uvedeno v příslušných Doporučeních | | 5 samců a 5 samic | 10 samců (+) a 10 samic (+) | 20 samců (+) a 20 samic (+) |
| Případná doplňující pozorování | 5 samců a 5 samic | | | |

(+) Zahrnuto je pět zvířat vybraných k funkčnímu testování a podrobnému klinickému pozorování jako součást studie neurotoxicity

Tabulka 2:
Četnost klinických pozorování a funkčních testů

| Typ pozorování | | Délka studie | | | |
|---|------------------------------|--|---|---|---|
| | | akutní | 28denní | 90denní | chronická |
| U všech zvířat | Celkový zdravotní stav | Denně | Denně | Denně | Denně |
| | Mortalita/morbidity | Dvakrát denně | Dvakrát denně | Dvakrát denně | Dvakrát denně |
| U všech zvířat vybraných k funkčním pozorováním | Podrobná klinická pozorování | — před první expozicí — v průběhu 8 h po podání dávky v době odhadovaného nejvyššího účinku — 7. a 14. den po skončení dávkování | — před první expozicí — poté jednou týdně | — před první expozicí — jednou během prvního nebo druhého týdne expozice — poté měsíčně | — před první expozicí — jednou na konci prvního měsíce expozice — poté každé tři měsíce |
| | Funkční testy | — před první expozicí — v průběhu 8 h po podání dávky v době odhadovaného nejvyššího účinku — 7. a 14. den po skončení dávkování | — před první expozicí — během čtvrtého týdne aplikace co nejbliže ke konci období expozice | — před první expozicí — jednou během prvního nebo druhého týdne expozice — poté měsíčně | — před první expozicí — jednou na konci prvního měsíce expozice — poté každé tři měsíce |

PŘÍLOHA 2I

C.21. PŮDNÍ MIKROORGANISMY: ZKOUŠKA NA TRANSFORMACI DUSÍKU

1. METODA

Tato zkušební metoda je replikou metody OECD TG 216 (2000).

1.1 ÚVOD

Tato zkušební metoda popisuje laboratorní postup pro vyšetřování dlouhodobých účinků chemických látek po jednorázové expozici na aktivitu půdních mikroorganismů při transformaci dusíku. Tato zkouška je v zásadě založena na doporučení Evropské a středozevní organizace ochrany rostlin (*European and Mediterranean Plant Protection Organization*, EPPO) (1). Bylo však přihlédnuto i k jiným doporučením, např. doporučením německého ústavu Biologische Bundesanstalt (2), agentury US Environmental Protection Agency (3), společnosti SETAC (4) a Mezinárodní organizace pro normalizaci (5). O počtu a druzích půd, které mají být použity ve zkoušce, byla učiněna dohoda na semináři OECD o výběru půd a sedimentů v Belgirate v Itálii v roce 1995 (6). Doporučení pro odběr, zpracování a skladování půdních vzorků vychází ze směrnice ISO (7) a z doporučení semináře v Belgirate. Při posuzování a hodnocení toxických vlastností zkoušených látek bude zřejmě nezbytné stanovit účinky na aktivitu půdních mikroorganismů, např. jsou-li požadovány údaje o vedlejších účincích přípravků na ochranu rostlin na půdní mikroflóru nebo očekává-li se expozice půdních mikroorganismů chemickým látkám jiným než přípravkům na ochranu rostlin. Cílem zkoušky na transformaci dusíku je zjistit účinky takových chemických látek na půdní mikroflóru. Pokud se zkoušejí agrochemikálie (např. přípravky na ochranu rostlin, hnojiva, chemické přípravky pro lesnictví), provádí se jak zkouška na transformaci dusíku, tak zkouška na transformaci uhlíku. Pokud se zkoušejí jiné chemické látky než agrochemikálie, postačuje zkouška na transformaci dusíku. Nacházejí-li se však u těchto chemických látek hodnoty EC_{50} pro transformaci dusíku v rozpětí hodnot pro komerčně dostupné inhibitory nitrifikace (např. nitrapyrin), lze pro získání dalších informací provést zkoušku na transformaci uhlíku.

Půdy se skládají z živých a neživých složek, které se vyskytují ve formě složitých a heterogenních směsí. Mikroorganismy hrají důležitou roli v rozkladu a transformaci organických látek v úrodných půdách, přičemž různé druhy přispívají k různým aspektům úrodnosti půdy. Jakékoli dlouhodobé narušení těchto biochemických procesů může porušit koloběh živin a tak mít vliv na úrodnost půdy. K transformaci uhlíku a dusíku dochází u všech úrodných půd. Ačkoliv se populace mikroorganismů odpovědných za tyto procesy u jednotlivých půd liší, jedná se v podstatě o totéž schéma transformace.

Popsaná zkušební metoda slouží ke zjištění dlouhodobých nepříznivých účinků látky na proces transformace dusíku v aerobních povrchových půdách. Tato metoda rovněž umožňuje odhadnout účinky látek na transformaci uhlíku půdní mikroflórou. K tvorbě dusičnanů dochází po rozpadu vazeb uhlík-dusík. Pokud je tedy u zkušebních a kontrolních půd zjištěna stejná rychlost tvorby dusičnanů, je vysoce pravděpodobné, že hlavní schéma odbourávání uhlíku je neporušené a funkční. Substrát zvolený pro zkoušku (prášková vojtěšková moučka) má příznivý poměr uhlíku a dusíku (obvykle od 12/1 do 16/1). Je tedy snížen nedostatek uhlíku v průběhu zkoušky, a dojde-li k poškození populace mikroorganismů chemickou látkou, může k jejich obnově dojít opět do 100 dnů.

Zkouška, z níž vychází tato zkušební metoda, byla zprvu vyvinuta pro látky, u nichž lze předvídat množství, které pronikne do půdy. Příkladem jsou přípravky na ochranu rostlin, u nichž je polní aplikační dávka známá. U agrochemikálií postačuje provést zkoušku se dvěma úrovněmi dávky, které odpovídají předpokládané nebo odhadované aplikační dávce. U agrochemikálií lze zkoušet účinné složky nebo přípravky v komerční úpravě. Použití zkoušky však není omezeno pouze na agrochemikálie. Změnou množství zkoušené látky aplikované na půdu a způsobu vyhodnocení údajů lze zkoušku využít také pro chemické látky, u nichž není známo, v jakém množství proniknou do půdy. U jiných chemických látek než agrochemikálií se tedy stanovuje účinek řady koncentrací na transformaci dusíku. Data z těchto zkoušek se použijí k sestrojení křivky závislosti odezvy na dávce a k výpočtu hodnot EC_x , kde x je procentuální účinek.

1.2 DEFINICE

Transformace dusíku: je konečný rozklad dusíkaté organické látky mikroorganismy cestou amonifikace a nitrifikace na příslušný konečný anorganický produkt – dusičnan.

EC_x (Účinná koncentrace): je koncentrace zkoušené látky v půdě, která vede k x-procentní inhibici transformace dusíku na dusičnan.

EC₅₀ (Medián účinné koncentrace): je koncentrace zkoušené látky v půdě, která vede k 50 % inhibici transformace dusíku na dusičnan.

1.3 REFERENČNÍ LÁTKY

Žádné.

1.4 PODSTATA ZKUŠEBNÍ METODY

Do proseté půdy se vpraví prášková rostlinná moučka a na půdu se poté aplikuje zkoušená látka, nebo se půda ponechá nedotčená (jako kontrola). Při zkoušení agrochemikálií se doporučuje provést zkoušku s nejméně dvěma koncentracemi zvolenými tak, aby byly v určitém vztahu k nejvyšší předpokládané koncentraci na poli. Po 0, 7, 14 a 28 dnech inkubace se vzorky exponované a kontrolní půdy vyluhují vhodným rozpouštědlem a stanoví se obsah dusičnanů. Rychlost tvorby dusičnanů v exponovaných vzorcích se porovnává s rychlostí v kontrolních vzorcích a vypočte se procentuální odchylka hodnot experimentálních vzorků od kontrolních vzorků. Všechny zkoušky musí probíhat alespoň 28 dnů. Jsou-li 28. den rozdíly mezi experimentální a kontrolní půdou 25 % nebo větší, v měření se pokračuje až do 100 dnů. Při zkoušení jiných látek než agrochemikálií se do vzorků půdy přidá řada koncentrací zkoušené látky a množství vzniklých dusičnanů v experimentálních a kontrolních vzorcích se měří po 28denní inkubaci. Výsledky zkoušek s více koncentracemi se analyzují za použití regresního modelu a vypočtou se hodnoty EC_x (tj. EC₅₀, EC₂₅ a/nebo EC₁₀). Viz definice.

1.5 VALIDITA ZKOUŠKY

Vyhodnocení výsledků zkoušek u agrochemikálií se provádí s relativně malými rozdíly (tj. průměrná hodnota ± 25 %) mezi koncentracemi dusičnanů v kontrolní a exponovaných vzorcích, takže velké kolísání u kontrolních vzorků může vést k nesprávným výsledkům. Rozdíly mezi jednotlivými kontrolními vzorky by proto měly být menší než ± 15 %.

1.6 POPIS ZKUŠEBNÍ METODY

1.6.1 Zkušební zařízení

Při zkoušce se použijí nádoby z chemicky inertního materiálu. Měly by mít vhodný objem, který bude odpovídat postupu použitému pro inkubaci půdy, tzn. buď inkubace celého množství půdy, nebo inkubace jednotlivých vzorků půdy (viz oddíl 1.7.1.2). Je třeba, aby během zkoušky došlo k co nejmenším ztrátám vody a aby byla umožněna výměna plynů (např. tím, že se nádoby zakryjí perforovanou polyethylenovou fólií). Při zkoušení tekavých látek se použijí hermeticky uzavíratelné nádoby. Měly by být tak velké, aby přibližně jedna čtvrtina jejich objemu byla zaplněna vzorkem půdy.

Použije se standardní laboratorní vybavení, které zahrnuje

- třepačku: mechanickou třepačku nebo rovnocenné vybavení;
- odstředivku (3 000 g) nebo filtrační zařízení (za použití filtračního papíru bez dusičnanů);
- měřicí zařízení pro stanovení dusičnanů s vhodnou citlivostí a reprodukovatelností.

1.6.2 Výběr a počet půd

Použije se jedna půda. Půda by měla mít tyto charakteristiky:

- obsah písku: nejméně 50 % a nejvýše 75 %;
- pH: 5,5 – 7,5;
- obsah organického uhlíku: 0,5 – 1,5 %;
- stanoví se mikrobiální biomasa (8, 9) a její uhlík by měl tvořit nejméně 1 % celkového organického uhlíku v půdě.

Ve většině případů představuje půda s těmito charakteristikami nejhorší případ, neboť adsorpce zkoušené chemické látky je minimální a její dostupnost pro mikroorganismy je maximální. V důsledku toho je zpravidla zkoušení s dalšími půdami zbytečné. Za určitých okolností však může být použití další půdy nezbytné, např. při zamýšleném hlavním použití zkoušené látky na určité druhy půd, jako jsou kyselé lesní půdy nebo elektrostaticky nabitě půdy.

1.6.3 Odběr a skladování vzorků půd

1.6.3.1 Odběr

K dispozici by měly být podrobné informace o historii místa, ze kterého je půda odebírána. Mezi těmito informacemi musí být přesná poloha, vegetace, údaje o ošetřování přípravky na ochranu rostlin, použití organických a minerálních hnojiv, přídavky biologického materiálu nebo náhodná kontaminace. Pro odběr půdy by mělo být zvoleno místo, které umožňuje dlouhodobé používání. Vhodnými místy jsou trvalé pastviny, pole s jednoletými obilovinami (kromě kukuřice) nebo hustě oseté plochy zeleného hnojení. Místa vybraná pro odběr vzorků by neměla být minimálně jeden rok před odběrem ošetřována přípravky na ochranu rostlin. Rovněž by neměla být alespoň šest měsíců použita organická hnojiva. Použití minerálních hnojiv je přípustné pouze tehdy, je-li to nezbytné pro plodiny, a vzorky půdy by neměly být odebírány dříve než po třech měsících po aplikaci. Neměly by být používány půdy s hnojivy, o nichž je známo, že mají biocidní účinky (např. kyanamid vápenatý).

Vzorky by neměly být odebírány při dlouhých obdobích sucha nebo podmáčení (delších než 30 dnů) nebo po nich. Vzorky orných půd se odebírají z hloubky 0 až 20 cm. U luk (pastvin) nebo jiných půd, u nichž po delší dobu (alespoň po jedno vegetační období) nebyla prováděna orba, může maximální hloubka odběru nepatrně překračovat 20 cm (např. až 25 cm).

Vzorky půd by měly být přepravovány v takových nádobách a za takové teploty, aby bylo zaručeno, že se původní vlastnosti půdy významně nezmění.

1.6.3.2 Skladování

Upřednostňuje se použití čerstvě odebrané půdy. Pokud je skladování půdy v laboratoři nevyhnutelné, je možné ji skladovat v temnu při 4 °C (\pm 2 °C) maximálně po dobu tří měsíců. Během skladování půd musí být zajištěny aerobní podmínky. Pokud jsou půdy odebírány z oblastí, v nichž jsou po dobu alespoň tří měsíců v roce zmrzlé, lze zvážit šestiměsíční skladování při -18 °C až -22 °C. Před každým experimentem se stanoví mikrobiální biomasa skladovaných půd a uhlík pocházející z biomasy by měl tvořit nejméně 1 % celkového organického uhlíku v půdě (viz oddíl 1.6.2).

1.6.4 **Zacházení s půdou a její příprava pro zkoušku**

1.6.4.1 *Předběžná inkubace*

Pokud byla půda skladována (viz oddíl 1.6.3.2), doporučuje se provést předběžnou inkubaci v délce 2 až 28 dnů. Teplota a vlhkost půdy během předběžné inkubace by měly být podobné podmínkám při zkoušce (viz oddíly 1.6.4.2 a 1.7.1.3).

1.6.4.2 *Fyzikálně-chemické charakteristiky*

Z půdy se ručně odstraní velké kusy (např. kameny, části rostlin atd.) a poté se za vlhka, aniž je půda nadměrně vysoušena, prosejí částice o velikosti 2 mm a menší. Vlhkost vzorku půdy se upraví destilovanou nebo deionizovanou vodou na hodnotu 40 % až 60 % maximální vodní kapacity.

1.6.4.3 *Obohacení organickým substrátem*

Půda by měla být obohacena vhodným organickým substrátem, např. zelenou travní moučkou s vojtěškou (hlavní složka: *Medicago sativa*) s poměrem C/N od 12/1 do 16/1. Doporučená dávka vojtěškové moučky je 5 g vojtěšky na kilogram půdy (vztaženo na sušinu).

1.6.5 **Příprava zkoušené látky pro aplikaci na půdu**

Zkoušená látka se obvykle aplikuje pomocí nosiče. Nosičem může být voda (u látek rozpustných ve vodě) nebo inertní tuhá látka, např. jemný křemičitý písek (velikost zrna: 0,1 – 0,5 mm). Jiné kapalné nosiče než voda (např. organická rozpouštědla jako aceton, chloroform) by neměly být používány, neboť mohou zničit mikroflóru. Použije-li se jako nosič písek, může být obalen zkoušenou látkou rozpuštěnou nebo rozptýlenou ve vhodném rozpouštědle. V takovém případě se rozpouštědlo před smísením s půdou odstraní odpařením. Pro optimální rozptýlení zkoušené látky v půdě se doporučuje použít 10 g písku na kilogram půdy (vztaženo na sušinu). Do kontrolních vzorků se aplikuje pouze odpovídající množství vody a/nebo písku.

Při zkoušení těkavých chemických látek je třeba pokud možno zabránit ztrátám při aplikaci a pokusit se o homogenní rozptýlení látky v půdě (látka se např. nastříkne do půdy na více místech).

1.6.6 **Zkušební koncentrace**

Při zkoušení agrochemikálií se použijí alespoň dvě koncentrace. Nižší koncentrace by měla odpovídat přinejmenším maximálnímu očekávanému množství látky, které se v reálných podmínkách dostane do půdy, zatímco vyšší koncentrace by měla být násobkem nižší koncentrace. Výpočet koncentrace zkoušené látky přidávané do půdy se provede za předpokladu rovnoměrného zapravení do hloubky 5 cm a pro sypnou hustotu půdy 1,5. U agrochemikálií, které se aplikují přímo do půdy, nebo u chemikálií, u nichž lze množství, které se dostane do půdy, předpovědět, jsou doporučenými zkušebními koncentracemi maximální předpokládané koncentrace v životním prostředí (*Predicted Environmental Concentration*, PEC) a jejich pětinašobky. U látek, které se zpravidla aplikují do půdy několikrát za sezónu, se zkušební koncentrace odvodí ze součinu PEC a očekávaného maximálního počtu aplikací. Horní koncentrace by však neměla překročit desetinašobek maximální jednorázově aplikované dávky. U jiných látek než agrochemikálií se použije geometrická řada nejméně pěti koncentrací. V rozpětí těchto zkušebních koncentrací by se měly nacházet stanovené hodnoty EC_x.

1.7 PROVEDENÍ ZKOUŠKY

1.7.1 Podmínky expozice

1.7.1.1 *Expozice a kontrola*

Při zkoušení agrochemikálií se půda rozdělí na tři díly o stejné hmotnosti. Dva díly se smísí s nosičem obsahujícím látku a třetí díl se smísí pouze s nosičem (kontrola). Doporučuje se, aby byla zkouška provedena s minimálně třemi duplikátními vzorky exponovaných i neexponovaných půd. Při zkoušení jiných látek než agrochemikálií se půda rozdělí na šest dílů o stejné hmotnosti. Pět vzorků se smísí s nosičem obsahujícím zkoušenou látku a šestý vzorek se smísí pouze s nosičem bez chemické látky. Doporučuje se použít tři duplikátní vzorky exponované i neexponované půdy. Je třeba věnovat pozornost homogennímu rozptýlení zkoušené látky v exponovaných vzorcích půdy. Při mísení by nemělo docházet k hutnění nebo shlukování půdy.

1.7.1.2 *Inkubace vzorků půd*

Inkubaci vzorků půd lze provést dvěma způsoby: se souhrnným vzorkem exponované půdy a souhrnným vzorkem neexponované půdy, nebo se sériemi jednotlivých stejně velkých dílčích vzorků jak exponované, tak neexponované půdy. U těkavých látek se však zkouška provádí pouze se sériemi jednotlivých dílčích vzorků. Pokud se inkubují souhrnné vzorky, připraví se velká množství exponované a neexponované půdy a během zkoušky se podle potřeby odebírají dílčí vzorky k analýze. Výchozí množství připravené pro exponované vzorky a kontrolní vzorky závisí na velikosti dílčích vzorků, počtu duplikátních vzorků použitých pro analýzu a na předpokládaném počtu intervalů, v nichž se odeberou vzorky. Půdy inkubované jako souhrnný vzorek se před odběrem dílčích vzorků důkladně promísí. Pokud se inkubují série jednotlivých vzorků půd, rozdělí se souhrnný vzorek exponované půdy a souhrnný vzorek neexponované půdy na požadovaný počet dílčích vzorků a ty se použijí podle potřeby. U experimentů, kdy lze předpokládat více než dva intervaly odběru, by měl být připraven dostatečný počet dílčích vzorků s ohledem na všechny duplikátní vzorky a všechny intervaly odběru. Alespoň tři duplikátní vzorky zkušební půdy měly být inkubovány za aerobních podmínek (viz oddíl 1.7.1.1). U všech zkoušek by měly být použity vhodné nádoby s dostatečným prostorem pod víkem, aby nenastaly anaerobní podmínky. U těkavých látek se zkouška provádí pouze se sériemi jednotlivých dílčích vzorků.

1.7.1.3 *Podmínky zkoušky a její trvání*

Zkouška se provádí v temnu při pokojové teplotě 20 °C (± 2 °C). Vlhkost vzorku půdy se udržuje po dobu zkoušky v rozmezí 40 % až 60 % (± 5 %) maximální vodní kapacity půdy (viz oddíl 1.6.4.2). Podle potřeby se přidává destilovaná nebo deionizovaná voda.

Zkoušky trvají nejméně 28 dnů. Při zkouškách agrochemikálií se porovnávají rychlosti tvorby dusičnanů v exponovaných a kontrolních vzorcích. Pokud se 28. dne tyto rychlosti liší o více než 25 %, pokračuje se ve zkoušce do doby, než rozdíl klesne na 25 % a méně, nebo do 100 dnů, podle toho, co nastane dříve. U jiných látek než agrochemikálií se zkouška ukončí po 28 dnech. 28. den se stanoví množství dusičnanů v exponovaných a kontrolních vzorcích a vypočítají se hodnoty EC_x.

1.7.2 Odběry vzorků a analýzy půd

1.7.2.1 *Intervaly odběru vzorků*

Při zkoušení agrochemikálií se obsah dusičnanů ve vzorcích analyzuje v 0., 7., 14. a 28. den. Pokud se zkouška prodlužuje, provede se další měření ve 14denních intervalech po 28. dni.

Při zkoušení jiných látek než agrochemikálií se použije alespoň pět zkušebních koncentrací a obsah dusičnanů se ve vzorcích půd analyzuje na začátku expoziční doby (den 0) a na jeho konci (po 28 dnech). Je-li to považováno za nutné, lze provést další průběžné měření, např. v 7. den. Data získaná 28. den se použijí pro stanovení hodnoty EC_x chemické látky. Podle potřeby lze data ze dne 0 u kontrolních vzorků použít ve zprávě jako výchozí koncentraci dusičnanů v půdě.

1.7.2.2 Analýza vzorků půd

Pro každý čas odběru vzorků se v exponovaných i kontrolních vzorcích stanoví obsah dusičnanů. Dusičnany se extrahují ze vzorků třepáním s vhodným extrakčním roztokem, např. s 0,1M roztokem chloridu draselného. Doporučuje se použít 5 ml roztoku KCl na gram sušiny půdy. Při optimální extrakci by měly být nádoby s půdou a extrakčním roztokem naplněny nejvýše z jedné poloviny. Směsi se extrahují třepáním při 150 ot./min. po dobu 60 minut. Směsi se odstředí nebo zfiltrují a kapalná fáze se analyzuje na dusičnany. Kapalný extrakt zbavený pevných částic lze před analýzou skladovat při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) po dobu šesti měsíců.

2. DATA

2.1 ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ

Při zkoušení agrochemikálií se zaznamená množství vytvořených dusičnanů v každém duplikátním vzorku a průměrné hodnoty se zaznamenají do tabulky. Rychlost přeměny dusíku se vyhodnotí vhodnými všeobecně uznávanými statistickými metodami (např. F-testem při 5 % hladině významnosti). Množství vzniklých dusičnanů se vyjádří v mg dusičnanů na kg sušiny půdy za den. Rychlost tvorby dusičnanů se pro každou expozici porovná s rychlostí získanou pro kontrolní vzorky a vypočte se odchylka od kontrolních vzorků v procentech.

Při zkoušení jiných látek než agrochemikálií se stanoví množství dusičnanů v každém duplikátním vzorku a pro účely odhadu hodnot EC_x se sestrojí křivka závislosti odezvy na dávce. Množství dusičnanů (tj. množství dusičnanů v mg na kg sušiny půdy) zjištěná v exponovaných vzorcích po 28 dnech se porovnají s hodnotami zjištěnými u kontrolních vzorků. Z těchto údajů se pro každou zkušební koncentraci vypočte velikost inhibice v procentech. Tyto hodnoty v procentech se zanesou do grafu proti koncentraci a poté se statistickými metodami vypočítají hodnoty EC_x . Standardními metodami (10, 11, 12) se rovněž vypočítají intervaly spolehlivosti ($p = 0,95$) pro vypočtené hodnoty EC_x .

Zkoušené látky s vysokým obsahem dusičnanů mohou přispívat k množství dusičnanu vytvořeného při zkoušce. Pokud se zkouší vysoké koncentrace těchto látek (např. chemikálie, u nichž se očekává opakované použití), musí být součástí zkoušky vhodné kontrolní vzorky (tj. půda a zkoušená látka bez rostlinné moučky). Data z těchto kontrol musí být zohledněna při výpočtech EC_x .

2.2 INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Pokud je při hodnocení výsledků zkoušek s agrochemikáliemi při jakémkoli odběru po 28 dnech rozdíl rychlosti tvorby dusičnanů při nižší expozici (tj. při maximální očekávané koncentraci) a rychlosti tvorby v kontrolách roven 25 % nebo nižší, lze konstatovat, že zkoušená látka nemá dlouhodobý vliv na transformaci dusíku v půdách. Pro hodnocení výsledků zkoušek jiných látek než agrochemikálií se použijí hodnoty EC_{50} , EC_{25} a/nebo EC_{10} .

3. ZPRÁVY

Protokol o zkoušce musí obsahovat následující informace:

Úplnou identifikaci použité půdy zahrnující tyto údaje:

- zeměpisná poloha místa (zeměpisná šířka a délka);
- informace a historii místa (tj. vegetační kryt, ošetření přípravky na ochranu rostlin, použití hnojiv, náhodná kontaminace atd.);
- způsob využití (např. zemědělská půda, les atd.);
- hloubka odběru vzorků (cm);
- obsah písku/prachu/jílu (v % sušiny);
- pH (ve vodě);
- obsah organického uhlíku (v % sušiny);
- obsah dusíku (v % sušiny);
- výchozí koncentrace dusičnanů (mg dusičnanů na kg sušiny);
- kapacita výměny kationů (mmol/kg);
- mikrobiální biomasa v procentech celkového organického uhlíku;
- odkaz na metody použité pro stanovení jednotlivých parametrů;
- všechny informace týkající se odběru a skladování vzorků půd;
- podrobné údaje o případné předběžné inkubaci půdy.

Zkoušená látka:

- fyzikální povaha a případně fyzikálně-chemické vlastnosti;
- případně údaje o chemické identifikaci, včetně strukturního vzorce, čistoty (tj. procentuální obsah účinné složky u přípravků na ochranu rostlin), obsahu dusíku.

Substrát:

- zdroj substrátu;
- složení (tj. vojtěšková moučka, zelená travní moučka s vojtěškou);
- obsah uhlíku, dusíku (v % sušiny);
- velikost síta (mm).

Zkušební podmínky:

- podrobné údaje o obohacení půdy organickým substrátem;
- počet použitých koncentrací zkoušené látky, popřípadě zdůvodnění volby koncentrací;
- podrobné údaje o aplikaci zkoušené látky do půdy;
- inkubační teplota;
- vlhkost půdy na začátku zkoušky a v jejím průběhu;
- použitá metoda inkubace půdy (tj. inkubace souhrnného vzorku, nebo inkubace jednotlivých dílčích vzorků půdy);
- počet duplikátních vzorků;
- doby odběru vzorků;
- metoda použitá pro extrakci dusičnanů z půdy.

Výsledky:

- postup analýzy a zařízení použité pro stanovení dusičnanů;
- jednotlivé naměřené hodnoty obsahu dusičnanů a jejich průměrné hodnoty ve formě tabulky;
- rozdíly mezi duplikátními vzorky u exponovaných a kontrolních vzorků půd;
- podle potřeby vysvětlení oprav provedených při výpočtech;
- procentuální odchylka v rychlosti tvorby dusičnanů pro každou dobu odběru vzorků, popřípadě hodnota EC_{50} s 95 % intervalem spolehlivosti, jiné hodnoty EC_x (tj. EC_{25} nebo EC_{10}) s intervaly spolehlivosti a graf křivky závislosti odpovědi na dávce;
- statistické zpracování výsledků;
- všechny informace a pozorování užitečné pro interpretaci výsledků.

4. LITERATURA

- (1) EPPO (1994). Decision-Making Scheme for the Environmental Risk Assessment of Plant Protection Chemicals. Chapter 7: Soil Microflora. EPPO Bulletin 24: 1 – 16, 1994.
- (2) BBA (1990). Effects on the Activity of the Soil Microflora. BBA Guidelines for the Official Testing of Plant Protection Products, VI, 1 – 1 (2. vyd., 1990).
- (3) EPA (1987). Soil Microbial Community Toxicity Test. EPA 40 CFR Part 797.3700. Toxic Substances Control Act Test Guidelines; Proposed rule. September 28, 1987.
- (4) SETAC-Europe (1995). Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides, (ed. M. R. Lynch), Pub. SETAC-Europe, Brussels.
- (5) ISO/DIS 14238 (1995). Soil Quality – Determination of Nitrogen Mineralisation and Nitrification in Soils and the Influence of Chemicals on these Processes. Technical Committee ISO/TC 190/SC 4: Soil Quality – Biological Methods.
- (6) OECD (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/Sediments, Belgirate, Italy, 18-20 January 1995.
- (7) ISO 10381-6 (1993). Soil quality – Sampling. Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in the laboratory.
- (8) ISO 14240-1 (1997). Soil quality – Determination of soil microbial biomass - Part 1: Substrate-induced respiration method.
- (9) ISO 14240-2 (1997). Soil quality – Determination of soil microbial biomass – Part 2: Fumigation-extraction method.
- (10) Litchfield, J. T., Wilcoxon F. (1949). A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *Jour. Pharmacol. Exper. Ther.*, 96, 99 – 113.
- (11) Finney, D. J. (1971). Probit Analysis. 3. vyd., Cambridge, London, New York.
- (12) Finney, D. J. (1978). Statistical Methods in biological Assay. Griffin, Weycombe, UK.

C.22. PŮDNÍ MIKROORGANISMY: ZKOUŠKA NA TRANSFORMACI UHLÍKU**1. METODA**

Tato metoda je replikou metody OECD TG 217 (2000).

1.1 ÚVOD

Tato zkušební metoda popisuje laboratorní postup pro vyšetřování možných dlouhodobých účinků jednorázové expozice přípravkům na ochranu rostlin a popřípadě jiným chemickým látkám na aktivitu půdních mikroorganismů při transformaci uhlíku. Tato zkouška je v zásadě založena na doporučení Evropské a středozevní organizace ochrany rostlin (*European and Mediterranean Plant Protection Organization, EPPO*) (1). Bylo však přihlédnuto k jiným doporučením např. doporučením německého ústavu *Biologische Bundesanstalt* (2), agentury *US Environmental Protection Agency* (3) a společnosti *SETAC* (4). O počtu a druzích půd využitelných pro tuto zkoušku byla učiněna dohoda na semináři OECD o výběru půd a sedimentů v Belgirate, Itálii v roce 1995 (5). Doporučení pro odběr, zpracování a skladování půdních vzorků je založeno na směrnici ISO (6) a na doporučeních ze semináře v Belgirate.

Při posuzování a hodnocení toxických vlastností zkoušených látek může být žádoucí stanovit účinky na aktivitu půdních mikroorganismů, např. jsou-li požadovány údaje o vedlejších účincích přípravků na ochranu rostlin na půdní mikroflóru nebo očekává-li se expozice půdních mikroorganismů chemickým látkám jiným než přípravkům na ochranu rostlin. Cílem zkoušky na transformaci uhlíku je zjistit účinky takových chemických látek na půdní mikroflóru. Pokud se zkoušejí agrochemikálie (např. přípravky na ochranu rostlin, hnojiva, chemické přípravky pro lesnictví), provádí se jak zkouška na transformaci uhlíku, tak zkouška na transformaci dusíku. Pokud se zkoušejí jiné chemické látky než agrochemikálie, postačuje zkouška na transformaci dusíku. Nacházejí-li se však u těchto chemických látek hodnoty EC_{50} pro transformaci dusíku v rozpětí hodnot zjištěných pro komerčně dostupné inhibitory nitrifikace (např. nitrapyrin), lze pro získání dalších informací provést zkoušku na transformaci uhlíku.

Půdy se skládají z živých a neživých složek, které se vyskytují ve formě složitých a heterogenních směsí. Mikroorganismy hrají důležitou roli v rozkladu a transformaci organických látek v úrodných půdách, přičemž různé druhy přispívají k různým aspektům úrodnosti půdy. Jakékoli dlouhodobé porušení těchto biochemických procesů by mohlo porušit koloběh živin a to by mohlo mít vliv na úrodnost půdy. K transformaci uhlíku a dusíku dochází u všech úrodných půd. Ačkoliv se populace mikroorganismů odpovídajících za tyto procesy u jednotlivých půd liší, jedná se v podstatě o totéž schéma transformace.

Popsaná zkušební metoda slouží ke zjištění dlouhodobých nepříznivých účinků látky na proces transformace uhlíku v aerobních povrchových půdách. Zkouška je citlivá na změny ve velikosti a aktivitě mikrobiální populace, která je odpovědná za transformaci uhlíku, neboť tyto populace budou vystaveny jak chemickému stresu, tak nedostatku uhlíku. Použijí se písčité půdy s nízkým obsahem organického materiálu. Tyto půdy se exponují zkoušené látce a inkubují za podmínek, které umožňují rychlý mikrobiální metabolismus. Za těchto podmínek se zdroje snadno dostupného uhlíku rychle vyčerpají. To způsobí nedostatek uhlíku, který vede nejen k odumření mikrobiálních buněk, ale také indukuje klidové stadium a/nebo tvorbu sporů. Pokud se zkouška provádí déle než 28 dnů, lze souhrn těchto reakcí měřit v kontrolních vzorcích (neexponovaná půda) jako postupnou ztrátu metabolicky aktivní mikrobiální biomasy (7). Pokud je biomasa v půdě s nedostatkem uhlíku za podmínek zkoušky ovlivněna přítomností chemické látky, pravděpodobně se nevrátí do téhož stavu jako kontrolní vzorek. Porušení stavu způsobené zkoušenou látkou kdykoliv během zkoušky tedy často přetrvává až do konce zkoušky.

Zkouška, na níž je založena tato zkušební metoda, byla zprvu vyvinuta pro látky, u nichž lze předvídat množství, které pronikne do půdy. Příkladem jsou přípravky na ochranu rostlin, u nichž je polní aplikační dávka známá. U agrochemikálií postačuje provést zkoušku se dvěma úrovněmi dávky, které odpovídají předpokládané nebo odhadované aplikační dávce. U agrochemikálií lze zkoušet účinné složky nebo přípravky v komerční úpravě. Zkouška však není omezena na chemické látky, jejichž koncentraci v životním prostředí lze předpovědět. Změnou množství zkoušené látky aplikované na půdu a způsobu vyhodnocení údajů lze zkoušku využít také pro chemické látky, u nichž není známo, v jakém množství proniknou do půdy. U jiných chemických látek než agrochemikálií se proto stanovuje účinek řady koncentrací na transformaci uhlíku. Údaje z těchto zkoušek se použijí k sestavení křivky závislosti odezvy na dávce a k výpočtu hodnot EC_x , kde x je procentuální účinek.

1.2 DEFINICE

Transformace uhlíku: je rozklad organického materiálu působením mikroorganismů, jehož výsledkem je konečný produkt - anorganický oxid uhličitý.

EC_x (Účinná koncentrace): je koncentrace zkoušené látky v půdě, která vede k x -procentní inhibici transformace uhlíku na oxid uhličitý.

EC_{50} (Medián účinné koncentrace): je koncentrace zkoušené látky v půdě, která vede k 50 % inhibici transformace uhlíku na oxid uhličitý.

1.3 REFERENČNÍ LÁTKY

Žádné.

1.4 PODSTATA ZKUŠEBNÍ METODY

Prosetá půda se buď exponuje zkušební látce, nebo se ponechá neexponovaná (kontrola). Při zkoušení agrochemikálií se doporučuje provést zkoušku s nejméně dvěma koncentracemi zvolenými tak, aby byly v určitém vztahu k nejvyšší předpokládané koncentraci na poli. Po 0, 7, 14 a 28 dnech inkubace se vzorky exponované a kontrolní půdy smísí s glukosou a po následujících 12 h se měří respirační rychlost vyvolaná glukosou. Respirační rychlost se vyjádří jako uvolněný oxid uhličitý (v mg oxidu uhličitého na kg sušiny za hodinu) nebo jako spotřebovaný kyslík (v mg kyslíku na kg půdy za hodinu). Průměrná respirační rychlost u exponovaných vzorků půd se porovná s rychlostí u kontrolních vzorků a vypočte se procentuální odchylka exponovaných vzorků od kontrolních vzorků. Všechny zkoušky musí probíhat alespoň 28 dnů. Jsou-li 28. den rozdíly mezi experimentální a kontrolní půdou rovné 25 % nebo větší, v měření se pokračuje ve 14denních intervalech nejdéle do 100 dnů. Při zkoušení jiných chemických látek než agrochemikálií se do vzorků půdy přidá řada koncentrací zkoušené látky a respirační rychlost vyvolaná glukosou (tj. průměrné množství uvolněného oxidu uhličitého nebo spotřebovaného kyslíku) se změří po 28 dnech. Výsledky zkoušek s řadou koncentrací se analyzují za použití regresního modelu a vypočtou se hodnoty EC_x (tj. EC_{50} , EC_{25} a/nebo EC_{10}). Viz definice.

1.5 VALIDITA ZKOUŠKY

Vyhodnocení výsledků zkoušek u agrochemikálií se provádí s relativně malými rozdíly (tj. průměrná hodnota ± 25 %) mezi uvolněným oxidem uhličitým nebo spotřebovaným kyslíkem u kontrolních a exponovaných vzorků, takže velké kolísání u kontrolních vzorků může vést k nesprávným výsledkům. Rozdíly mezi jednotlivými kontrolními vzorky by proto měly být menší než ± 15 %.

1.6 POPIS METODY

1.6.1 Zkušební zařízení

Při zkoušce se použijí nádoby z chemicky inertního materiálu. Měly by mít vhodný objem, který bude odpovídat postupu použitému pro inkubaci půdy, tzn. buď inkubace souhrnného vzorku půdy, nebo inkubace jednotlivých vzorků půdy (viz oddíl 1.7.1.2). Je třeba, aby během zkoušky došlo k co nejmenším ztrátám vody a aby byla umožněna výměna plynů (např. tím, že se nádoby zakryjí perforovanou polyethylenovou fólií). Při zkoušení těkavých látek se použijí hermeticky uzavíratelné nádoby. Měly by být tak velké, aby přibližně jedna čtvrtina jejich objemu byla zaplněna vzorkem půdy.

Pro stanovení respirace vyvolané glukosou jsou nezbytné inkubační systémy a přístroje pro měření uvolňovaného oxidu uhličitého nebo spotřeby kyslíku. Příklady takových systémů lze nalézt v literatuře (8, 9, 10, 11).

1.6.2 Výběr a počet půd

Použije se jedna půda. Půda by měla mít tyto vlastnosti:

- obsah písku: nejméně 50 % a nejvýše 75 %;
- pH: 5,5 – 7,5;
- obsah organického uhlíku: 0,5 – 1,5 %;
- stanoví se mikrobiální biomasa (12, 13) a její obsah uhlíku by měl tvořit nejméně 1 % celkového organického uhlíku v půdě.

Ve většině případů představuje půda s těmito charakteristikami nejkonzervativnější případ, neboť adsorpce zkoušené chemické látky je minimální a její dostupnost pro mikroorganismy je maximální. V důsledku toho je zpravidla zkoušení s dalšími půdami zbytečné. Za určitých okolností však může být použití další půdy nezbytné, např. při zamýšleném hlavním použití zkoušené látky na určité druhy půd, jako jsou kyselé lesní půdy nebo elektrostaticky nabitě půdy.

1.6.3 Odběr a skladování vzorků půd

1.6.3.1 Odběr

K dispozici by měly být podrobné informace o historii místa, ze kterého je půda odebírána. Mezi těmito informacemi musí být přesná poloha, vegetace, údaje o ošetřování přípravky na ochranu rostlin, použití organických a minerálních hnojiv, přísady biologického materiálu nebo náhodná kontaminace. Pro odběr půdy by mělo být zvoleno místo, které umožňuje dlouhodobé používání. Vhodnými místy jsou trvalé pastviny, pole s jednoletými obilovinami (kromě kukuřice) nebo hustě oseté plochy zeleného hnojení. Místa vybraná pro odběr vzorků by neměla být minimálně jeden rok před odběrem ošetřována přípravky na ochranu rostlin. Rovněž by neměla být alespoň šest měsíců použita organická hnojiva. Použití minerálních hnojiv je přípustné pouze tehdy, je-li to nezbytné pro plodiny, a vzorky půdy by neměly být odebírány dříve než po třech měsících po aplikaci. Neměly by být používány půdy s hnojivy, o nichž je známo, že mají biocidní účinky (např. kyanamid vápenatý).

Vzorky by neměly být odebírány při dlouhých obdobích sucha nebo podmáčení (delších než 30 dnů) nebo po nich. Vzorky orných půd se odebírají z hloubky 0 až 20 cm. U luk (pastvin) nebo jiných půd, u nichž po delší dobu (alespoň po jedno vegetační období) nebyla prováděna orba, může maximální hloubka odběru mírně překračovat 20 cm (např. až 25 cm). Vzorky půd by měly být přepravovány v takových nádobách a za takové teploty, aby bylo zaručeno, že se původní vlastnosti půdy významně nezmění.

1.6.3.2 Skladování

Upřednostňuje se použití čerstvě odebrané půdy. Pokud je skladování půdy v laboratorii nevyhnutelné, může být skladována v temnu při $4\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ po dobu maximálně tří měsíců. Během skladování půd musí být zajištěny aerobní podmínky. Pokud jsou půdy odebrány z oblastí, v nichž jsou po dobu alespoň tří měsíců v roce zmrzlé, lze zvážit šestiměsíční skladování při -18 °C . Před každým experimentem se stanoví mikrobiální biomasa skladovaných půd a uhlík pocházející z biomasy by měl tvořit nejméně 1 % celkového organického uhlíku v půdě (viz oddíl 1.6.2).

1.6.4 Zacházení s půdou a její příprava pro zkoušku

1.6.4.1 Předběžná inkubace

Pokud byla půda skladována (viz oddíl 1.6.3.2 a 1.7.1.3), doporučuje se provést předběžnou inkubaci v délce 2 až 28 dnů. Teplota a vlhkost půdy během předběžné inkubace by měly být podobné podmínkám při zkoušce (viz oddíly 1.6.4.2 a 1.7.1.3).

1.6.4.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti

Z půdy se ručně odstraní velké kusy (např. kameny, části rostlin atd.) a poté se za vlhka, aniž je půda nadměrně vysoušena, prosejí částice o velikosti 2 mm a menší. Vlhkost vzorku půdy se upraví destilovanou nebo deionizovanou vodou na hodnotu 40 % až 60 % maximální vodní kapacity.

1.6.5 Příprava zkoušené látky pro aplikaci na půdu

Zkoušená látka se obvykle aplikuje pomocí nosiče. Nosičem může být voda (u látek rozpustných ve vodě) nebo inertní tuhá látka, např. jemný křemičitý písek (velikost zrna: 0,1 – 0,5 mm). Jiné kapalné nosiče než voda (např. organická rozpouštědla jako aceton, chloroform) by neměly být používány, neboť mohou zničit mikroflóru. Použije-li se jako nosič písek, může být obalen zkoušenou látkou rozpuštěnou nebo rozptýlenou ve vhodném rozpouštědle. V takovém případě se rozpouštědlo před smísením s půdou odstraní odpařením. Pro optimální rozptýlení zkoušené látky v půdě se doporučuje použít 10 g písku na kilogram půdy (vztaženo na sušinu). Do kontrolních vzorků se aplikuje pouze odpovídající množství vody a/nebo písku.

Při zkoušení tekavých chemických látek je třeba zabránit ztrátám při aplikaci a pokusit se o homogenní rozptýlení látky v půdě (látka se např. nastříkne do půdy na více místech).

1.6.6 Zkušební koncentrace

Při zkoušení přípravků na ochranu rostlin nebo jiných chemických látek, u nichž lze předpovědět koncentraci v životním prostředí, se použijí alespoň dvě koncentrace. Nižší koncentrace by měla odpovídat přinejmenším maximálnímu očekávanému množství látky, které v reálných podmínkách pronikne do půdy, zatímco vyšší koncentrace by měla být násobkem nižší koncentrace. Výpočet koncentrace zkoušené látky přidávané do půdy se provede za předpokladu rovnoměrného zapravení do hloubky 5 cm a pro sypnou hustotu půdy 1,5. U agrochemikálií, které se aplikují přímo do půdy, nebo u chemikálií, u nichž lze množství, které se dostane do půdy, předpovědět, jsou doporučenými zkušebními koncentracemi předpokládané koncentrace v životním prostředí (*Predicted Environmental Concentration*, PEC) a jejich pětinašobky. U látek, které se zpravidla aplikují do půdy několikrát za sezónu, se zkušební koncentrace odvodí ze součinu PEC a očekávaného maximálního počtu aplikací. Horní koncentrace by však neměla překročit desetinásobek maximální jednorázově aplikované dávky.

U jiných látek než agrochemikálií se použije geometrická řada nejméně pěti koncentrací. V rozpětí těchto zkušebních koncentrací by se měly nacházet stanovované hodnoty EC_x .

1.7 PROVEDENÍ ZKOUŠKY

1.7.1 Podmínky expozice

1.7.1.1 *Expozice a kontrola*

Při zkoušení agrochemikálií se půda rozdělí na tři díly o stejné hmotnosti. Dva díly se smísí s nosičem obsahujícím látku a třetí díl se smísí pouze s nosičem (kontrola). Doporučuje se, aby byla zkouška provedena s minimálně třemi duplikátními vzorky exponovaných i neexponovaných půd. Při zkoušení jiných látek než agrochemikálií se půda rozdělí na šest dílů o stejné hmotnosti. Pět vzorků se smísí s nosičem obsahujícím zkoušenou látku a šestý vzorek se smísí pouze s nosičem bez chemické látky. Doporučuje se použít tři duplikátní vzorky exponované i neexponované půdy. Je třeba věnovat pozornost homogennímu rozptýlení zkoušené látky v exponovaných vzorcích půdy. Při mísení by nemělo docházet k hutnění nebo shlukování půdy.

1.7.1.2 *Inkubace vzorků půd*

Inkubaci vzorků půd lze provést dvěma způsoby: se souhrnným vzorkem exponované půdy a souhrnným vzorkem neexponované půdy, nebo se sériemi jednotlivých stejně velkých dílčích vzorků jak exponované, tak neexponované půdy. U těkavých látek se však zkouška provádí pouze se sériemi jednotlivých dílčích vzorků. Pokud se inkubují souhrnné vzorky, připraví se velká množství exponované a neexponované půdy a během zkoušky se podle potřeby odebírají dílčí vzorky k analýze. Výchozí množství připravené pro exponované vzorky a kontrolní vzorky závisí na velikosti dílčích vzorků, počtu duplikátních vzorků použitých pro analýzu a na předpokládaném počtu intervalů, v nichž se odeberou vzorky. Půdy inkubované jako souhrnný vzorek se před odběrem dílčích vzorků důkladně promísí. Pokud se inkubují série jednotlivých vzorků půd, rozdělí se souhrnný vzorek exponované půdy a souhrnný vzorek neexponované půdy na požadovaný počet dílčích vzorků a ty se použijí podle potřeby. U experimentů, kdy lze předpokládat více než dva intervaly odběru, by měl být připraven dostatečný počet dílčích vzorků s ohledem na všechny duplikátní vzorky a všechny intervaly odběru. Alespoň tři duplikátní vzorky zkušební půdy měly být inkubovány za aerobních podmínek (viz oddíl 1.7.1.1). U všech zkoušek by měly být použity vhodné nádoby s dostatečným prostorem pod víkem, aby nenastaly anaerobní podmínky. U těkavých látek se zkouška provádí pouze se sériemi jednotlivých dílčích vzorků.

1.7.1.3 *Podmínky zkoušky a její trvání*

Zkouška se provádí v temnu při pokojové teplotě 20 °C (\pm 2 °C). Vlhkost vzorku půdy se udržuje po dobu zkoušky v rozmezí 40 % až 60 % (\pm 5 %) maximální vodní kapacity půdy (viz oddíl 1.6.4.2). Podle potřeby se přidává destilovaná nebo deionizovaná voda.

Zkoušky trvají nejméně 28 dnů. Při zkouškách agrochemikálií se porovná množství uvolněného oxidu uhličitého nebo množství spotřebovaného kyslíku v exponovaných a kontrolních vzorcích. Pokud se 28. dne tyto rychlosti liší o více než 25 %, pokračuje se ve zkoušce do doby, než rozdíl klesne na 25 % a méně, nebo do 100 dnů, podle toho, co nastane dříve. U jiných chemických látek než agrochemikálií se zkouška ukončí po 28 dnech. 28. den se stanoví množství uvolněného oxidu uhličitého nebo množství spotřebovaného kyslíku u exponovaných a kontrolních vzorků a vypočítají se hodnoty EC_x.

1.7.2 Odběry vzorků a analýzy půd

1.7.2.1 *Intervaly odběru vzorků*

Při zkoušení agrochemikálií se rychlost respirace vyvolané glukosou ve vzorcích analyzuje 0., 7., 14. a 28. den. Pokud se zkouška prodlužuje, provede se další měření ve 14denních intervalech po 28. dni.

Při zkoušení jiných látek než agrochemikálií se použije alespoň pět zkušebních koncentrací a obsah respirace vyvolané glukosou se ve vzorcích půd analyzuje na začátku expoziční doby (den 0) a na jejím konci (po 28 dnech). Je-li to považováno za nutné, lze provést další průběžná měření, např. 7. den. Data získaná 28. den se použijí pro stanovení EC_x chemické látky. V případě potřeby lze data ze dne 0 u kontrolních vzorků použít k odhadu výchozího množství metabolicky aktivní mikrobiální biomasy v půdě.

1.7.2.2 Měření rychlosti respirace vyvolané glukosou

Pro každý okamžik odběru vzorků se v exponovaných i kontrolních vzorcích stanoví rychlost respirace vyvolané glukosou. Vzorky půd se smísí s dostatečným množstvím glukosy, aby se ihned vyvolala maximální respirační odezva. Množství glukosy potřebné pro vyvolání maximální respirační odezvy u dané půdy lze stanovit v orientační zkoušce se sérií koncentrací glukosy (14). U písčitých půd s obsahem organického uhlíku od 0,5 do 1,5 % obvykle stačí 2 000 mg až 4 000 mg glukosy na kg sušiny. Glukosu lze rozmělnit na prášek s čistým křemenným pískem (10 g písku na kg sušiny) a homogenně smísit s půdou.

Vzorky půdy obohacené glukosou se inkubují ve vhodné aparatuře, která umožňuje měřit respirační rychlosti při 20 °C (± 2 °C) kontinuálně, každou hodinu, nebo každé dvě hodiny (viz oddíl 1.6.1). Měření uvolněného oxidu uhličitého nebo spotřebovaného kyslíku se provádí nepřetržitě po dobu 12 h a měření se zahájí co nejdříve, tj. do 1 až 2 h po přidání glukosy. Změří se celkové množství uvolněného oxidu uhličitého nebo celkové množství spotřebovaného kyslíku za 12 h a stanoví se průměrná respirační rychlost.

2. DATA

2.1 ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ

Při zkoušení agrochemikálií se zaznamená množství uvolněného oxidu uhličitého nebo množství spotřebovaného kyslíku u každého duplikátního vzorku a průměrné hodnoty se zaznamenají do tabulky. Výsledky se vyhodnotí vhodnými všeobecně uznávanými statistickými metodami (např. F-testem při 5 % hladině významnosti). Rychlosti respirace vyvolané glukosou se vyjádří v mg oxidu uhličitého na kg sušiny za hodinu nebo v mg kyslíku na kg sušiny za hodinu. Průměrná rychlost uvolňování oxidu uhličitého nebo průměrná rychlost spotřeby kyslíku u každé expozice se porovná s odpovídajícími hodnotami u kontrolních vzorků a vypočte se procentuální odchylka exponovaných vzorků od kontrolních vzorků.

Při zkoušení jiných látek než agrochemikálií se stanoví množství uvolněného oxidu uhličitého nebo množství spotřebovaného kyslíku v každém duplikátním vzorku a pro účely odhadu hodnot EC_x se sestrojí křivka závislosti odezvy na dávce. Rychlosti respirace vyvolané glukosou (tj. mg oxidu uhličitého na kg sušiny za hodinu nebo mg kyslíku na kg sušiny za hodinu) zjištěné v exponovaných vzorcích po 28 dnech se porovnají s hodnotami zjištěnými u kontrolních vzorků. Z těchto údajů se pro každou zkušební koncentraci vypočte velikost inhibice v procentech. Tyto hodnoty v procentech se zanesou do grafu proti koncentraci a poté se statistickými metodami vypočítají hodnoty EC_x . Standardními metodami (15, 16, 17) se rovněž vypočítají intervaly spolehlivosti ($p = 0,95$) pro vypočtené hodnoty EC_x .

2.2 INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Pokud je při hodnocení výsledků zkoušek s agrochemikáliemi při kterémkoli odběru po 28 dnech rozdíl respiračních rychlostí při nižší expozici (tj. při maximální očekávané koncentraci) a rychlosti u kontroly roven 25 % nebo nižší, lze konstatovat, že zkoušená látka nemá dlouhodobý vliv na transformaci uhlíku v půdách. Pro hodnocení výsledků zkoušek jiných látek než agrochemikálií se použijí hodnoty EC_{50} , EC_{25} a/nebo EC_{10} .

3. ZPRÁVY**3.1 PROTOKOL O ZKOUŠCE**

Protokol o zkoušce musí obsahovat následující informace:

Úplnou identifikaci použité půdy zahrnující tyto údaje:

- zeměpisná poloha místa (zeměpisná šířka a délka);
- informace o historii místa (tj. vegetační kryt, ošetření přípravky na ochranu rostlin, použití hnojiv, náhodná kontaminace atd.);
- způsob využití (např. zemědělská půda, les atd.);
- hloubka odběru vzorků (cm);
- obsah písku/prachu/jílu (v % sušiny);
- pH (ve vodě);
- obsah organického uhlíku (v % sušiny);
- obsah dusíku (v % sušiny);
- kapacita výměny kationů (mmol/kg);
- výchozí mikrobiální biomasa v procentech celkového organického uhlíku;
- odkaz na metody použité pro stanovení jednotlivých parametrů;
- všechny informace týkající se odběru a skladování vzorků půd;
- podrobné údaje o případné předběžné inkubaci půdy.

Zkoušená látka:

- fyzikální povaha a případně její fyzikálně-chemické vlastnosti;
- případně údaje o chemické identifikaci, včetně strukturního vzorce, čistoty (tj. procentuální obsah účinné složky u přípravků na ochranu rostlin), obsahu dusíku.

Zkušební podmínky:

- podrobné údaje o obohacení půdy organickým substrátem;
- počet použitých koncentrací zkoušené látky, popřípadě zdůvodnění volby koncentrací;
- podrobné údaje o aplikaci zkoušené látky na půdu;
- inkubační teplota;
- vlhkost půdy na začátku zkoušky a v jejím průběhu;
- použitá metoda inkubace (tj. buď inkubace souhrnného vzorku půdy, nebo inkubace jednotlivých dílčích vzorků půdy);
- počet duplikátních vzorků;
- doby odběru vzorků.

Výsledky:

- metoda a zařízení použité pro měření respiračních rychlostí;
- údaje včetně jednotlivých hodnot a průměrných hodnot množství oxidu uhličitého nebo kyslíku zpracované / ve formě tabulky;
- rozdíly mezi duplikátními vzorky u exponovaných a kontrolních vzorků půd;
- v případě potřeby vysvětlení oprav provedených při výpočtech;
- procentuální odchylka v rychlostech respirace vyvolané glukosou pro každou dobu odběru vzorků, popřípadě hodnota EC_{50} s 95 % intervalem spolehlivosti, jiné hodnoty EC_x (tj. EC_{25} nebo EC_{10}) s intervaly spolehlivosti a graf křivky závislosti odpovědi na dávce;
- případné statistické vyhodnocení výsledků;
- všechny informace a pozorování užitečné pro interpretaci výsledků.

4. LITERATURA

- (1) EPPO (1994). Decision-Making Scheme for the Environmental Risk Assessment of Plant Protection Chemicals. Chapter 7: Soil Microflora. EPPO Bulletin 24: 1 – 16, 1994.
- (2) BBA (1990). Effects on the Activity of the Soil Microflora. BBA Guidelines for the Official Testing of Plant Protection Products, VI, 1 – 1 (2 vyd., 1990).
- (3) EPA (1987). Soil Microbial Community Toxicity Test. EPA 40 CFR Part 797.3700. Toxic Substances Control Act Test Guidelines; Proposed rule. September 28, 1987.
- (4) SETAC-Europe (1995). Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides, Ed. M. R. Lynch, Pub. SETAC-Europe, Brussels.
- (5) OECD (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/Sediments, Belgirate, Italy, 18-20 January 1995.
- (6) ISO 10381-6 (1993). Soil quality – Sampling. Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in the laboratory.
- (7) Anderson, J. P. E. (1987). Handling and Storage of Soils for Pesticide Experiments. In „Pesticide Effects on Soil Microflora“. (eds. L. Somerville, M. P. Greaves), Chap. 3: 45 – 60.
- (8) Anderson, J. P. E. (1982). Soil Respiration. In „Methods of Soil Analysis – Part 2: Chemical and Microbiological Properties“. Agronomy Monograph N° 9. (eds. A. L. Page, R. H. Miller a D. R. Keeney). 41: 831 – 871.
- (9) ISO 11266-1 (1993). Soil Quality – Guidance on Laboratory Tests for Biodegradation in Soil: Part 1. Aerobic Conditions.
- (10) ISO 14239 (1997E). Soil Quality – Laboratory incubation systems for measuring the mineralization of organic chemicals in soil under aerobic conditions.
- (11) Heinemeyer, O., Insam, H., Kaiser, E. A., Walenzik, G. (1989). Soil microbial biomass and respiration measurements; an automated technique based on infrared gas analyses. *Plant and Soil*, 116: 77 – 81.
- (12) ISO 14240-1 (1997). Soil quality – Determination of soil microbial biomass – Part 1: Substrate-induced respiration method.
- (13) ISO 14240-2 (1997). Soil quality – Determination of soil microbial biomass – Part 2: Fumigation-extraction method.
- (14) Malkomes, H.-P. (1986). Einfluß von Glukosemenge auf die Reaktion der Kurzzeit-Atmung im Boden gegenüber Pflanzenschutzmitteln, Dargestellt am Beispiel eines Herbizide. (Vliv množství přidané glukosy do půdy na reakci krátkodobé respirace na účinky pesticidů, na příkladu herbicidu). *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.*, Braunschweig, 38: 113 – 120.
- (15) Litchfield, J. T., Wilcoxon F. (1949). A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *Jour. Pharmacol. Exper. Ther.*, 96, 99 – 113.
- (16) Finney, D. J. (1971). Probit Analysis. 3. vyd., Cambridge, London, New York.
- (17) Finney, D. J. (1978). Statistical Methods in biological Assay. Griffin, Weycombe, UK.

C.23. AEROBNÍ A ANAEROBNÍ TRANSFORMACE V PŮDĚ

1. METODA

Tato zkušební metoda je replikou metody OECD TG 307 (2002).

1.1 ÚVOD

Tato zkušební metoda je založena na existujících směrnících (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9). Postup popsáný v této zkušební metodě je vyvinut pro účely hodnocení aerobní a anaerobní transformace chemické látky v půdě. Účelem experimentů je stanovit i) rychlost transformace zkoušené látky a ii) povahu a rychlost tvorby a rozkladu transformačních produktů, kterým mohou být rostliny a půdní organismy vystaveny. Tyto studie jsou požadovány u chemických látek, které se aplikují přímo do půdy nebo pravděpodobně mohou proniknout do půdního ekosystému. Výsledky těchto laboratorních studií mohou být také použity pro vypracování postupů odběru vzorků a analýzy u podobných polních studií.

Pro vyhodnocení způsobu transformace obvykle postačují aerobní a anaerobní studie s jedním druhem půdy (8, 10, 11). Rychlosti transformace se stanoví alespoň pro tři další půdy (8, 10).

O počtu a druzích půd, které mají být použity v této zkoušce, došlo k dohodě na semináři OECD *Workshop on soil/sediment Selection* v Belgirate v Itálii v roce 1995. Druhy zkušebních půd by měly být reprezentativní pro environmentální podmínky, v nichž dojde k použití látky nebo k jejímu uvolnění. Například chemické látky, k jejichž uvolnění může dojít v subtropickém až tropickém klimatu, by měly být zkoušeny s ferrasoly nebo nitosoly (systém FAO). Na tomto semináři byla také vydána doporučení týkající se odběru, zpracování a skladování vzorků půd založená na směrnících ISO (15). Tato metoda se rovněž týká půd rýžových polí.

1.2 DEFINICE

Zkoušená látka: jakákoli látka, ať již výchozí látka, nebo příslušné transformační produkty.

Transformační produkty: všechny látky vznikající při biotických a abiotických transformačních reakcích zkoušené látky, včetně CO₂ a látek, které jsou přítomny ve vázaných reziduiích.

Vázaná rezidua: sloučeniny v půdě, rostlině nebo v živočichu, které po extrakci zůstávají v matici ve formě výchozí látky nebo (jejího metabolitu (jejích metabolitů) nebo transformačních produktů. Metoda extrakce nesmí podstatně měnit samotné sloučeniny nebo strukturu matrice. Povahu vazeb lze částečně vyjasnit extrakcí spojenou se změnami v matici a náročnými analytickými technikami. Dosud byly tímto způsobem vyjasněny např. kovalentní, iontové a adsorpční vazby a rovněž záchyty. Tvorba vázaných reziduí obecně podstatně snižuje biologickou přístupnost a dostupnost (12) [upraveno podle IUPAC 1984 (13)].

Aerobní transformace: reakce, ke kterým dochází za přítomnosti kyslíku (14).

Anaerobní transformace: reakce probíhající s vyloučením molekulárního kyslíku (14).

Půda: směs minerálních a organických chemických složek oživená malými organismy (většinou mikroorganismy), přičemž organické složky obsahují sloučeniny s vysokým obsahem uhlíku a dusíku a vysokou molekulovou hmotností. Lze pracovat s dvěma formami půdy:

- a) s neporušenou půdou, jak v průběhu času vznikla, s charakteristickými vrstvami různých druhů půdy;
- b) s porušenou půdou, která se obvykle vyskytuje na obdělávaných polích v případě, že se vzorky odebírají vyrýváním a používají se v této zkušební metodě (14).

Mineralizace: úplný rozklad organické sloučeniny na CO_2 , H_2O za aerobních podmínek a na CH_4 , CO_2 a H_2O za anaerobních podmínek. V souvislosti s touto metodou, při níž se používají sloučeniny značené radioisotopy, se mineralizací rozumí rozsáhlý rozklad molekuly, při němž se radioisotopy uhlíku oxidují za tvorby odpovídajícího množství $^{14}\text{CO}_2$ (14).

Poločas: $t_{0,5}$, je čas, za který dojde k 50 % transformaci zkoušené látky, jestliže lze transformaci popsat kinetikou prvního řádu; nezávisí na počáteční koncentraci.

DT₅₀ (doba odbourání 50): doba, za kterou se počáteční koncentrace zkoušené látky sníží o 50 %; liší se od poločasu $t_{0,5}$, pokud transformace neprobíhá podle kinetiky prvního řádu.

DT₇₅ (doba odbourání 75): doba, za kterou se počáteční koncentrace zkoušené látky sníží o 75 %.

DT₉₀ (doba odbourání 90): doba, za kterou se počáteční koncentrace zkoušené látky sníží o 90 %.

1.3 REFERENČNÍ LÁTKY

Referenční látky se použijí pro charakterizaci a/nebo identifikaci transformačních produktů spektroskopickými a chromatografickými metodami.

1.4 POUŽITELNOST ZKOUŠKY

Tato je metoda je použitelná pro všechny chemické látky (neznačené nebo značené radioaktivními isotopy), pro něž je k dispozici analytická metoda s dostatečnou správností a citlivostí. Je použitelná pro mírně těkavé a netěkavé sloučeniny rozpustné i nerozpustné ve vodě. Zkouška by neměla být použita u látek, které z půdy silně těkají (např. fumiganty, organická rozpouštědla), a nelze je tedy v půdě udržet za experimentálních podmínek této zkoušky.

1.5 INFORMACE O ZKOUŠENÉ LÁTCE

Pro stanovení rychlosti transformace lze použít jak látky neznačené radioisotopy, tak značené látky. Značený materiál je nezbytný pro studium způsobu transformace a pro stanovení látkové bilance. Doporučuje se značení isotopem ^{14}C , avšak užitečné mohou být i jiné isotopy, např. ^{13}C , ^{15}N , ^3H , ^{32}P . Značena by měla být pokud možno nejstabilnější část/části molekuly (1). Čistota látky by měla být alespoň 95 %.

Před provedením zkoušky na aerobní a anaerobní transformaci v půdě by měly být k dispozici alespoň tyto informace o látce:

- rozpustnost ve vodě (metoda A.6)
- rozpustnost v organických rozpouštědlech;
- tlak par (metoda A.4) a Henryho konstanta;
- rozdělovací koeficient n-oktanol/voda (metoda A.8);
- chemická stabilita v temnu (hydrolyza) (metoda C.7);
- pK_a , pokud u molekuly nastává protonace nebo deprotonace [směrnice OECD 112] (16).

Mezi další užitečné informace patří údaje o toxicitě zkoušené látky pro půdní mikroorganismy [zkušební metody C.21 a C.22] (16).

K dispozici by měly být analytické metody (včetně extrakčních a izolačních metod) pro kvantitativní stanovení a identifikaci zkoušené látky a jejích transformačních produktů.

(1) Pokud například zkoušená látka obsahuje jeden kruh, je třeba, aby byl tento kruh označen. Pokud zkoušená látka obsahuje dva nebo více kruhů, může být nezbytné provést samostatné studie s cílem podchytit zbytky každého z kruhů, a získat tak vhodné informace o tvorbě transformačních produktů.

1.6 PODSTATA ZKUŠEBNÍ METODY

Vzorky půdy se exponují zkušební látce a inkubují se v temnu v biometrických baňkách nebo v průtokových systémech za řízených laboratorních podmínek (při konstantní teplotě a vlhkosti půdy). Ve vhodných intervalech se vzorky půd extrahují a analyzuje se obsah výchozí látky a transformačních produktů. Vhodným absorpčním zařízením se k analýze shromáždí také těkavé produkty. Prostřednictvím materiálu značeného izotopem ^{14}C lze po zachycení uvolněného $^{14}\text{CO}_2$ měřit různé rychlosti mineralizace zkoušené látky a dále lze stanovit látkovou bilanci včetně tvorby vázaných reziduí v půdě.

1.7 KRITÉRIA JAKOSTI

1.7.1 Výtěžnost

Extrakce a analýza provedená alespoň u dvou duplikátních vzorků půdy ihned po přidání zkoušené látky poskytne první informaci o opakovatelnosti analytické metody a o stejnoměrnosti aplikace zkoušené látky. Výtěžnosti pozdějších stupňů experimentu se zjistí z příslušných látkových bilancí, měly by se nacházet v rozmezí 90 % až 110 % u značených chemických látek (8) a v rozmezí 70 % až 110 % u neznačených chemických látek (3).

1.7.2 Opakovatelnost a citlivost analytické metody

Opakovatelnost analytické metody (kromě účinnosti první extrakce) pro kvantifikaci zkoušené látky a transformačních produktů lze ověřit provedením analýzy duplikátních vzorků týchž extraktů půdy, která byla dostatečně dlouho inkubována, aby došlo k vytvoření transformačních produktů.

Mez detekce (LOD) analytické metody pro zkoušenou látku a pro transformační produkty by měla být alespoň 0,01 mg na kg půdy (pro zkoušenou látku) nebo 1 % aplikované dávky, podle toho, která z hodnot je nižší. Rovněž by měla být specifikována mez kvantifikace (LOQ).

1.7.3 Správnost dat o transformaci/transformačních dat

Regresní analýza závislosti koncentrace zkoušené látky na čase poskytuje vhodné informace o spolehlivosti transformační křivky a umožňuje vypočítat intervaly spolehlivosti pro poločasy (v případě zdánlivé kinetiky prvního řádu) nebo pro hodnoty DT_{50} , popřípadě hodnot DT_{75} a DT_{90} .

1.8 POPIS ZKUŠEBNÍ METODY

1.8.1 Vybavení a chemická činidla

Inkubačními systémy jsou statické uzavřené systémy nebo vhodné průtokové systémy (7, 17). Příklady vhodných průtokových inkubačních aparatur a biometrických baňek jsou uvedeny na obrázcích 1 a 2. Oba typy inkubačních systémů mají své výhody a svá omezení (7, 17).

Pro zkoušku je nezbytné standardní laboratorní vybavení, zejména:

- analytické přístroje, jako jsou GLC, HPLC, TLC, včetně vhodných detekčních systémů pro analýzu značených nebo neznačených látek nebo pro inverzní isotopovou zředovací metodu;
- přístroje pro identifikaci látek (např. MS, GC-MS, HPLC-MS, NMR atd.);
- kapalinový scintilační spektrometr;
- okysličovací zařízení pro spalování radioaktivního materiálu;
- odstředivka;
- extrakční aparatura (např. centrifugační zkumavky pro studenou extrakci a Soxhletův přístroj pro kontinuální extrakci s refluxem);

- zařízení pro zkoncentrování roztoků a extraktů (např. rotační odparka);
- vodní lázeň;
- mechanické míchací zařízení (např. hnětací zařízení, rotační mixér).

Použijí se např. tato chemická činidla:

- NaOH p.a., 2 mol/l, nebo jiná vhodná zásada (např. KOH, ethanolamin);
- H₂SO₄ p.a., 0,05 mol/l;
- ethylenglykol p.a.;
- tuhý absorpční materiál, např. natronové vápno, a polyurethanové zátky;
- organická rozpouštědla čistoty p.a., např. aceton, methanol atd.;
- kapalný scintilátor.

1.8.2 Aplikace zkoušené látky

Za účelem aplikace zkoušené látky do půdy a jejího rozptýlení lze zkoušenou látku rozpustit ve vodě (v deionizované nebo destilované vodě) nebo lze v případě potřeby použít co nejmenší množství acetonu nebo jiných organických rozpouštědel (6), ve kterých je zkoušená látka dostatečně rozpustná a stabilní. Zvolené množství rozpouštědla však nesmí mít významný vliv na mikrobiální aktivitu půdy (viz oddíly 1.5 a 1.9.2 až 1.9.3). Rozpouštědla, která působí jako inhibitory mikrobiální aktivity, např. chloroform, dichloromethan a jiná halogenovaná rozpouštědla, nesmějí být použita.

Látku lze do půdy přidat také např. ve směsi s křemenným pískem (6) nebo ve formě malých dílčích vzorků zkušební půdy, které byly předem vysušeny na vzduchu a sterilizovány. Pokud se látka přidává pomocí rozpouštědla, mělo by být rozpouštědlo odpařeno ještě před tím, než jsou k původním nesterilním vzorkům půdy přidány obohacené dílčí vzorky.

U běžně používaných chemických látek, jež se dostávají do půdy prostřednictvím zemědělské aplikace čistírenských kalů, se zkoušená látka nejprve přidá do kalu, který se poté vpraví do vzorku půdy (viz oddíly 1.9.2 a 1.9.3).

Nedoporučuje se rutinně používat přípravky v komerční úpravě. Například u špatně rozpustných látek však může být použit přípravek v komerční úpravě vhodnou alternativou.

1.8.3 Půdy

1.8.3.1 Výběr půd

Pro stanovení způsobu transformace lze použít reprezentativní půdy; doporučují se písčitohlinitá, prachovitohlinitá, hlinitá nebo hlinitopísčité půdy [podle klasifikace FAO a USDA (18)] o hodnotě pH 5,5 až 8,0 a obsahu organického uhlíku 0,5 – 2,5 %, přičemž mikrobiální biomasa by měla tvořit nejméně 1 % celkového organického uhlíku (10).

Pro studie transformačních rychlostí se použijí alespoň tři další půdy reprezentující rozsah relevantních půd. Půdy by se měly lišit, pokud jde o obsah organického uhlíku, pH, obsah jílu a mikrobiální biomasy (10).

Všechny půdy by měly být charakterizovány alespoň: strukturou (% písku, % prachu, % jílu) [podle klasifikace FAO a USDA (18)], pH, kationtovou výměnnou kapacitou, organickým uhlíkem, sypnou hustotou, schopností zadržet vodu ⁽¹⁾ a mikrobiální biomasou (pouze pro aerobní studie). Pro interpretaci výsledků mohou být užitečné další informace o vlastnostech půdy. Pro stanovení vlastností půdy lze použít metody doporučené v literatuře (19, 20, 21, 22, 23). Mikrobiální biomasa se stanoví metodou respirace indukované substrátem (SIR) (25, 26) nebo alternativními metodami (20).

⁽¹⁾ Schopnost půdy zadržet vodu lze měřit jako polní kapacitu, jako retenční vodní kapacitu nebo jako vodní sací tlak (pF). Vysvětlení je uvedeno v příloze 1. V protokolu o zkoušce by mělo být uvedeno, zda byly schopnost půdy zadržet vodu a sypná hustota stanoveny u neporušených polních vzorků, nebo porušených (zpracovaných) vzorků.

1.8.3.2 Odběr, příprava a skladování půd

K dispozici by měly být podrobné informace o historii místa, ze kterého je půda odebírána. Těmito informacemi jsou přesná poloha, vegetační kryt, údaje o ošetřování chemickými látkami, použití organických a minerálních hnojiv, přídavky biologického materiálu nebo jiná kontaminace. Pokud byla půda v předchozích čtyřech letech ošetřena zkoušenou látkou nebo látkami s analogickou strukturou, neměla by být použita pro transformační studie (10, 15).

Půda by měla být čerstvě odebraná z terénu (z A horizontu nebo z horní 20 cm vrstvy) a měla by být tak vlhká, aby bylo možné snadné prosévání. Kromě půd z rýžových polí by půdy neměly být odebírány v průběhu dlouhých období (více než 30 dnů) sucha, mrazů nebo zavodnění nebo krátce po těchto obdobích (14). Vzorky se přepravují způsobem, který minimalizuje změny obsahu vody v půdě, a uchovávají se v temnu za co největšího přístupu vzduchu. Pro tento účel je obecně vhodný volně uzavřený polyethylenový sáček.

Půda se zpracuje co nejdříve po odběru. Před proséváním na sítu o velikosti 2 mm se z půdy odstraní vegetace, větší živočišné a kameny, při prosévání se půda zbaví malých kamenů, drobných živočichů a zbytků rostlin. Před proséváním by nemělo dojít k nadměrnému vysušení a rozdrčení půdy (15).

Pokud je v zimě obtížné odebrat vzorky v terénu (zmrzlá půda, sněhová pokrývka), mohou být odebrány z půdy skladované ve skleníku pod vegetačním pokryvem (např. zatrávněné půdy nebo půdy s travní směsí s jetelem). V každém případě se upřednostňují studie s čerstvě odebranými půdami; pokud má být odebraná a zpracovaná půda před zahájením studie skladována, musí být skladována za odpovídajících podmínek a pouze po omezenou dobu (při 4 °C, ± 2 °C po dobu maximálně tří měsíců), aby byla zachována mikrobiální aktivita ⁽¹⁾. Podrobné pokyny pro odběr, zpracování a skladování půd pro biotransformační experimenty lze nalézt v literatuře (8, 10, 15, 26, 27).

Před tím, než se zpracovaná půda použije ve zkoušce, provede se její předběžná inkubace, aby se umožnilo klíčení a odstranila se semena a aby se po změnách podmínek, ke kterým došlo od odběru nebo skladování po nastolení inkubačních podmínek, znovu ustavila rovnováha mikrobiálního metabolismu. Obecně postačuje předběžné inkubační období v délce od 2 do 28 dnů při podmínkách teploty a vlhkosti blízkých se podmínkám zkoušky (15). Skladování a předběžná inkubace by dohromady neměly trvat déle než tři měsíce.

1.9 PROVEDENÍ ZKOUŠKY

1.9.1 Zkušební podmínky

1.9.1.1 Zkušební teplota

V průběhu celé zkoušky by měly být půdy inkubovány v temnu při stálé teplotě, která je typická pro klimatické podmínky, ve kterých dojde k použití látky nebo k jejímu uvolnění. Pro zkoušky všech látek, které se dostávají do půdy v mírném klimatickém pásu, se doporučuje teplota (20 ± 2) °C. Teplota musí být monitorována.

V případě chemických látek aplikovaných nebo uvolňovaných v chladném klimatickém pásu (např. v severských zemích, během podzimu/zimy) se inkubují další vzorky půdy, avšak při nižší teplotě (např. při 10 °C, ± 2 °C).

⁽¹⁾ Z výsledků nedávných výzkumů vyplývá, že půdy z mírného pásma lze skladovat při -20 °C déle než tři měsíce (28, 29), aniž dojde k významné ztrátě mikrobiální aktivity.

1.9.1.2 Vlhkost

Pro transformační zkoušky při aerobních podmínkách se vlhkost ⁽¹⁾ nastaví a udržuje na hodnotě pF od 2,0 do 2,5 (3). Vlhkost půdy se vyjádří jako hmotnost vody na jednotku hmotnosti sušiny půdy, pravidelně se kontroluje (např. každé 2 týdny) vážením inkubačních baněk a ztráta vody se vyrovnává přidáním vody (nejlépe sterilně filtrované vody z vodovodu). Při upravování vlhkosti je třeba zabránit ztrátám zkoušené látky a/nebo transformačních produktů v důsledku těkání nebo případné fotodegradace, nebo je třeba tyto ztráty minimalizovat.

V případě transformačních zkoušek za anaerobních podmínek a za podmínek rýžového pole se půda nasatí vodou tak, že se zaplaví.

1.9.1.3 Podmínky aerobní inkubace

V průtokových systémech se aerobní podmínky udržují občasným propláchnutím nebo nepřetržitým provětráváním zvlhčeným vzduchem. V biometrických bankách se výměna vzduchu udržuje difuzí.

1.9.1.4 Sterilní aerobní podmínky

Za účelem získání informací o možné abiotické transformaci zkoušené látky lze vzorky půdy sterilizovat (metody sterilizace jsou uvedeny v literatuře 16 a 29), exponovat je sterilní zkoušené látce (např. přidáváním roztoku přes sterilní filtr) a provzdušňovat je zvlhčeným sterilním vzduchem, jak je popsáno v oddíle 1.9.1.3. U půd z rýžových polí se půda a voda sterilizuje a inkubace provede způsobem uvedeným v oddílu 1.9.1.6.

1.9.1.5 Podmínky anaerobní inkubace

S cílem nastolit a udržovat anaerobní podmínky se půda, která byla exponována zkoušené látce a inkubována za aerobních podmínek 30 dnů nebo jeden poločas nebo po dobu odpovídající DT_{50} (podle toho, co je kratší), zaplaví vodou (vrstva vody 1 – 3 cm) a inkubační systém se propláchne inertním plynem (např. dusíkem nebo argonem) ⁽²⁾. Zkušební systém musí umožňovat měření pH, koncentrace kyslíku a oxidačně-redukčního potenciálu a musí být vybaven zařízením pro zachycování těkavých produktů. Biometrický systém musí být uzavřený, aby bylo zabráněno přístupu vzduchu difuzí.

1.9.1.6 Inkubace za podmínek rýžového pole

Pro účely studia transformace v půdách rýžových polí se půda zaplaví vrstvou vody o výšce asi 1 – 5 cm a zkoušená látka se aplikuje do vodné fáze (9). Doporučená tloušťka vrstvy půdy je alespoň 5 cm. Systém se provzdušňuje vzduchem jako za aerobních podmínek. Hodnota pH, koncentrace kyslíku a oxidačně-redukční potenciál vodné vrstvy se monitorují a zaznamenávají. Před zahájením transformačních studií je nezbytné alespoň dvoutýdenní předběžné inkubační období (viz oddíl 1.8.3.2).

⁽¹⁾ Pro účely dostatečného provzdušňování a výživy půdní mikroflóry by půda neměla být ani příliš vlhká, ani příliš suchá. Vlhkost půdy doporučená pro optimální růst mikroflóry se nachází v rozmezí od 40 % do 60 % retenční vodní kapacity a v rozmezí od 0,1 do 0,33 bar (6). Naposledy uvedený rozsah odpovídá rozsahu pF od 2,0 do 2,5. Typická vlhkost různých druhů půd je uvedena v příloze 2.

⁽²⁾ Aerobní podmínky převažují v povrchových půdách a dokonce v podpovrchových půdách, jak ukázal výzkumný projekt podporovaný EU [K. Takagi et al. (1992). Microbial diversity and activity in subsoils: Methods, field site, seasonal variation in subsoil temperatures and oxygen contents. Proc. Internat. Symp. Environm. Aspects Pesticides Microbiol., 270 – 277, 17. – 21. srpen 1992, Sigtuna, Švédsko]. Anaerobní podmínky se mohou vyskytovat jen příležitostně během zaplavení půdy po vydatných srážkách, nebo jsou-li takové podmínky ustaveny na rýžových polích.

1.9.1.7 *Délka zkoušky*

Studie rychlosti a způsobu transformace by neměly za normálních podmínek trvat déle než 120 dnů ⁽¹⁾ (3, 6, 8), neboť poté by podle očekávání mohlo v umělém laboratorním systému, izolovaném od přirozeného doplňování, postupně docházet ke snižování mikrobiální aktivity půdy. Pokud je to nezbytné pro popis rozkladu zkoušené látky a tvorby a rozkladu hlavních transformačních produktů, lze studie prodloužit (např. na 6 nebo 12 měsíců) (8). Delší inkubační období by měla být zdůvodněna ve zprávě o zkoušce a doplněna měřením biomasy během těchto období a na jejich konci.

1.9.2 **Provedení zkoušky**

Do každé z inkubačních baněk se vpraví asi 50 až 200 g půdy (hmotnost sušiny) (viz obrázky 1 a 2 v příloze 3) a půda se jednou z metod uvedených v oddílu 1.8.2 exponuje zkoušené látce. Pokud se pro účely aplikace zkoušené látky použijí organická rozpouštědla, odstraní se z půdy odpařením. Půda se poté důkladně promíchá špachtlí nebo se baňka protřepe. Pokud se studie provádí za podmínek rýžového pole, půda a voda se po aplikaci zkoušené látky důkladně promísí. Malé podíly (např. 1 g) exponované půdy se analyzují na zkoušenou látku za účelem kontroly rovnoměrnosti distribuce. Alternativní metody jsou uvedeny níže.

Aplikované množství by mělo odpovídat nejvyššímu aplikovanému množství přípravku na ochranu rostlin doporučenému podle pokynů k použití a rovnoměrnému zapravení do vhodné hloubky na poli (např. do horní 10 cm vrstvy půdy ⁽²⁾). Například u chemických látek aplikovaných na list nebo do půdy bez zapravení se pro výpočet množství chemické látky, které je třeba přidat do každé baňky, použije hloubka vrstvy půdy 2,5 cm. U chemických látek zapravovaných do půdy je příslušná hloubka specifikována v pokynech pro použití. U chemických látek obecně by mělo být aplikované množství odhadnuto na základě hlavní cesty vstupu do půdy; jsou-li například hlavní cestou vstupu do půdy čistírenské kaly, měla by být chemická látka přidána do kalu v koncentraci, která odráží očekávanou koncentraci v kalu, a množství kalu zapravené do půdy by mělo odpovídat normálnímu množství kalu zapravovanému do zemědělských půd. Pokud tato koncentrace není dostatečná pro identifikaci hlavních transformačních produktů, může napomoci inkubace samostatných půdních vzorků obsahujících vyšší koncentrace, avšak neměly by být používány nadměrné koncentrace, které mají vliv na mikrobiální funkce (viz oddíly 1.5 a 1.8.2).

Jinou možností je expozice velké dávky půdy (tj. 1 až 2 kg), její důkladné promísění vhodným míchacím zařízením a přenesení malých podílů o hmotnosti 50 až 200 g do inkubačních baněk (např. pomocí děliče vzorku). Malé podíly (např. 1 g) exponované půdy se analyzují na zkoušenou látku za účelem kontroly rovnoměrné distribuce. Takový postup se upřednostňuje, neboť umožňuje stejnoměrnější rozptýlení zkoušené látky v půdě.

Neexponované vzorky se inkubují za stejných (aerobních) podmínek jako vzorky exponované zkoušené látce. Tyto vzorky se použijí pro stanovení biomasy během studií a na jejich konci.

(1) Aerobní studie mohou být ukončeny daleko dříve než za 120 dnů, pokud je v dané době jasně dosaženo konečného transformačního schématu a konečné mineralizace. Zkoušku lze ukončit po 120 dnech, nebo pokud se transformovalo 90 % zkoušené látky, avšak pouze tehdy, vytvořilo-li se alespoň 5 % CO₂.

(2) Výpočet výchozí koncentrace na základě plochy se provede takto:

$$C_{\text{půda}}[\text{mg}/\text{kg}_{\text{půda}}] = \frac{A[\text{kg}/\text{ha}] \cdot 10^6[\text{mg}/\text{kg}]}{l[\text{m}] \cdot 10^4[\text{m}^2/\text{ha}] \cdot d[\text{kg}_{\text{půda}}/\text{m}^3]}$$

$C_{\text{půda}}$ = výchozí koncentrace v půdě [mg.kg⁻¹];

A = aplikační dávka [kg.ha⁻¹]; l = tloušťka půdní vrstvy na poli [m], d = sypná hustota suché půdy [kg.m⁻³].

Zhruba platí, že aplikační dávka 1 kg.ha⁻¹ vede ke koncentraci v půdě přibližně 1 mg.kg⁻¹ v 10 cm vrstvě (při předpokládané sypné hustotě 1 g.cm⁻³).

Pokud se látka aplikuje do půdy rozpuštěná v organickém rozpouštědle (organických rozpouštědlech), inkubují se vzorky půdy vystavené témuž množství rozpouštědla (rozpouštědel) za týchž (aerobních) podmínek jako vzorky exponované zkoušené látce. Tyto vzorky se použijí pro stanovení biomasy na začátku studií, v jejich průběhu a na jejich konci za účelem kontroly účinků rozpouštědla (rozpouštědel) na mikrobiální biomasu.

Baňky obsahující exponovanou půdu se buď zapojí do průtokového systému popsaného na obrázku 1, nebo se uzavřou absorpční kolonou, jak je uvedeno na obrázku 2 (viz příloha 3).

1.9.3 Odběr vzorků a měření

V příslušných časových intervalech se vyberou duplikátní inkubační baňky, vzorky půd se extrahují vhodnými rozpouštědly různé polarity a analyzují na zkoušenou látku a/nebo na transformační produkty. U kvalitně připravených studií je k dispozici dostatečný počet baněk, aby bylo možné ke každému odběru vybrat dvě baňky. V různých časových intervalech (v 7denních intervalech během prvního měsíce a po prvním měsíci v 17denních intervalech) během inkubace každého vzorku půdy a dále na konci inkubace se také odeberou absorpční roztoky nebo tuhé absorpční materiály a analyzují se na těkavé produkty. Kromě vzorku půdy odebraného ihned po aplikaci (vzorek ze dne 0) se provede alespoň dalších 5 odběrů. Časové intervaly se zvolí tak, aby bylo možné stanovit schéma rozkladu zkoušené látky a způsob tvorby a rozkladu transformačních produktů (např. po 0, 1, 3, 7 dnech; po 2, 3 týdnech; po 1, 2, 3 měsících atd.).

V případě zkoušené látky značené isotopem ^{14}C se spálením kvantitativně stanoví neextrahovatelná radioaktivita a pro každý vzorkovací interval se vypočte látková bilance.

V případě anaerobní inkubace nebo inkubace za podmínek rýžového pole se půda a vodná fáze analyzují na zkoušenou látku a transformační produkty buď společně, nebo se před extrakcí a analýzou oddělí filtrací nebo centrifugací.

1.9.4 Nepovinné zkoušky

Pro odhad vlivu teploty a vlhkosti půdy na rychlosti transformace zkoušené látky a/nebo jejich transformačních produktů v půdě mohou být užitečné aerobní nesterilní studie při další teplotě nebo vlhkosti půdy.

O další charakterizaci neextrahovatelné radioaktivity se lze pokusit například použitím metody extrakce tekutinou v nadkritickém stavu.

2. DATA

2.1 ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ

Pro každý vzorkovací interval se uvede množství zkoušené látky, transformačních produktů, těkavých látek (pouze v %) a neextrahovatelných látek v procentech výchozí koncentrace, popřípadě v mg na kg půdy (na hmotnost sušiny). Pro každý vzorkovací interval se uvede látková bilance v procentech použité výchozí koncentrace. Grafické znázornění závislosti koncentrace zkoušené látky na čase umožní provést odhad jejího poločasu transformace nebo hodnoty DT_{50} . Měly by být identifikovány hlavní transformační produkty a sestrojeny křivky závislosti koncentrace na čase, aby se ukázala rychlost jejich tvorby a rozkladu. Hlavním transformačním produktem je jakýkoli produkt, který kdykoli během studie tvoří $\geq 10\%$ aplikované dávky.

Zachycené těkavé produkty jsou určitým ukazatelem těkavosti zkoušené látky a jejich transformačních produktů z půdy.

Přesnější stanovení poločasů nebo hodnot DT_{50} a popřípadě hodnot DT_{75} a DT_{90} se provede výpočtem za použití vhodného modelu kinetiky. Společně s hodnotami poločasu a DT_{50} se uvede popis použitého modelu kinetiky, řád kinetiky a koeficient determinace (r^2). Pokud není $r^2 < 0,7$, upřednostňuje se kinetika prvního řádu. Podle možnosti se výpočty použijí také na hlavní transformační produkty. Příklady vhodných modelů jsou popsány v literatuře (31 až 35).

V případě studií rychlosti prováděných při různých teplotách se závislost rychlosti transformace na teplotě popíše v rozsahu experimentálních teplot pomocí Arrheniovy rovnice:

$$k = A \cdot e^{-B/T} \text{ nebo } \ln k = \ln A - \frac{B}{T}$$

kde $\ln A$ a B jsou regresní konstanty získané z úseku na abscise a ze směrnice regresní přímky závislosti $\ln k$ na $1/T$, kde k je rychlostní konstanta při teplotě T a T je teplota v Kelvinech. Je třeba věnovat pozornost omezení rozsahu teplot, v němž platí Arrheniova rovnice, jestliže transformaci určuje mikrobiální činnost.

2.2 HODNOCENÍ A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Přestože se studie provádějí v umělém laboratorním systému, umožňují výsledky odhadnout rychlost transformace zkoušené látky a rovněž rychlost tvorby a rozkladu transformačních produktů za polních podmínek (36, 37).

Studie transformačního způsobu zkoušené látky poskytuje informaci o způsobu, jakým se mění struktura aplikované látky v půdě působením chemických a mikrobiálních reakcí.

3. ZPRÁVY

3.1 PROTOKOL O ZKOUŠCE

Protokol o zkoušce musí obsahovat tyto údaje:

Zkoušená látka:

- obecný název, chemický název, číslo CAS, strukturální vzorec (s uvedením polohy značícího atomu (značících atomů) při použití radionuklidů) a relevantní fyzikálně-chemické vlastnosti (viz oddíl 1.5);
- čistota zkoušené látky (obsah nečistot);
- popřípadě radiochemická čistota značené chemické látky a specifická aktivita;

Referenční látky:

- chemický název a struktura referenčních látek použitých k charakterizaci a/nebo identifikaci transformačního produktu;

Zkušební půdy:

- podrobné údaje o místě odběru;
- datum a postup odběru vzorků půdy;
- vlastnosti půdy, např. pH, obsah organického uhlíku, struktura (% písku, % prachu, % jílu), kationtová výměnná kapacita, sypaná hustota, schopnost zadržet vodu a mikrobiální biomasa;
- doba skladování půdy a podmínky skladování (pokud byla skladována);

Zkušební podmínky:

- datum provedení studií;
- množství aplikované zkoušené látky;
- použitá rozpouštědla a metoda aplikace zkoušené látky;
- hmotnost exponované půdy na začátku zkoušky a hmotnost půdy odebírané pro analýzu v každém intervalu;
- popis použitého inkubačního systému;
- rychlosti průtoku vzduchu (pouze u průtokových systémů);
- zkušební teplota;
- vlhkost půdy během inkubace;
- mikrobiální biomasa na začátku aerobních studií, během nich a na jejich konci;
- pH, koncentrace kyslíku a oxidačně-redukční potenciál na začátku anaerobních studií a studií za podmínek rýžového pole, během nich a na jejich konci;
- metoda (metody) extrakce;
- metody kvantitativního stanovení a identifikace zkoušené látky a hlavních transformačních produktů v půdě a v absorpčních materiálech;
- počet duplikátních vzorků a počet kontrol.

Výsledky:

- výsledky stanovení mikrobiální aktivity;
- opakovatelnost a citlivost použitých analytických metod;
- hodnoty výtěžnosti (hodnoty v % pro platnou studii jsou uvedeny v oddíle 1.7.1);
- tabulky s výsledky vyjádřenými v % výchozí aplikované dávky, popřípadě v mg na kg půdy (vztaženo na hmotnost sušiny půdy);
- látková bilance během studií a na jejich konci;
- charakterizace neextrahovatelné (vázané) radioaktivity nebo reziduí v půdě;
- kvantifikace uvolněného CO₂ a dalších těkavých sloučenin;
- křivky závislosti koncentrací zkoušené látky, popřípadě hlavních transformačních produktů v půdě na čas;
- poločas nebo hodnoty DT₅₀, DT₇₅ a DT₉₀ pro zkoušenou látku, popřípadě i pro hlavní transformační produkty včetně příslušných intervalů spolehlivosti;
- odhad rychlosti abiotického rozkladu za sterilních podmínek;
- posouzení kinetiky transformace pro zkoušenou látku, popřípadě i pro hlavní transformační produkty;
- případný návrh způsobu transformace;
- diskuse a interpretace výsledků;
- nezpracovaná data (tj. chromatogramy jednotlivých vzorků, příklady výpočtu rychlosti transformace a metody použité pro identifikaci transformačních produktů).

4. LITERATURA

- (1) US- Environmental Protection Agency (1982). Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision N. Chemistry: Environmental Fate.
- (2) Agriculture Canada (1987). Environmental Chemistry and Fate. Guidelines for registration of pesticides in Canada.
- (3) Evropská unie (EU) (1995). Směrnice Komise 95/36/ES ze dne 14. července 1995, kterou se mění směrnice Rady 91/414/EHS o uvádění přípravků na ochranu rostlin na trh. Příloha II část A a příloha III část A: Rozpad a chování v životním prostředí.
- (4) Dutch Commission for Registration of Pesticides (1995). Application for registration of a pesticide. Section G: Behaviour of the product and its metabolites in soil, water and air.
- (5) BBA (1986). Richtlinie für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln, Teil IV, 4-1. Verbleib von Pflanzenschutzmitteln im Boden – Abbau, Umwandlung und Metabolismus.

- (6) ISO/DIS 11266-1 (1994). Soil Quality – Guidance on laboratory tests for biodegradation of organic chemicals in soil – Part 1: Aerobic conditions.
- (7) ISO 14239 (1997E). Soil Quality – Laboratory incubation systems for measuring the mineralization of organic chemicals in soil under aerobic conditions.
- (8) SETAC (1995). Procedures for Assessing the Environmental Fate and Ecotoxicity of Pesticides. Mark R. Lynch, Ed.
- (9) MAFF – Japan 2000 – Draft Guidelines for transformation studies of pesticides in soil – Aerobic metabolism study in soil under paddy field conditions (flooded).
- (10) OECD (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/Sediments. Belgirate, Itálie, 18. – 20. ledna 1995.
- (11) Guth, J. A. (1980). The study of transformations. In Interactions between Herbicides and the Soil (R. J. Hance, sd.), Academic Press, 123 – 157.
- (12) DFG: Pesticide Bound Residues in Soil. Wiley – VCH (1998).
- (13) T. R. Roberts: Non-extractable pesticide residue in soils and plants. *Pure Appl. Chem.* 56, 945-956 (IUPAC 1984).
- (14) OECD Test Guideline 304 A: Inherent Biodegradability in Soil (přijato 12. května 1981).
- (15) ISO 10381-6 (1993). Soil Quality – Sampling – Part 6: Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in the laboratory.
- (16) Příloha V směrnice 67/548/EHS
- (17) Guth, J. A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. In Progress in Pesticide Biochemistry. D. H. Hutson, T. R. Roberts (eds.) J. Wiley & Sons. Vol 1, 85 – 114.
- (18) Soil Texture Classification (US and FAO systems): *Weed Science*, 33, Suppl. 1 (1985) a *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 26:305 (1962).
- (19) Methods of Soil Analysis (1986). Part 1, Physical and Mineralogical Methods. A. Klute, ed. Agronomy Series No 9, 2nd Edition.
- (20) Methods of Soil Analysis (1982). Part 2, Chemical and Microbiological Properties. A. L. Page, R. H. Miller, D. R. Keelney, (eds.) Agronomy Series No 9, 2nd Edition.
- (21) ISO Standard Compendium Environment (1994). Soil Quality – General aspects; chemical and physical methods of analysis; biological methods of analysis. First Edition.
- (22) Mückenhausen, E. (1975). Die Bodenkunde und ihre geologischen, geomorphologischen, mineralogischen und petrologischen Grundlagen. DLG-Verlag, Frankfurt, Main.
- (23) Scheffer, F., Schachtschabel, P. (1975). Lehrbuch der Bodenkunde. F. Enke Verlag, Stuttgart.
- (24) Anderson, J. P. E., Domsch, K. H. (1978). A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.* 10, 215 – 221.
- (25) ISO 14240-1 and 2 (1997). Soil quality – Determination of soil microbial biomass – Part 1: Substrate-induced respiration method. Part 2: Fumigation-extraction method.
- (26) Anderson, J. P. E. (1987). Handling and storage of soils for pesticide experiments. In Pesticide Effects on Soil Microflora. L. Somerville, M. P. Greaves (eds.), Taylor & Francis, 45 – 60.

- (27) Kato, Yasuhiro. (1998). Mechanism of pesticide transformation in the environment: Aerobic and bio-transformation of pesticides in aqueous environment. *Proceedings of the 16th Symposium on Environmental Science of Pesticide*, 105 – 120.
- (28) Keuken O., Anderson J. P. E. (1996). Influence of storage on biochemical processes in soil. In *Pesticides, Soil Microbiology and Soil Quality*, 59 – 63 (SETAC-Europe).
- (29) Stenberg B., Johansson M., Pell M., Sjö Dahl-Svensson K., Stenström J., Torstensson L. (1996). Effect of freeze and cold storage of soil on microbial activities and biomass. In *Pesticides, Soil Microbiology and Soil Quality*, 68-69 (SETAC-Europe).
- (30) Gennari, M., Negre, M., Ambrosoli, R. (1987). Effects of ethylene oxide on soil microbial content and some chemical characteristics. *Plant and Soil* 102, 197 – 200.
- (31) Anderson, J. P. E. (1975). Einfluss von Temperatur und Feuchte auf Verdampfung, Abbau und Festlegung von Diallat im Boden. *Z. PflKrankh Pflschutz, Sonderheft VII*, 141 – 146.
- (32) Hamaker, J. W. (1976). The application of mathematical modelling to the soil persistence and accumulation of pesticides. *Proc. BCPC Symposium: Persistence of Insecticides and Herbicides*, 181 – 199.
- (33) Goring, C. A. I., Laskowski, D. A., Hamaker, J. W., Meikle, R. W. (1975). Principles of pesticide degradation in soil. In: „Environmental Dynamics of Pesticides“. R. Haque, V. H. Freed, (eds), 135 – 172.
- (34) Timme, G., Frehse, H., Laska, V. (1986). Statistical interpretation and graphic representation of the degradational behaviour of pesticide residues. II. *Pflanzenschutz – Nachrichten Bayer* 39, 188 –204.
- (35) Timme, G., Frehse, H. (1980). Statistical interpretation and graphic representation of the degradational behaviour of pesticide residues. I. *Pflanzenschutz – Nachrichten Bayer* 33, 47 – 60.
- (36) Gustafson D. I., Holden L. R. (1990). Non-linear pesticide dissipation in soil; a new model based on spatial variability. *Environm. Sci. Technol.* 24, 1032 – 1041.
- (37) Hurler K., Walker A. (1980). Persistence and its prediction. In *Interactions between Herbicides and the Soil* (R. J. Hance ed.), Academic Press, 83 – 122.

PŘÍLOHA 1

TLAK VODY, POLNÍ KAPACITA (PK) A RETENČNÍ VODNÍ KAPACITA (RVK) ⁽¹⁾

| Výška vodního sloupce [cm] | pF ^(a) | bar ^(b) | Poznámky |
|----------------------------|-------------------|---------------------|--|
| 10 ⁷ | 7 | 10 ⁴ | Suchá půda |
| 1,6 × 10 ⁴ | 4,2 | 16 | Bod vadnutí |
| 10 ⁴ | 4 | 10 | |
| 10 ³ | 3 | 1 | |
| 6.10 ² | 2,8 | 0,6 | |
| 3,3 × 10 ² | 2,5 | 0,33 ^(c) | } Rozpětí polní kapacity ^(d) |
| 10 ² | 2 | 0,1 | |
| 60 | 1,8 | 0,06 | } RVK (přibližná hodnota) Půda nasycená vodou |
| 33 | 1,5 | 0,033 | |
| 10 | 1 | 0,01 | |
| 1 | 0 | 0,001 | |

^(a) pF = dekadický logaritmus výšky vodního sloupce v cm.

^(b) 1 bar = 10⁵ Pa.

^(c) Odpovídá přibližnému obsahu vody při složení 10 % písku, 35 % hlíny a 45 % jílu.

^(d) Polní kapacita není konstanta, ale mění se v závislosti na druhu půdy od pF 1,5 do 2,5.

Tlak vody se vyjadřuje v cm vodního sloupce nebo v jednotkách bar. Vzhledem k velkému rozpětí se sací tlak vyjadřuje jednoduše jako hodnota pF, která je ekvivalentní logaritmu vodního sloupce v cm.

Polní kapacita je definována jako množství vody, které přírodní půda po delším deštivém období nebo po dostatečném zavlažení udrží proti gravitaci 2 dny. Stanovuje se u neporušené půdy v polním pokusu. Naměřená hodnota tedy není použitelná pro laboratorní vzorky porušené půdy. Hodnoty PK stanovené u porušených půd mohou vykazovat větší systematické odchylky.

Retenční vodní kapacita (RVK) se stanovuje v laboratoři u neporušené i porušené půdy tak, že se kapilárním vztláním nasatí sloupec půdy vodou. Využije se zejména u porušených půd může být až o 30 % vyšší než polní kapacita (1). Také se stanovuje snadněji než spolehlivé hodnoty PK.

⁽¹⁾ Mückenhausen, E. (1975). Die Bodenkunde und ihre geologischen, geomorphologischen, mineralogischen und petrologischen Grundlagen. DLG-Verlag, Frankfurt, Main.

PŘÍLOHA 2

VLHKOST PŮDY (v g vody na 100 g sušiny) U RŮZNÝCH DRUHŮ PŮD Z RŮZNÝCH ZEMÍ

| Druh půdy | Země | Vlhkost půdy při | | |
|-------------------|-----------|--------------------|----------|----------|
| | | RVK ⁽¹⁾ | pF = 1,8 | pF = 2,5 |
| Písčítá | Německo | 28,7 | 8,8 | 3,9 |
| Hlinitopísčítá | Německo | 50,4 | 17,9 | 12,1 |
| Hlinitopísčítá | Švýcarsko | 44,0 | 35,3 | 9,2 |
| Prachovitohlinitá | Švýcarsko | 72,8 | 56,6 | 28,4 |
| Jílovitohlinitá | Brazílie | 69,7 | 38,4 | 27,3 |
| Jílovitohlinitá | Japonsko | 74,4 | 57,8 | 31,4 |
| Písčitohlinitá | Japonsko | 82,4 | 59,2 | 36,0 |
| Prachovitohlinitá | USA | 47,2 | 33,2 | 18,8 |
| Písčitohlinitá | USA | 40,4 | 25,2 | 13,3 |

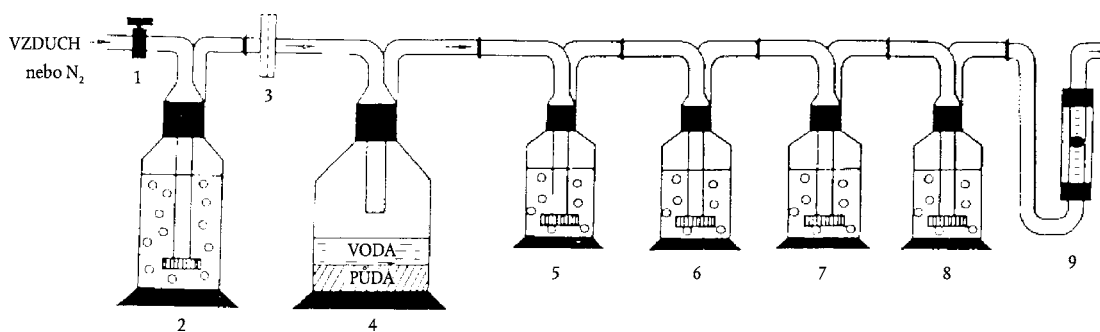
(¹) Retenční vodní kapacita.

PŘÍLOHA 3

Obrázek 1

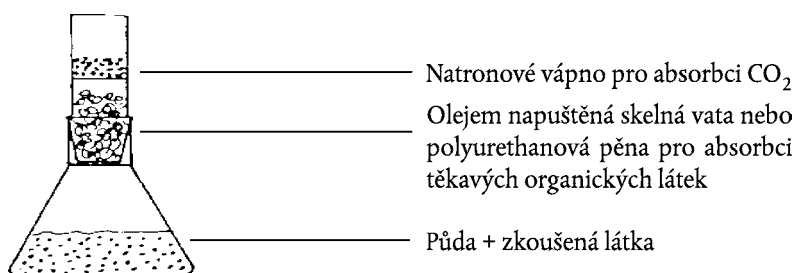
Příklad průtokové aparatury pro studium transformace chemických látek v půdě (1, 2)

- | | | | | | |
|----|---|----|---|-------|--|
| 1: | jehlový ventil | 4: | baňka pro studium metabolismu v půdě (zalitá vodou pouze v případě anaerobních podmínek a podmínek rýžového pole) | 7, 8: | zátka z hydroxidu sodného pro zachycení CO_2 a jiných kyselých těkavých látek |
| 2: | promývačka s vodou | 5: | baňka s ethylenglykolem pro zachycení organických těkavých sloučenin | 9: | průtokoměr |
| 3: | ultramembrána (pouze ve sterilních podmínkách), velikost pórů 0,2 μm | 6: | baňka s kyselinou sírovou pro zachycení alkalických těkavých sloučenin | | |



Obrázek 2

Příklad biometrické baňky pro studium transformace chemických látek v půdě



- (1) Guth, J. A. (1980). The study of transformations. In: Interactions between Herbicides and the Soil (R. J. Hance, ed.), Academic Press, 123 – 157.
- (2) Guth, J. A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. In: Progress in Pesticide Biochemistry. D.H. Hutson, T.R. Roberts, (eds.) J. Wiley & Sons. Vol 1, 85 – 114.
- (3) Anderson, J. P. E. (1975). Einfluss von Temperatur und Feuchte auf Verdampfung, Abbau und Festlegung von Diallat im Boden. Z. PflKrankh Pflschutz, Sonderheft VII, 141 – 146.

C.24. AEROBNÍ A ANAEROBNÍ TRANSFORMACE V SYSTÉMECH VODA/SEDIMENT**1. METODA**

Tato zkušební metoda je replikou metody OECD TG 308 (2002).

1.1 ÚVOD

Chemické látky se mohou dostat do mělkých nebo hlubokých povrchových vod cestami, jako jsou přímá aplikace, unášení postřiku, odtok, ukládání odpadu, průmyslové, komunální nebo zemědělské emise a atmosférický spad. V této zkušební metodě je popsán laboratorní postup posouzení aerobní a anaerobní transformace organických chemických látek v systémech voda/sediment. Vychází ze stávajících směrnic (1, 2, 3, 4, 5, 6). O počtu a druzích půd, které mají být použity ve zkoušce, byla učiněna dohoda na pracovním semináři OECD *Workshop on soil/sediment Selection held at Belgirate*, Itálie, 1995 (7). Zde byla rovněž přijata doporučení týkající se odběru, zpracování a skladování vzorků sedimentů založená na směrnici ISO (8). Tyto studie jsou požadovány u chemických látek, které jsou aplikovány bezprostředně do vody nebo které se mohou dostat do vody výše uvedenými cestami.

Podmínky ve vrchní vodní fázi přírodních systémů voda/sediment jsou často aerobní. Podmínky v povrchové vrstvě sedimentu mohou být buď aerobní, nebo anaerobní, zatímco podmínky hlouběji v sedimentu jsou obvykle anaerobní. S cílem zahrnout všechny tyto možnosti je v tomto dokumentu popsána zkouška jak za aerobních podmínek, tak za anaerobních podmínek. Aerobní zkouškou se simuluje aerobní vodní sloupec nad aerobní vrstvou sedimentu, pod níž leží vrstva s anaerobním gradientem. Anaerobní zkouška simuluje zcela anaerobní systém voda/sediment. Pokud je z okolností zřejmé, že je třeba se odchýlit od těchto doporučení, např. použít nedotčené střední vrstvy sedimentů nebo sedimenty, které mohly být exponovány zkoušenou látkou, existují jiné metody určené k tomuto účelu (9).

1.2 DEFINICE

Ve všech případech je třeba používat mezinárodní soustavu jednotek SI.

Zkoušená látka: jakákoli látka, ať již výchozí látka, nebo příslušné transformační produkty.

Transformační produkty: všechny látky vznikající při biotických a abiotických transformačních reakcích zkoušené látky, včetně CO₂ a vázaných reziduí.

Vázaná rezidua: „Vázaná rezidua“ jsou sloučeniny v půdě, rostlinách nebo v živočiších, které po extrakci zůstávají v matrici ve formě výchozí látky nebo jejího metabolitu (jejích metabolitů). Metoda extrakce nesmí podstatně měnit samotné sloučeniny nebo strukturu matrice. Považbu vazeb lze částečně vysvětlit extrakcí spojenou se změnami v matrici a moderními analytickými postupy. Dosud byly tímto způsobem vyjasněny např. kovalentní, iontové a adsorpční vazby a rovněž záchyty. Tvorba vázaných reziduí obecně podstatně snižuje biologickou přístupnost a dostupnost (10) [upraveno IUPAC 1984 (11)].

Aerobní transformace: (oxidační): reakce, ke kterým dochází za přítomnosti kyslíku (12).

Anaerobní transformace: (redukční): reakce probíhající s vyloučením molekulárního kyslíku (12).

Přírodní vody: jsou povrchové vody získané z rybníků, řek, potoků atd.

Sediment: je směs minerálních a organických chemických složek, přičemž organické složky obsahují sloučeniny s vysokým obsahem uhlíku a dusíku a vysokou molekulovou hmotností. Ukládají se v přírodních vodách a vytvářejí rozhraní s těmito vodami.

Mineralizace: je úplný rozklad organické sloučeniny na CO_2 a H_2O za aerobních podmínek a na CH_4 , CO_2 a H_2O za anaerobních podmínek. V rámci této zkušební metody, při níž se používají sloučeniny značené radioisotopy, se mineralizací rozumí rozsáhlý rozklad molekuly, při němž se značící atomy uhlíku kvantitativně oxidují nebo redukují, přičemž se uvolňuje odpovídající množství $^{14}\text{CO}_2$ nebo $^{14}\text{CH}_4$.

Poločas, $t_{0,5}$, je čas, za který dojde k 50 % transformaci zkoušené látky, jestliže lze transformaci popsat kinetikou prvního řádu; nezávisí na počáteční koncentraci.

DT₅₀ (doba odbourání 50): doba, za kterou se počáteční koncentrace zkoušené látky sníží o 50 %.

DT₇₅ (doba odbourání 75): doba, za kterou se počáteční koncentrace zkoušené látky sníží o 75 %.

DT₉₀ (doba odbourání 90): doba, za kterou se počáteční koncentrace zkoušené látky sníží o 90 %.

1.3 REFERENČNÍ LÁTKY

Referenční látky by měly být použity pro identifikaci a kvantitativní stanovení transformačních produktů spektroskopickými a chromatografickými metodami.

1.4 INFORMACE O ZKOUŠENÉ LÁTCE

Pro stanovení rychlosti transformace lze použít jak látky neznačené radioisotopy, tak látky značené, přičemž značené materiály jsou upřednostňovány. Značený materiál je nezbytný pro studium způsobu transformace a pro stanovení látkové bilance. Doporučuje se značení isotopem ^{14}C , avšak užitečné mohou být i jiné isotopy, např. ^{13}C , ^{15}N , ^3H , ^{32}P . Značena by měla být pokud možno nejstabilnější část (části) molekuly ⁽¹⁾. Chemická a/nebo radiochemická čistota látky by měla být alespoň 95 %.

Před provedením zkoušky by měly být k dispozici tyto informace o látce:

- a) rozpustnost ve vodě (metoda A.6);
- b) rozpustnost v organických rozpouštědlech;
- c) tlak par (metoda A.4) a Henryho konstanta;
- d) rozdělovací koeficient n-oktanol/voda (metoda A.8);
- e) adsorpční koeficient (podle potřeby K_d , K_f nebo K_{oc}) (metoda C.18);
- f) hydrolyza (metoda C.7);
- g) disociační konstanta ($\text{p}K_a$) [směrnice OECD 112] (13);
- h) chemická struktura zkoušené látky a případně poloha značícího nuklidu.

Poznámka: Ve zprávě se uvede teplota, při které byla měření prováděna.

Mezi další užitečné informace patří údaje o toxicitě zkoušené látky pro půdní mikroorganismy, údaje o snadné nebo vlastní biologické rozložitelnosti a údaje o aerobní a anaerobní transformaci v půdě.

⁽¹⁾ Pokud například látka obsahuje kruh, je třeba tento kruh označit; pokud látka obsahuje dva nebo více kruhů, může být nezbytné provést samostatné studie za účelem stanovení osudu každého z označených kruhů, a získat tak vhodné informace o tvorbě transformačních produktů.

K dispozici by měly být analytické metody (včetně extrakčních a izolačních metod) pro kvantitativní stanovení a identifikaci zkoušené látky a jejích transformačních produktů ve vodě a sedimentu (viz oddíl 1.7.2).

1.5 PODSTATA ZKUŠEBNÍ METODY

V metodě popsané v této zkoušce se používají aerobní i anaerobní systémy voda/sediment (viz příloha 1), které umožňují

- i) měřit rychlost transformace zkoušené látky v systému voda/sediment,
- ii) měřit rychlost transformace zkoušené látky v sedimentu,
- iii) měřit rychlost mineralizace zkoušené látky a/nebo produktů její transformace (pokud se použije zkoušená látka značená isotopem ^{14}C),
- iv) identifikaci a kvantifikaci produktů transformace ve vodě a v sedimentu, včetně látkové bilance (pokud se použije značená zkoušená látka),
- v) měřit distribuci zkoušené látky a produktů její transformace mezi dvěma fázemi během inkubace v temnu (aby nedošlo např. k vykvetení řas) při konstantní teplotě. Pokud to údaje umožňují, stanoví se poločasy a hodnoty DT_{50} , DT_{75} a DT_{90} , které by však neměly být příliš extrapolovány mimo obor experimentálních hodnot (viz oddíl 1.2).

Pro aerobní i anaerobní studie jsou nezbytné alespoň dva sedimenty a příslušné vodní fáze (7). V některých případech by však měly být použity více než dva systémy voda/sediment, např. u chemických látek, které mohou být přítomny ve sladkovodním i mořském ekosystému.

1.6 POUŽITELNOST ZKOUŠKY

Tato metoda je použitelná pro všechny chemické látky (neznačené nebo značené radioaktivními isotopy), pro které je k dispozici analytická metoda s dostatečnou přesností a citlivostí. Je použitelná pro mírně těkavé a netěkavé sloučeniny rozpustné nebo špatně rozpustné ve vodě. Zkouška by neměla být použita u látek, které z vody silně těkají (např. fumiganty, organická rozpouštědla), a nelze je tedy ve vodě nebo v sedimentu udržet za experimentálních podmínek této zkoušky.

Tato metoda je dosud používána ke studiu transformace chemických látek ve sladkovodním systému voda/sediment, avšak může být v zásadě použita také na estuarní a mořské systémy. Není vhodná k simulaci podmínek v tekoucích vodách (např. řekách) nebo na otevřeném moři.

1.7 KRITÉRIA JAKOSTI

1.7.1 Výtěžnost

Extrakce a analýza provedená alespoň u dvou duplikátních vzorků systému voda/sediment ihned po přidání zkoušené látky poskytne první informaci o opakovatelnosti analytické metody a o stejnoměrnosti aplikace zkoušené látky. Výtěžnosti pozdějších stupňů experimentu se zjistí z příslušných látkových bilancí (pokud se použije značený materiál). Výtěžnosti by se měly nacházet v rozmezí 90 % až 110 % u značených chemických látek (6) a v rozmezí 70 % až 110 % u nezačených chemických látek.

1.7.2 Opakovatelnost a citlivost analytické metody

Opakovatelnost analytické metody (kromě účinnosti první extrakce) pro kvantifikaci zkoušené látky a transformačních produktů lze ověřit paralelním provedením analýzy duplikátních vzorků těchto extraktů (vzorků) vody nebo sedimentu, které byly dostatečně dlouho inkubovány, aby došlo k vytvoření transformačních produktů.

Mez detekce analytické metody (LOD) pro zkoušenou látku a pro transformační produkty by měla být alespoň 0,01 mg na kg vody nebo sedimentu (pro zkoušenou látku) nebo 1 % výchozího množství aplikovaného do zkušebnímu systému, podle toho, která z těchto hodnot je nižší. Rovněž by měla být specifikována mez kvantitativní stanovitelnosti (LOQ).

1.7.3 Správnost dat o transformaci

Regresní analýza závislosti koncentrace zkoušené látky na čase poskytuje vhodné informace o správnosti transformační křivky a umožňuje vypočítat intervaly spolehlivosti pro poločasy (v případě zdánlivé kinetiky prvního řádu) nebo pro hodnoty DT_{50} a popřípadě hodnoty DT_{75} a DT_{90} .

1.8 POPIS METODY

1.8.1 Zkušební systém a aparatura

Studie se provede se skleněnými nádobami (např. baňkami, centrifugačními kyvetami), pokud z předběžných informací (např. z rozdělovacího koeficientu n-oktanol/voda, ze sorpčních dat atd.) nevyplyvá, že látka může ulpívat na skle; v takovém případě lze zvážit použití náhradního materiálu (např. tetlonu). Pokud je o zkoušené látce známo, že ulpívá na skle, lze problém zmírnit jednou z následujících metod:

- stanovením hmotnosti zkoušené látky a transformačních produktů sorbovaných na skle;
- zajištěním, aby se na konci zkoušky omylo rozpouštědlem veškeré laboratorní sklo;
- použitím komerční úpravy přípravků (viz také oddíl 1.9.2);
- použitím většího množství pomocného rozpouštědla za účelem přidání zkoušené látky do systému; pokud se použije pomocné rozpouštědlo, nesmí štěpit zkoušenou látku solvolýzou.

Příklady typických zkušebních aparatur, tj. průtokové a biometrické systémy, jsou uvedeny v přílohách 2 a 3 (14). Jiné užitečné inkubační systémy jsou popsány v literatuře (15). Experimentální aparatura by měla být konstruována tak, aby byla možná výměna vzduchu nebo dusíku a zachycení těkavých produktů. Rozměry aparatury musí splňovat požadavky zkoušky (viz oddíl 1.9.1). Ventilace musí být zajištěna buď jemným probubláváním, nebo proháněním vzduchu nebo dusíku nad hladinou vody. V druhém případě se doporučuje vodu seshora mírně promíchávat, aby docházelo k lepší distribuci kyslíku nebo dusíku ve vodě. Neměl by se použít vzduch zbavený CO_2 , neboť by došlo ke zvýšení pH vody. V žádném případě není žádoucí, aby došlo ke zvržení sedimentu, a je tomu třeba pokud možno zabránit. Slabě těkavé chemické látky se zkoušejí v biometrickém systému za mírného promíchávání vodní hladiny. Lze rovněž použít uzavřené nádoby s volným objemem pod víčkem vyplněným atmosférickým vzduchem nebo dusíkem a vnitřní ampulky pro zachycování těkavých produktů (16). U aerobních zkoušek je nezbytná pravidelná výměna plynu pod víčkem, aby se vyrovnávala spotřeba kyslíku biomasou.

Mezi vhodné lapače pro shromažďování těkavých transformačních produktů patří kromě jiných roztok hydroxidu draselného nebo sodného o koncentraci $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ pro zachycování oxidu uhličitého⁽¹⁾ a ethylenglykol, ethanolamin nebo 2 % parafín v xylenu pro organické sloučeniny. Těkavé látky vznikající za anaerobních podmínek, např. methan, lze zachycovat na molekulovém sítu. Tyto těkavé látky lze spálit např. na CO_2 v křemenné trubičce za přítomnosti CuO při teplotě 900 °C a vzniklý CO_2 lze zachytit v absorbéru s alkálií (17).

(¹) Vzhledem k tomu, že alkalické roztoky absorbují oxid uhličitý ze vzduchu určeného k provzdušňování a oxid uhličitý uvolňující se respirací v aerobních experimentech, musí být pravidelně vyměňovány, aby se nevyčerpala jejich absorpční kapacita.

Pro chemickou analýzu zkoušené látky a transformačních produktů jsou nezbytné laboratorní přístroje (např. přístroje pro plynovou chromatografii s kapalinovou stacionární fází (GLC), vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (HPLC), pro chromatografii na tenké vrstvě (TLC), hmotnostní spektrometrii (MS), kombinaci plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (GC-MS), kombinaci kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (LC-MS), jadernou magnetickou rezonanci (NMR) atd.), včetně detekčních systémů pro detekci sloučenin značených nebo neznačených radioisotopy. Pokud se použije materiál značený radioisotopy, je třeba mít k dispozici scintilační spektrometr a zařízení pro spalování za přítomnosti oxidačního činidla (pro spalování vzorků sedimentů před analýzou radioaktivity).

Další standardní laboratorní vybavení pro fyzikálně-chemická a biologická měření (viz oddíl 1.8.2.2 tabulka 1), laboratorní sklo, chemikálie a činidla se použijí podle potřeby.

1.8.2 Výběr a počet vodních sedimentů

Místa odběru by měla být vybrána podle účelu zkoušky v dané situaci. Při výběru místa odběru vzorků musí být přihlédnuto k historii případných zemědělských, průmyslových nebo komunálních vstupů do povodí a do horních toků. Sedimenty by neměly být použity, pokud byly v předchozích 4 letech kontaminovány zkoušenou látkou nebo jejími strukturními analogy.

1.8.2.1 Výběr sedimentů

Pro aerobní studie se obvykle použijí dva sedimenty (7). Tyto dva vybrané sedimenty by se měly lišit co do obsahu organického uhlíku a struktury. Jeden sediment by měl mít vysoký obsah organického uhlíku (2,5 – 7,5 %) a jemnou strukturu a druhý sediment by měl mít nízký obsah organického uhlíku (0,5 – 2,5 %) a hrubou strukturu. Obsah organického uhlíku by se měl zpravidla lišit alespoň o 2 %. „jemná struktura“ je definována obsahem složky [jíl + prach] ⁽¹⁾ vyšším než 50 % a „hrubá textura“ je definována obsahem složky [jíl + prach] nižším než 50 %. Rozdíl v obsahu složek [jíl + prach] u obou sedimentů by měl být zpravidla alespoň 20 %. V případě, že se může chemikálie dostat do mořských vod, měl by alespoň jeden systém voda/sediment pocházet z moře.

Pro přísně anaerobní studie by měly být odebrány dva sedimenty (včetně okolní vody) z anaerobních zón povrchových vod (7). Se sedimentem i vodní fází by mělo být zacházeno opatrně a měly by být přepravovány s vyloučením přístupu kyslíku.

Pro výběr sedimentu mohou být důležité i jiné parametry, které by měly být zvažovány případ od případu. Rozpětí pH sedimentů je například důležité pro zkoušení chemikálií, u nichž transformace a/nebo sorpce mohou záviset na pH. Závislost sorpce na pH by se mohla odrážet v hodnotě pK_a zkoušené látky.

1.8.2.2 Charakterizace vzorků systému voda/sediment

Klíčové parametry, které musí být jak u vody, tak u sedimentu měřeny a uvedeny ve zprávě (s odkazem na použitou metodu), a fáze zkoušky, ve které mají být měřeny, jsou shrnuty v níže uvedené tabulce. Metody stanovení těchto parametrů jsou pro informaci uvedeny v literatuře (18, 19, 20, 21).

Kromě toho může být případ od případu nezbytné měřit a uvádět další parametry (např. u sladkovodního systému: obsah částic, alkalita, tvrdost, vodivost, NO_3/PO_4 (poměr jednotlivých hodnot); u sedimentů: kationtová výměnná kapacita, retenční vodní kapacita, obsah uhličitánů, celkový obsah dusíku a fosforu; u mořských systémů: salinita). Pro posouzení oxidačně-redukčních podmínek, a zejména v souvislosti s anaerobní transformací, může být také užitečná analýza sedimentů a vody na dusičnany, sírany, biologicky dostupné železo, popřípadě na jiné akceptory elektronů.

(¹) [jíl + prach] je minerální frakce sedimentu s velikostí částic < 50 μm .

Měření parametrů pro charakterizaci vzorků systémů voda/sediment (7, 22, 23)

| Parametr | Fáze zkušebního postupu | | | | | |
|---------------------------------|---------------------------|----------------------|-----------------------|------------------|-----------------|---------------|
| | odběr v terénu | manipulace po odběru | zahájení aklimatizace | zahájení zkoušky | samotná zkouška | konec zkoušky |
| <i>Voda</i> | | | | | | |
| Původ/zdroj | x | | | | | |
| Teplota | x | | | | | |
| pH | x | | x | x | x | x |
| TOC | | | x | x | | x |
| Koncentrace O ₂ (*) | x | | x | x | x | x |
| Oxidačně-redukční potenciál (*) | | | x | x | x | x |
| <i>Sediment</i> | | | | | | |
| Původ/zdroj | x | | | | | |
| Hloubka vrstvy | x | | | | | |
| pH | | x | x | x | x | x |
| Distribuce částic | | x | | | | |
| TOC | | x | x | x | | x |
| Mikrobiální biomasa (**) | | x | | x | | x |
| Oxidačně-redukční potenciál (*) | Pozorování (barva/zápach) | | x | x | x | x |

(*) Výsledky nedávných výzkumů ukázaly, že měření koncentrace kyslíku ve vodě a oxidačně-redukčního potenciálu vody nemají vypovídací hodnotu, pokud jde o mechanismus růstu a vývoje mikrobiální populace v povrchových vodách, a nemají ani předpovědní hodnotu (24, 25). Stanovení biochemické spotřeby kyslíku (BOD, při odběru vzorků v terénu a při zahájení a na konci zkoušky) a koncentrace mikro- a makroživin Ca, Mg a Mn ve vodě (při zahájení a na konci zkoušky) a měření celkového obsahu N a P v sedimentech (při odběru vzorků v terénu a na konci zkoušky) může být lepším nástrojem pro interpretaci a hodnocení rychlosti a způsobů aerobní biotransformace.

(**) Metoda měření rychlosti mikrobiální respirace (26), fumigační metoda (27) nebo měření počtu mikroorganismů (např. bakterií, aktinomycet, plísní a celkového počtu kolonií) pro aerobní studie; rychlost methanogeneze u anaerobních studií.

1.8.3 Odběr vzorků, manipulace s nimi a jejich skladování

1.8.3.1 Odběr

Vzorky sedimentu se odeberou podle návrhu směrnice ISO pro odběr vzorků sedimentů ze dna (8). Vzorky se odeberou z celé 5 až 10 cm silné horní vrstvy sedimentu. Současně se sedimentem se odebere z téhož místa i vzorek okolní vody. U anaerobní studie musí být sediment a okolní voda odebrány a přepravovány s vyloučením přístupu kyslíku (28) (viz oddíl 1.8.2.1). V literatuře je popsáno několik odběrových zařízení (8, 23).

1.8.3.2 Manipulace

Sediment se oddělí od vody filtrací a poté se pomocí přebytku vody z místa odběru prosévá za mokra na 2 mm sítu; voda se poté odstraní. Následně se v inkubační baňce v požadovaném poměru (viz oddíl 1.9.1) smísí známé množství sedimentu a vody a směs se připraví pro aklimatizaci (viz oddíl 1.8.4). U anaerobní studie musí být všechny kroky prováděny s vyloučením přístupu kyslíku (29, 30, 31, 32, 33).

1.8.3.3 Skladování

V každém případě se doporučuje používat čerstvě odebraný sediment a vodu; je-li však skladování nezbytné, sediment s vodou se proseje výše popsaným způsobem a zalitý vodou (vrstva vody 6 – 10 cm) se skladuje v temnu při 4 °C (± 2 °C) ⁽¹⁾ maximálně 4 týdny (7, 8, 23). Vzorky pro aerobní studie se skladují za volného přístupu vzduchu (např. v otevřených nádobách), zatímco vzorky pro anaerobní studie se skladují s vyloučením přístupu kyslíku. Při přepravě a skladování nesmí sediment a voda zmrznout a sediment nesmí být vysušován.

1.8.4 Příprava vzorků sedimentu/vody ke zkoušce

Před přidáním zkoušené látky musí proběhnout aklimatizace, při níž musí být vzorky sedimentu/vody umístěny v inkubační nádobě, která se použije při hlavní zkoušce; podmínky aklimatizace musí být totožné s podmínkami inkubace při zkoušce (viz oddíl 1.9.1). Doba aklimatizace je čas nezbytný pro dostatečnou stabilizaci systému, kterou lze posoudit podle pH, koncentrace kyslíku ve vodě, oxidačně-redukčního potenciálu sedimentu a vody a makroskopické separace fází. Doba aklimatizace není obvykle delší než jeden až dva týdny a neměla by překročit čtyři týdny. Výsledky měření provedených během této doby se uvedou ve zprávě.

1.9 PROVEDENÍ ZKOUŠKY

1.9.1 Zkušební podmínky

Zkouška se provede v inkubační aparatuře (viz oddíl 1.8.1) s poměrem objemu vody a sedimentu 3:1 až 4:1a vrstvou sedimentu 2,5 cm ($\pm 0,5$ cm). Doporučené minimální množství sedimentu na inkubační nádobu je 50 g (hmotnost sušiny).

Zkouška se provádí v temnu za konstantní teploty v rozmezí 10 až 30 °C. Vhodná je teplota 20 °C (± 2 °C). Podle potřeby lze případ od případu v závislosti na zaměření zkoušky zvolit jinou, nižší teplotu (např. 10 °C). Inkubační teplota se sleduje a uvede se ve zprávě.

⁽¹⁾ Z nedávných studií vyplývá, že skladování při 4 °C může vést k poklesu obsahu organického uhlíku v sedimentu, který by mohl případně vést k poklesu mikrobiální aktivity.

1.9.2 Úprava zkoušené látky a její aplikace

Použije se jedna zkušební koncentrace chemické látky ⁽¹⁾. U přípravků na ochranu rostlin aplikovaných přímo do vodního tělesa se použije maximální dávkování uvedené na etiketě jako maximální aplikovaná dávka vypočtená podle plochy hladiny vody ve zkušební nádobě. Ve všech ostatních případech se použije koncentrace založená na odhadech emisí do životního prostředí. Je třeba spolehlivě zajistit, aby byla aplikována dostatečná koncentrace zkoušené látky pro charakterizaci postupu transformace a tvorby a odbourávání transformačních produktů. V situaci, kdy se koncentrace zkoušené látky na začátku studie blíží mezím detekce a/nebo kdy by nebylo možné detekovat hlavní transformační produkty, jsou-li přítomny v množství odpovídajícím 10 % výchozí aplikované dávky, může být nezbytné aplikovat vyšší dávky (např. 10krát vyšší). Použité vyšší koncentrace však nesmí mít značně nepříznivé účinky na mikrobiální aktivitu vody/sedimentu. S cílem dosáhnout konstantní koncentrace v nádobách různých rozměrů může být nezbytné upravit množství použitého materiálu, přičemž se vychází z výšky vodního sloupce v nádobě v poměru k hloubce vody v odběrovém místě (předpokládá se hloubka 100 cm, možná je však i jiná hloubka). Příklad výpočtu je uveden v příloze 4.

V ideálním případě se zkoušená látka aplikuje do vodné fáze zkoušeného systému ve formě vodného roztoku. Je-li to nevyhnutelné, je přípustné použít pro aplikaci a rozptýlení zkoušené látky malé množství rozpouštědla mísitelného s vodou (např. acetonu nebo ethanolu), avšak jeho množství by nemělo překročit 1 % (obj.); rozpouštědlo by nemělo mít nepříznivé účinky na mikrobiální aktivitu ve zkušebním systému. Přípravě vodného roztoku zkoušené látky je třeba věnovat pozornost a k zajištění naprosté homogenity může být vhodné použít generátorové kolony a předem připravené směsi. Po přidání vodného roztoku do zkušebního systému se doporučuje vodnou fázi mírně promíchat tak, aby se sediment zvířil co nejméně.

Použití komerčních úprav přípravků se v zásadě nedoporučuje, neboť složky přípravku mohou mít vliv na rozptýlení zkoušené látky a/nebo transformačních produktů mezi vodu a sediment. U špatně rozpustných zkoušených látek však může být použití komerční úpravy vhodnou možností.

Počet inkubačních nádob závisí na počtu intervalů, v nichž mají být prováděny odběry (viz oddíl 1.9.3). Je třeba nasadit dostatečný počet zkušebních systémů, aby bylo možné v každém intervalu vyhodnotit dva systémy. Použijí-li se pro každý systém voda/sediment kontrolní systémy, neexponují se zkoušené látky. Kontrolní systémy lze použít pro stanovení mikrobiální biomasy sedimentu a celkového organického uhlíku ve vodě na konci studie. Dva kontrolní systémy (tj. po jednom kontrolním systému z každého systému voda/sediment) mohou být použity pro sledování požadovaných parametrů v sedimentu a ve vodě v průběhu aklimatizace (viz tabulka v oddílu 1.8.2.2). Dva další kontrolní systémy musí být nasazeny za účelem měření nepříznivých účinků na mikrobiální aktivitu ve zkušebním systému v případě, že se zkoušená látka aplikuje pomocí rozpouštědla.

1.9.3 Délka zkoušky a odběry vzorků

Délka experimentu by neměla překročit 100 dnů (6) a experiment by měl trvat tak dlouho, dokud se nestanoví způsob rozkladu a rozptýlení ve vodě/sedimentu, nebo dokud se transformací a/nebo těkáním nevyčerpá 90 % zkoušené látky. Odběr by měl být proveden nejméně šestkrát za sebou (včetně času 0), přičemž vhodný režim odběrů a délka zkoušky se stanoví nepovinnou orientační studií (viz oddíl 1.9.4), nejsou-li k dispozici dostačující údaje o zkoušené látce z dřívějších studií. U hydrofobních zkoušených látek může být potřeba dodatečným vzorkováním v průběhu počáteční fáze studie zjistit stupeň rozptýlení mezi vodou a sediment.

⁽¹⁾ Zkouška s druhou koncentrací může být užitečná u chemických látek, které se dostávají do vod různými cestami, a vykazují tedy významně odlišné koncentrace, pokud lze nižší koncentraci analyzovat s dostatečnou správností.

V příslušnou dobu se k analýze odebere celý obsah inkubačních nádob (včetně duplikátních nádob). Sediment a voda nad sedimentem se analyzují zvlášť ⁽¹⁾. Voda se za minimálního zviření sedimentu opatrně odebere. Vhodnými analytickými postupy se provedou extrakce a charakterizace zkoušené látky a transformačních produktů. Je třeba také pečlivě shromáždit materiál, který může být adsorbován na inkubační nádobě nebo ve spojovacích trubičkách použitých k zachycení těkavých látek.

1.9.4 **Nepovinná orientační zkouška**

Nelze-li délku a režim odběrů odhadnout z jiných relevantních studií zkoušené látky, může se provést předběžná zkouška za týchž zkušebních podmínek, jaké jsou navrženy pro hlavní studii. Příslušné podmínky a výsledky orientační zkoušky, pokud byla provedena, by měly být stručně uvedeny ve zprávě.

1.9.5 **Měření a analýza**

Pro každý jednotlivý odběr se provede měření koncentrace zkoušené látky a transformačních produktů ve vodě a v sedimentu a výsledky se uvedou ve zprávě (jako koncentrace a v procentech aplikovaného množství). V zásadě by měla být při každém odběru provedena identifikace transformačních produktů, které obsahují $\geq 10\%$ radioaktivity aplikované do celého systému voda/sediment, nejsou-li dostatečné důvody pro jiný postup. Měly by být také identifikovány transformační produkty, jejichž koncentrace se v průběhu studie nepřetržitě zvyšuje, třebaže nedosahuje výše uvedené meze, neboť to může znamenat, že se jedná o perzistentní produkty. Tento postup by měl být zvážen případ od případu a ve zprávě by měl být odůvodněn.

Pro každý jednotlivý odběr se uvedou výsledky ze systémů pro zachycování plynů/těkavých látek (CO_2 a jiných těkavých organických sloučenin). Uvede se rychlost mineralizace. Pro každý jednotlivý odběr se uvedou neextrahovatelná (vázaná) rezidua v sedimentu.

2. **ÚDAJE**

2.1 **ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ**

Pro každý jednotlivý odběr se vypočte celková látková bilance nebo výtěžnost (viz oddíl 1.7.1) přidané radioaktivity. Výsledky se uvedou v procentech přidané radioaktivity. Pro každý jednotlivý odběr se uvede rozptýlení radioaktivity mezi vodu a sediment (vyjádřeno v koncentracích a v procentech).

Pro zkoušenou látku se vypočítá poločas a hodnoty DT_{50} , případně hodnoty DT_{75} a DT_{90} a intervaly spolehlivosti těchto hodnot (viz oddíl 1.7.3). Vhodnými hodnotícími nástroji lze zjistit míru zániku zkoušené látky ve vodě a v sedimentu. Může jít o použití zdánlivé kinetiky prvního řádu, o techniky proložení empirické křivky za použití grafického nebo numerického řešení a o složitější hodnocení, např. pomocí modelu s jednou nebo více složkami. Další podrobné informace lze získat z příslušné publikované literatury (35, 36, 37).

⁽¹⁾ Může-li snadno docházet k rychlé opětovné oxidaci produktů anaerobní transformace, měly by být během odběru a analýzy zachovány anaerobní podmínky.

Všechny přístupy mají své silné a slabé stránky a značně se liší z hlediska komplexnosti. Použití kinetiky prvního řádu může být sice přílišným zjednodušením procesu rozkladu a distribuce, vede však v ideálním případě k hodnotám (rychlostní konstantě nebo poločas), které jsou snadno srozumitelné a mají význam pro simulační modelování a výpočet předpokládaných koncentrací v životním prostředí. Empirický přístup nebo lineární transformace mohou vést k lepšímu proložení dat křivkami, a tedy k lepšímu odhadu poločasů, hodnot DT_{50} , případně DT_{75} a DT_{90} . Použití odvozených konstant však má své meze. Složkové modely mohou poskytovat řadu užitečných konstant, které jsou důležité pro posouzení rizika a pro popis rozkladu chemické látky v různých složkách a pro její distribuci. Použijí se rovněž pro odhad rychlostních konstant tvorby a rozkladu hlavních transformačních produktů. V každém případě však musí být volba metody odůvodněna a experimentátor by měl graficky nebo statisticky prokázat její oprávněnost.

3. ZPRÁVY

3.1 PROTOKOL O ZKOUŠCE

Protokol musí obsahovat následující informace:

Zkoušená látka:

- obecný název, chemický název, číslo CAS, strukturální vzorec (s uvedením polohy značícího nuklidu u látek značených radionuklidy) a relevantní fyzikálně-chemické vlastnosti;
- čistota zkoušené látky (obsah nečistot);
- popřípadě radiochemická čistota značené chemické látky a molární aktivita.

Referenční látky:

- chemický název a struktura referenčních látek použitých k charakterizaci a/nebo identifikaci transformačního produktu.

Zkušební sedimenty a vody:

- lokalita a popis místa/míst odběru sedimentu a vody, pokud možno včetně dřívější kontaminace;
- všechny informace týkající se odběru, případného skladování a aklimatizace systému voda/sediment;
- charakteristiky vzorků systému voda/sediment, jak jsou uvedeny v tabulce v oddílu 1.8.2.2.

Zkušební podmínky:

- použitý zkušební systém (např. průtokový systém, biometrický systém, způsob provzdušňování, míchání, objem vody, hmotnost sedimentu, tloušťka vrstvy vody i sedimentu, rozměry zkušebních nádob atd.);
- aplikace zkoušené látky do systému: použitá zkušební koncentrace, počet duplikátních vzorků a kontrol, způsob aplikace zkoušené látky (např. případné použití rozpouštědla) atd.
- inkubační teplota;
- doby odběru;
- metody extrakce a účinnosti extrakce, analytické metody a meze detekce;
- metody charakterizace/identifikace transformačních produktů;

— odchylky od zkušebního postupu nebo zkušebních podmínek.

Výsledky:

- původní číselná data reprezentativních analýz (všechna původní data musí být uložena v archivu vedeném podle zásad správné laboratorní praxe);
- opakovatelnost a citlivost použitých analytických metod;
- hodnoty výtěžnosti (hodnoty v % pro platnou studii jsou uvedeny v oddíle 1.7.1);
- výsledky pro zkoušenou látku, popřípadě i pro transformační produkty a neextrahovatelnou radioaktivitu, zpracované v tabulkové formě a vyjádřené v % aplikované dávky a v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ pro vodu, sediment a celý systém (pouze v %);
- látková bilance během studií na jejich konci;
- grafické schéma transformace ve vodě a sedimentu a v celém systému (včetně mineralizace);
- rychlosti mineralizace;
- poločas, hodnoty DT_{50} a popřípadě DT_{75} a DT_{90} pro zkoušenou látku, popřípadě i pro hlavní transformační produkty, včetně intervalů spolehlivosti, pro vodu, sediment a celý systém;
- charakteristika kinetiky transformace zkoušené látky, popřípadě i hlavních transformačních produktů;
- případný návrh způsobu transformace;
- diskuse o výsledcích.

4. LITERATURA

- (1) BBA-Guidelines for the examination of plant protectors in the registration process. (1990). Part IV, Section 5-1: Degradability and fate of plant protectors in the water/sediment system. Germany.
- (2) Commission for registration of pesticides: Application for registration of a pesticide. (1991). Part G. Behaviour of the product and its metabolites in soil, water and air, Section G.2.1 (a). The Netherlands.
- (3) MAFF Pesticides Safety Directorate. (1992). Preliminary guideline for the conduct of biodegradability tests on pesticides in natural sediment/water systems. Ref No SC 9046. United Kingdom.
- (4) Agriculture Canada: Environmental chemistry and fate. (1987). Guidelines for registration of pesticides in Canada. Aquatic (Laboratory) –Anaerobic and aerobic. Canada. 35 – 37.
- (5) US-EPA: Pesticide assessment guidelines, Subdivision N. Chemistry: Environmental fate (1982). Section 162 – 3, Anaerobic aquatic metabolism.
- (6) SETAC-Europe publication. (1995). Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides. (ed. Dr. Mark R. Lynch.) SETAC-Europe, Brussels.
- (7) OECD Test Guidelines Programme. (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/sediments, Belgirate, Italy, 18 – 20 January 1995.
- (8) ISO/DIS 5667-12. (1994). Water quality – Sampling – Part 12: Guidance on sampling of bottom sediments.
- (9) US-EPA (1998a). Sediment/water microcosm biodegradation test. Harmonised Test Guidelines (OPPTS 835.3180). EPA 712-C-98-080.
- (10) DFG: Pesticide Bound Residues in Soil. Wiley-VCH (1998).
- (11) T. R. Roberts: Non-extractable pesticide residues in soils and plants. *Pure Appl. Chem.* 56, 945-956 (IUPAC 1984).

- (12) OECD Test Guideline 304A: Inherent Biodegradability in Soil (přijato 12. května 1981).
- (13) OECD (1993): Guidelines for Testing of Chemicals. Paris. OECD (1994-2000): Addenda 6-11 to Guidelines for the Testing of Chemicals.
- (14) Scholz, K., Fritz R., Anderson C., Spiteller M. (1988) Degradation of pesticides in an aquatic model ecosystem. BCPC – Pests and Diseases, 3B-4, 149 – 158.
- (15) Guth, J. A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. In Progress in Pesticide Biochemistry (ed. D. H. Hutson, T. R. Roberts), Vol. 1, 85 – 114. J. Wiley & Sons.
- (16) Madsen, T., Kristensen, P. (1997). Effects of bacterial inoculation and non-ionic surfactants on degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Environ. Toxicol. Chem.* 16, 631 – 637.
- (17) Steber, J., Wierich, P. (1987). The anaerobic degradation of detergent range fatty alcohol ethoxylates. Studies with ¹⁴C-labelled model surfactants. *Water Research* 21, 661 – 667.
- (18) Black, C. A. (1965). Methods of Soil Analysis. Agronomy Monograph No. 9. American Society of Agronomy, Madison.
- (19) APHA (1989). Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (17. vyd.). American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, Washington D.C.
- (20) Rowell, D. L. (1994). Soil Science Methods and Applications. Longman.
- (21) Light, T. S. (1972). Standard solution for redox potential measurements. *Anal. Chem.* 44, 1038 – 1039.
- (22) SETAC-Europe publication (1991). Guidance document on testing procedures for pesticides in freshwater mesocosms. From the Workshop „A Meeting of Experts on Guidelines for Static Field Mesocosms Tests“, 3. – 4. června 1991.
- (23) SETAC-Europe publication. (1993). Guidance document on sediment toxicity tests and bioassays for freshwater and marine environments. From the Workshop On Sediment Toxicity Assessment (WOSTA), 8. – 10. listopadu 1993. (ed. I. R. Hill, P. Matthiessen, F. Heimbach).
- (24) Vink, J. P. M., van der Zee, S. E. A. T. M. (1997). Pesticide biotransformation in surface waters: multivariate analyses of environmental factors at field sites. *Water Research* 31, 2858 – 2868.
- (25) Vink, J. P. M., Schraa, G., van der Zee, S. E. A. T. M. (1999). Nutrient effects on microbial transformation of pesticides in nitrifying waters. *Environ. Toxicol.* 329 – 338.
- (26) Anderson, T. H., Domsch, K. H. (1985). Maintenance carbon requirements of actively-metabolising microbial populations under in-situ conditions. *Soil Biol. Biochem.* 17, 197 – 203.
- (27) ISO-14240-2. (1997). Soil quality – Determination of soil microbial biomass – Part 2: Fumigation-extraction method.
- (28) Beelen, P. Van, F. Van Keulen. (1990), The Kinetics of the Degradation of Chloroform and Benzene in Anaerobic Sediment from the River Rhine. *Hydrobiol. Bull.* 24 (1), 13 – 21.
- (29) Shelton, D. R., Tiedje, J. M. (1984). General method for determining anaerobic biodegradation potential. *App. Environ. Microbiol.* 47, 850 – 857.
- (30) Birch, R. R., Biver, C., Campagna, R., Gledhill, W. E., Pagga, U., Steber, J., Reust, H., Bontinck, W. J. (1989). Screening of chemicals for anaerobic biodegradation. *Chemosphere*, 19, 1527 – 1550.
- (31) Pagga, U., Beimborn, D. B. (1993). Anaerobic biodegradation tests for organic compounds. *Chemosphere*, 27, 1499 – 1509.
- (32) Nuck, B. A., Federle, T. W. (1986). A batch test for assessing the mineralisation of ¹⁴C-radiolabelled compounds under realistic anaerobic conditions. *Environ. Sci. Technol.* 30, 3597 – 3603.
- (33) US-EPA (1998b). Anaerobic biodegradability of organic chemicals. Harmonised Test Guidelines (OPPTS 835.3400). EPA 712-C-98-090.

- (34) Sijm, Haller, Schrap (1997). Influence of storage on sediment characteristics and drying sediment on sorption coefficients of organic contaminants. *Bulletin Environ. Contam. Toxicol.* 58, 961 – 968.
- (35) Timme, G., Frehse, H., Laska, V. (1986) Statistical interpretation and graphic representation of the degradational behaviour of pesticide residues II. *Pflanzenschutz – Nachrichten Bayer*, 39, 187 – 203.
- (36) Timme, G., Frehse, H. (1980) Statistical interpretation and graphic representation of the degradational behaviour of pesticide residues I. *Pflanzenschutz – Nachrichten Bayer*, 33, 47 – 60.
- (37) Carlton, R.R., Allen, R. (1994). The use of a compartment model for evaluating the fate of pesticides in sediment/water systems. Brighton Crop Protection Conference – Pest and Diseases, 1349 – 1354.

PŘÍLOHA 1**POKYNY K AEROBNÍM A ANAEROBNÍM ZKUŠEBNÍM SYSTÉMŮM****Aerobní zkušební systém**

Aerobní zkušební systém popsany v této zkušební metodě se skládá z aerobní vodní vrstvy (typická koncentrace kyslíku v rozmezí od 7 do 10 mg.l⁻¹) a vrstvy sedimentu, která je na povrchu aerobní a pod povrchem anaerobní (typické průměrné oxidačně-redukční potenciály (E_h) v anaerobní zóně sedimentu jsou v rozmezí -80 až -190 mV). Nad vodní hladinu v každé inkubační jednotce se zavádí zvlhčený vzduch, aby se v prostoru pod víčkem udržovala dostatečná koncentrace kyslíku.

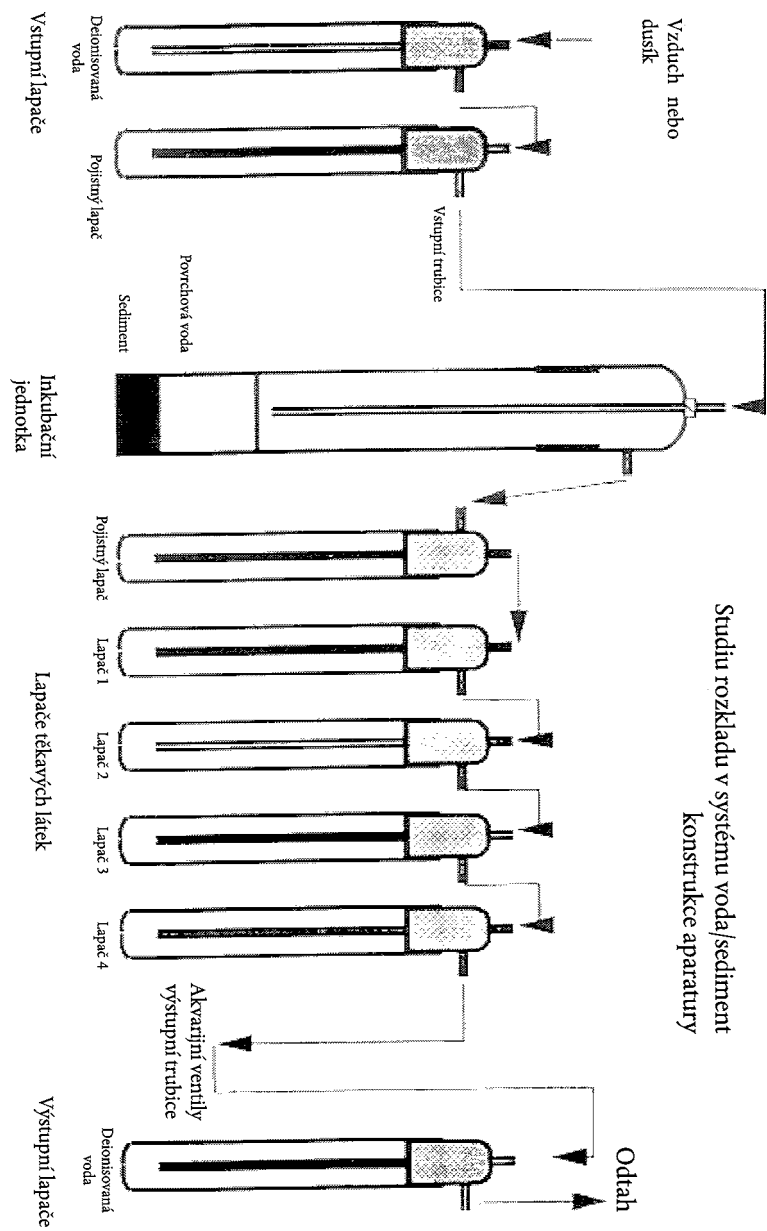
Anaerobní zkušební systém

Pro anaerobní zkušební systém je zkušební postup v podstatě tentýž, jako postup popsany pro aerobní systém, liší se však tím, že nad hladinu vody v každé inkubační jednotce se zavádí zvlhčený dusík, aby se udržovala jeho koncentrace v prostoru pod víčkem. Sediment a voda jsou považovány za anaerobní, pokud je oxidačně-redukční potenciál (E_h) nižší -100 mV.

V anaerobní zkoušce se mineralizace posuzuje na základě měření uvolněného oxidu uhličitého a methanu.

PŘÍLOHA 2

PŘÍKLAD SKLENĚNÉ PRŮTOKOVÉ APARATURY



Pojistný lapač: prázdný

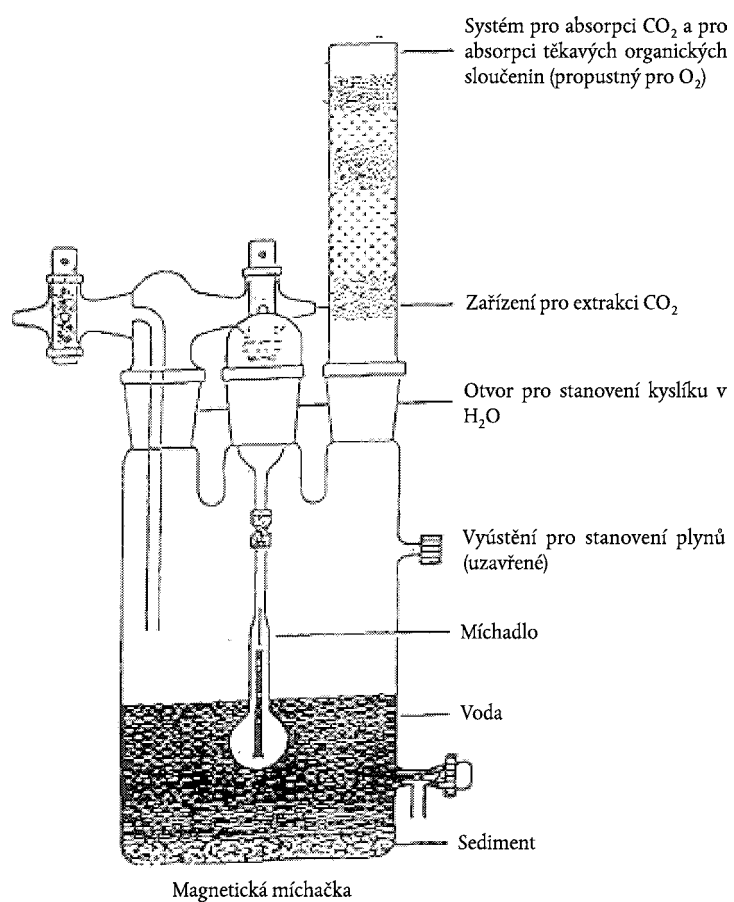
Lapač 1:
ethylenglykol pro zachycení
organických těkavých látek

Lapač 2:
0,1M kyselina sírová k zachycení
alkalických těkavých látek

Lapače 3 a 4:
2M hydroxid sodný k zachycení
CO₂ jiných kyselých těkavých
látek

PŘÍLOHA 3

PŘÍKLAD BIOMETRICKÉ APARATURY



PŘÍLOHA 4**PŘÍKLAD VÝPOČTU DÁVKY APLIKOVANÉ DO ZKUŠEBNÍCH NÁDOB**

| | |
|---|----------------------------|
| Vnitřní průměr válce: | = 8 cm |
| Výška vodního sloupce bez sedimentu: | = 12 cm |
| Plocha hladiny: $3,142 \times 4^2$ | = 50,3 cm ² |
| Dávkování: 500 g zkoušené látky na ha odpovídá 5 µg/cm ² | |
| Celkové množství v µg: $5 \times 50,3$ | = 251,5 µg |
| Přepočet celkového množství na hloubku 100 cm: $12 \times 251,5 \div 100$ | = 30,18 µg |
| Objem vodního sloupce: $50,3 \times 12$ | = 603 ml |
| Koncentrace ve vodě: $30,18 \div 603$ | = 0,050 µg/ml nebo 50 µg/l |