ISSN 1725-2539

Amtsblatt

der Europäischen Union

L 152

47. Jahrgang

30. April 2004

Ausgabe
in deutscher Sprache

Rechtsvorschriften

Inhalt

I *Veröffentlichungsbedürftige Rechtsakte*

★ **Richtlinie 2004/73/EG der Kommission vom 29. April 2004 zur neunundzwanzigsten Anpassung der Richtlinie 67/548/EWG des Rates zur Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften für die Einstufung, Verpackung und Kennzeichnung gefährlicher Stoffe an den technischen Fortschritt** ([1]) 1

Preis: 50 EUR

([1]) Text von Bedeutung für den EWR

DE

Bei Rechtsakten, deren Titel in magerer Schrift gedruckt sind, handelt es sich um Rechtsakte der laufenden Verwaltung im Bereich der Agrarpolitik, die normalerweise nur eine begrenzte Geltungsdauer haben.

Rechtsakte, deren Titel in fetter Schrift gedruckt sind und denen ein Sternchen vorangestellt ist, sind sonstige Rechtsakte.

I

(Veröffentlichungsbedürftige Rechtsakte)

RICHTLINIE 2004/73/EG DER KOMMISSION

vom 29. April 2004

zur neunundzwanzigsten Anpassung der Richtlinie 67/548/EWG des Rates zur Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften für die Einstufung, Verpackung und Kennzeichnung gefährlicher Stoffe an den technischen Fortschritt

(Text von Bedeutung für den EWR)

DIE KOMMISSION DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN –

gestützt auf den Vertrag zur Gründung der Europäischen Gemeinschaft,

gestützt auf die Richtlinie 67/548/EWG des Rates vom 27. Juni 1967 zur Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften für die Einstufung, Verpackung und Kennzeichnung gefährlicher Stoffe[1], insbesondere auf Artikel 28,

in Erwägung nachstehender Gründe:

(1) Anhang I der Richtlinie 67/548/EWG enthält eine Liste gefährlicher Stoffe sowie Einzelheiten über die Verfahren zur Kennzeichnung und Einstufung der Stoffe. Diese Liste muss aktualisiert und um angemeldete neue Stoffe sowie um weitere Altstoffe erweitert werden; gleichzeitig sind die bestehenden Einträge – beispielsweise durch Festlegung von Höchstwerten für die Konzentration in der Umwelt - an den technischen Fortschritt anzupassen. Ferner sollten Einträge bestimmter Stoffe gestrichen und andere Einträge aufgespaltet werden, da die Einstufung nicht mehr für alle unter diesen Einträgen aufgeführten Stoffe gilt. Die Kennzeichnung von Stoffen, die 1,3-Butadien enthalten, sollte geändert werden, da dieser Stoff in der Richtlinie jetzt als Mutagen eingestuft wird.

(2) In Anhang V der Richtlinie 67/548/EWG sind die Methoden zur Bestimmung der physikalisch-chemischen Eigenschaften, der Toxizität und der Ökotoxizität von Stoffen und Zubereitungen festgelegt. Dieser Anhang sollte angepasst werden, um die Zahl der für Versuche verwendeten Tiere im Einklang mit der Richtlinie 86/609/EWG des Rates vom 24. November 1986 zur Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften der

[1] ABl. L 196 vom 16.8.1967, S. 1. Richtlinie zuletzt geändert durch die Richtlinie 2001/59/EG der Kommission (ABl. L 225 vom 6.8.2001, S. 1).

Mitgliedstaaten zum Schutz der für Versuche und andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere[2] auf ein Minimum zu beschränken. Die in den Kapiteln B.1, B.4, B.5, B.31 und B.35 beschriebenen Methoden zur Prüfung auf sub-chronische orale Toxizität sollten entsprechend überarbeitet werden. Ferner sollte Anhang V um Kapitel B.42 erweitert werden, um eine verfeinerte Methode zur Prüfung auf sub-chronische orale Toxizität zur Verfügung zu stellen. Schließlich sollten Kapitel A.21 über physikalisch-chemische Eigenschaften, Kapitel B.43 über die sub-chronische orale Toxizität und Kapitel C.21 bis C.24 über Ökotoxizität aufgenommen werden, um die Bestimmung von Eigenschaften zu ermöglichen, die durch die Methoden von Anhang V noch nicht in ausreichendem Maße abgedeckt sind.

(3) Die Maßnahmen dieser Richtlinie entsprechen der Stellungnahme des Ausschusses zur Anpassung der Richtlinien zur Beseitigung der technischen Handelshemmnisse für gefährliche Stoffe und Zubereitungen an den technischen Fortschritt –

HAT FOLGENDE RICHTLINIE ERLASSEN:

Artikel 1

Die Richtlinie 67/548/EWG wird wie folgt geändert:

1. Anhang I erhält folgende Fassung:

   a) Anmerkung K des Vorworts wird durch den Wortlaut von Anhang IA ersetzt;

   b) die Einträge, die den in Anhang 1B dieser Richtlinie angeführten Einträgen entsprechen, werden durch den Wortlaut der Einträge in diesem Anhang ersetzt;

   c) die in Anhang 1C dieser Richtlinie angeführten Einträge werden entsprechend der Reihenfolge der Einträge in Anhang I der Richtlinie 67/548/EWG eingefügt;

   d) die Einträge mit den Nummern 604-050-00-X, 607-050-00-8, 607-171-00-6 und 613-130-00-3 werden gestrichen;

   e) der Eintrag mit der Nummer 048-002-00-0 wird durch die in Anhang 1D dieser Richtlinie enthaltenen Einträge mit den Nummern 048-002-00-0 und 048-011-00-X ersetzt;

   f) der Eintrag mit der Nummer 609-006-00-3 wird durch die in Anhang 1D dieser Richtlinie enthaltenen Einträge mit den Nummern 609-006-00-3 und 609-065-00-5 ersetzt;

   g) der Eintrag mit der Nummer 612-039-00-6 wird durch die in Anhang 1D dieser Richtlinie enthaltenen Einträge mit den Nummern 612-039-00-6 und 612-207-00-9 ersetzt;

2. Anhang V erhält folgende Fassung:

   a) Der Wortlaut von Anhang 2A dieser Richtlinie wird als Kapitel A.21 hinzugefügt;

[2] ABl. L 358 vom 18.12.1986, S. 1. Richtlinie geändert durch die Richtlinie 2003/65/EG des Europäischen Parlaments und des Rates (ABl. L 230 vom 16.09.2003, S. 32).

b) Kapitel B.1.a erhält die Fassung von Anhang 2B dieser Richtlinie;

c) Kapitel B.1.b erhält die Fassung von Anhang 2C dieser Richtlinie;

d) Kapitel B.4 erhält die Fassung von Anhang 2D dieser Richtlinie;

e) Kapitel B.5 erhält die Fassung von Anhang 2E dieser Richtlinie;

f) Kapitel B.31 erhält die Fassung von Anhang 2F dieser Richtlinie;

g) Kapitel B.35 erhält die Fassung von Anhang 2G dieser Richtlinie;

h) der Wortlaut von Anhang 2H dieser Richtlinie wird als Kapitel B.42 und B.43 hinzugefügt;

i) der Wortlaut von Anhang 2I dieser Richtlinie wird als Kapitel C.21 bis C.24 hinzugefügt.

Artikel 2

(1) Die Mitgliedstaaten erlassen die erforderlichen Rechts- und Verwaltungsvorschriften, um dieser Richtlinie spätestens am 31. Oktober 2005 nachzukommen. Sie teilen der Kommission unverzüglich den Wortlaut dieser Rechtsvorschriften mit und fügen eine Entsprechungstabelle dieser Rechtsvorschriften und der vorliegenden Richtlinie bei. Wenn die Mitgliedstaaten diese Vorschriften erlassen, nehmen sie in diesen Vorschriften selbst oder durch einen Hinweis bei der amtlichen Veröffentlichung auf diese Richtlinie Bezug. Die Mitgliedstaaten regeln die Einzelheiten der Bezugnahme.

(2) Die Mitgliedstaaten teilen der Kommission den Wortlaut der wichtigsten innerstaatlichen Rechtsvorschriften mit, die sie auf dem unter diese Richtlinie fallenden Gebiet erlassen.

Artikel 3

Diese Richtlinie tritt am zwanzigsten Tag nach ihrer Veröffentlichung im *Amtsblatt der Europäischen Union* in Kraft.

Artikel 4

Diese Richtlinie ist an die Mitgliedstaaten gerichtet.

Brüssel, den 29. April 2004

Für die Kommission
Margot WALLSTRÖM
Mitglied der Kommission

ANHANG 1A

Anmerkung K:

Die Einstufung als "krebserzeugend" oder "erbgutverändernd" ist nicht zwingend, wenn nachgewiesen wird, dass der Stoff weniger als 0,1 Gewichtsprozent 1,3-Butadien (Einecs-Nr. 203-450-8) enthält. Ist der Stoff nicht als krebserzeugend oder erbgutverändernd eingestuft, so sollten zumindest die S-Sätze (2)9-16 gelten. Diese Anmerkung gilt nur für bestimmte komplexe Ölderivate in Anhang I.

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
006-005-00-4	Thiram Bis-(dimethyl-thiocarbamoyl)-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; R43-48/22-50/53 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	Hydrogencyanid ...% Cyanwasserstoff ...%	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 %: Xn; R20/21/22	
006-012-00-2	Ziram (ISO) Zink-bis(*N*,*N*-dimethyl-dithiocarbamat)		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-Dichlorphenyl)-1-methoxy-1-methylharnstoff	E	206-356-5	330-55-2	Repr. Cat. 2; R61 Repr. Cat. 3; R62 Carc. Cat. 3; R40	T; N R: 61-22-40-48/22-62-50/53		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
					Xn; R22-48/22 N; R50-53	S: 53-45-60-61		
006-044-00-7	Isoproturon 3-(4-Isopropylphenyl)-1,1-dimethylharnstoff		251-835-4	34123-59-6	Carc. Cat. 3; R40 N; R50-53	Xn; N R: 40-50/53 S: (2-)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-*N*,*N*-dipropylthiocarbamat		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	Chlordioxid		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	Chlordioxid . . . %	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 ≥ 25 %: 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	Ammoniak, wasserfrei		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 ≥ 25 %: 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 Carc. Cat. 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 ≥ 25 %: 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	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
007-010-00-4	Natriumnitrit		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	Kaliumnitrit		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	Carc. Cat. 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	Isobutylnitrit	E	208-819-7	542-56-3	F; R11 Xn; R20/22 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68	F; T R: 11-20/22-45-68 S: 53-45		
007-027-00-7	1,6-Bis(3,3-bis(3-(1,3-dimethylbutylidenimino)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	Wasserstoffperoxid in Lösung ... %	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	Sulfuryldifluorid		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	Roter Phosphor		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	Tributylphosphat		204-800-2	126-73-8	Carc.Cat.3; R40 Xn; R22 Xi; R38	Xn R: 22-38-40 S: (2-)36/37-46		
015-015-00-8	Trikresylphosphat	C	201-103-5	78-30-8	T; R39/23/24/25	T; N	C ≥ 25 %: T, N; R39/23/24/25-	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	o-o-o, o-o-m, o-o-p, o-m-m, o-m-p, o-p-p				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	Trikresylphosphat m-m-m, m-m-p, m-p-p, p-p-p	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	Mevinphos (ISO) 2-Methoxycarbonyl-1-methylvinyldimethylphosphat		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 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: N; R51-53 0,000025 % ≤ C < 0,00025 %: R52-53	
015-021-00-0	Trichlorfon (ISO) Dimethyl-2,2,2-trichlor-1-hydroxyethylphosphonat		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 1 % ≤ C < 25 %: Xi, 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	
015-027-00-3	Sulfotep (ISO) *O,O,O,O*-Tetraethyldithiopyrophosphat		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 < 0,0025 %: R52-53	
015-032-00-0	Prothoat (ISO)		218-893-2	2275-18-5	T+; R27/28	T+		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	O,O-Diethylisopropylcarbamoylmethyldithiophosphat				R52-53	R: 27/28-52/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61		
015-033-00-6	Phorat (ISO) *O,O*-Diethylethylthiomethyldithiophosphat		206-052-2	298-02-2	T+; R27/28 N; R50-53	T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	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	
015-034-00-1	Parathion (ISO) *O,O*-Diethyl-*O*-4-nitrophenylthiophosphat		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-nitrophenylthiophosphat		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-	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-041-00-X	Malathion (ISO) 1,2-Bis (ethoxycarbonyl) ethyl-*O*,*O*-dimethyldithiophosphat		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 (nicht als ISO-Kurzname anerkannt) *O*-(3-Chlor-4-nitro-phenyl)-*O*,*O*-dimethyl-thiophosphat		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*′-methylendi (dithiophosphat)		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	Fenchlorphos (ISO) *O*,*O*-Dimethyl-*O*-2,4,5-trichlorphenylthiophosphat		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-dichlorethyldimethylphosphat		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) 1,4-Dioxan-2,3-diyl-*O*,*O*,*O*′,*O*′-tetraethyldi (dithiophosphat)		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-	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-065-00-0	*S*-2-Ethylsulfinyl-ethyl-*O*,*O*-dimethyl-dithiophosphat		-	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		
015-076-00-0	*O*,*O*-Diethyl-*O*-(4-methyl-cumarin-7-yl)-thiophosphat		-	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 *S*-2-Ethylsulfonylethyldimethylthiophosphat		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-2-phenylsulfonylaminoethyldithiophosphat		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-pyridylthiophosphat		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	Methamidophos (ISO) *O*,*S*-Dimethylamidothiophosphat		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 *O*,*O*-Diethyl-*S*-2-ethylsulfinyl-ethyl-dithiophosphat		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-	C ≥ 25 %: T+, N; R24-28-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21-	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
						60-61	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 < 0,1 %: R52-53	
015-097-00-5	Phenthoat (ISO) Ethyl-2-(dimethoxythiophosphinoylthio)-2-phenylacetat		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	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	
015-100-00-X	Phoxim (ISO) α-(Diethoxyphosphinothioylimino)phenylacetonitril		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; R22-50-53 0,025 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-101-00-5	Phosmet (ISO) *O,O*-Dimethylphthalimidomethyldithiophosphat		211-987-4	732-11-6	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	Triphenylphosphit		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	Ethoprophos (ISO) Ethyl-*S,S*-dipropyldithiophosphat		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	Bromophos (ISO) *O*-4-Brom-2,5-dichlorphenyl-*O,O*-dimethylthiophosphat		218-277-3	2104-96-3	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/5 S: (2-)36-60-613	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,25 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25: N; R51-53	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-109-00-9	Crotoxyphos (ISO) 1-Phenylethyl-3-(dimethoxyphosphinyloxy) isocrotonat		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	C ≥ 25 %: T, N; R24/25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: 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	
015-110-00-4	Cyanofenphos (ISO) *O*-4-Cyanophenyl-*O*-ethylphenylthiophosphonat		-	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		
015-114-00-6	Chlormephos (ISO) *S*-Chlormethyl-*O*,*O*-diethyldithiophosphat		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		
015-115-00-1	Chlorthiophos (ISO)		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	*O*-6-Ethoxy-2-ethylpyrimidin-4-yl-*O*,*O*-dimethylthiophosphat Etrimfos		253-855-9	38260-54-7	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 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
015-123-00-5	Fenamiphos (ISO) Ethyl-4-methylthio-*m*-tolyl-*N*-isopropylphosphoramidat		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 ≥ 25 %: T+, N; R24-28-50-53 7 % ≤ C < 25 %: 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	Heptenophos (ISO) 7-Chlorbicyclo(3.2.0)hepta-2,6-dien-6-yldimethylphosphat		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 ≥ 25 %: T, N; R25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,25 % ≤ C < 3 %: N; R50-53	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-127-00-7	*S*-Benzyldiisopropylthiophosphat		247-449-0	26087-47-8	Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)61		
015-128-00-2	*S*-Ethylsulfinylmethyl-*O,O*-diisopropyldithiophosphat		-	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 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R22-27-50-53 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R22-24-50-53 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 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-129-00-8	Isofenphos (ISO) *O*-Ethyl-*O*-2-isopropoxycarbonylphenyl-*N*-isopropylthiophosphoramidat		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	*O,O*-Diethyl-*O*-5-phenylisoxazol-3-ylthiophosphat		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	*S*-(Chlorphenylthiomethyl)-*O,O*-dimethyldithiophosphat		-	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	Piperophos (ISO) *S*-2-Methylpiperidinocarbonylmethyl-		-	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	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	O,O-dipropyldithiophosphat						0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
015-134-00-5	Pirimiphos-methyl (ISO) *O*-(2-Diethylamino-6-methylpyrimidin-4-yl)-*O,O*-dimethylthiophosphat		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	Profenofos (ISO) *O*-(4-Brom-2-chlorphenyl)-*O*-ethyl-*S*-propylthiophosphat		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	*O*-Ethyl-O-[(2-isopropoxycarbonyl)-1-methyl]vinyl(ethylamido)thiophosphat		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	Quinalphos (ISO) *O,O*-Diethyl-*O*-chinoxalin-2-ylthiophosphat		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-tert*-Butylthiomethyl-*O,O*-diethyldithiophosphat Terbufos (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-Chlorethylphosphonsäure		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-	C ≥ 25 %: C; R20/21-34-52/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R34 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
						36/37/39-45-61		
015-179-00-0	Reaktionsprodukt aus Tetrakis(hydroxymethyl)phosphoniumchlorid mit Harnstoff und destilliertem hydriertem C16-18-Talgalkylamint		422-720-8	166242-53-1	Carc. Cat. 3; R40 Xn; R22-48/22 C; R34 R43 N; R50-53	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	Hydrogensulfid Schwefelwasserstoff		231-977-3	7783-06-4	F+; R12 T+; R26 N; R50	F+; T+; N R: 12-26-50 S: (1/2-)9-16-36-38-45-61		
016-008-00-2	Ammoniumpolysulfide Ammoniumsulfid ($(NH_4)_2(S_x)$)		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	Dischwefeldichlorid		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	Schwefeldichlorid		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 10 % ≤ C < 25 %: C; R34 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38	
016-014-00-5	Schwefeltetrachlorid		-	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		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	Dimethylsulfat	E	201-058-1	77-78-1	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 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 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-R20-	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							R68 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45-R68	
016-059-00-0	*N,N,N',N'*-Tetramethyldithiobis(ethylen)diamindihydrochlorid		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		
017-003-00-8	Bariumchlorat		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	Kaliumchlorat		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	Natriumchlorat		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	Natriumhypochloritlösung ... % Cl aktiv	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	Calciumhypochlorit		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	Chromtrioxid	E	215-607-8	1333-82-0	O; R9 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 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	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							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	
024-002-00-6	Kaliumdichromat	E	231-906-6	7778-50-9	O; R8 Carc. Cat. 2: R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 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	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
024-003-00-1	Ammoniumdichromat	E	232-143-1	7789-09-5	E; R2 O; R8 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 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; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-50/53 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-	3

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							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	
024-004-00-7	Natriumdichromat	E	234-190-3	10588-01-9	O; R8 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 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	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
024-004-01-4	Natriumdichromat, dihydrat	E	234-190-3	7789-12-0	O; R8 Carc. Cat.2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26	T+; N; O R: 45-46-60-61-8-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 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-	3

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
					T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; R50-53		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	
024-011-00-5	Ammoniumbis(1-(3,5-dinitro-2-oxidophenylazo)-3-(*N*-phenylcarbamoyl)-2-naphtholato)chromat(1-)		400-110-2	-	F; R11 N; R50-53	F; N R: 11-50/53 S: (2-)33-60-61		
024-018-00-3	Natriumchromat	E	231-889-5	7775-11-3	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat.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; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-	3

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							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	
027-004-00-5	Cobaltdichlorid	E	231-589-4	7646-79-9	Carc. Cat. 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 ≥ 25 %: T, N; R49-22-42/43-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R49-22-42/43-51/53 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	I
027-005-00-0	Cobaltsulfat	E	233-334-2	10124-43-3	Carc. Cat. 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 ≥ 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	I
029-002-00-X	Dikupferoxid Kupfer (I)-oxid		215-270-7	1317-39-1	Xn; R22 N; 50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)22-60-61		
030-001-00-1	Zinkpulver - Zinkstaub (nicht stabilisiert)		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	Zinkpulver - Zinkstaub (stabilisiert)		231-175-3	7440-66-6	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
030-003-00-2	Zinkchlorid		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	Zinksulfat (wasserhaltig) (mono-, hexa- und hepta hydratisiert) [1]		231-793-3 [1] 231-793-3 [2]	7446-19-7 [1] 7733-02-0 [2]	Xn; R22 R41 N; R50-53	Xn; N R: 22-41-50/53 S: (2-)22-26-39-46-60-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Zinksulfat (wasserfrei) [2]							
033-001-00-X	Arsen		231-148-6	7440-38-2	T; R23/25 N; R50-53	T; N R: 23/25-50/53 S: (1/2-)20/21-28-45-60-61		
033-002-00-5	Arsenverbindungen, mit Ausnahme der namentlich in diesem Anhang bezeichneten	A	-	-	T; R23/25 N; R50-53	T; N R: 23/25-50/53 S: (1/2-)20/21-28-45-60-61	C ≥ 25 %: 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	Tetrakis(dimethylditetradecylammonium)hexa-μ-oxotetra-μ3-oxodi-μ5-oxotetradecaoxooctamolybdat(4-)		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	Cadmiumverbindungen, mit Ausnahme von Cadmiumselenosulfid (xCdS.yCdSe) und Mischungen von Cadmiumsulfid und Zinksulfid (xCdS.yZnS), Mischungen von Cadmiumsulfid und Quecksilbersulfid (xCdS.yHgS) sowie der Cadmiumverbindungen, die in diesem Anhang gesondert aufgeführt sind	A	-	-	Xn; R20/21/22 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)60-61	C ≥ 25 %: 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	Cadmiumdiformiat		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 ≥ 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 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/22-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/22-33-52/53	
048-004-00-1	Cadmiumcyanid		208-829-1	542-83-6	T+; R26/27/28 R32 R33	T+; N R: 26/27/28-32-33-68-50/53	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-32-33-50/53-68 7 % ≤ C < 25 %: T+, N;	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
					Xn; R68 N; R50-53	S: (1/2-)7-28-29-45-60-61	R26/27/28-32-33-51/53-68 2,5 % ≤ C < 7 %: T, N; R23/24/25-32-33-51/53-68 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	
048-005-00-7	Cadmiumhexafluorosilicat(2-)		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	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	Cadmiumfluorid	E	232-222-0	7790-79-6	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 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	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 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
048-007-00-8	Cadmiumiodid		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	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							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	
048-008-00-3	Cadmiumchlorid	E	233-296-7	10108-64-2	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 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	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 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
048-009-00-9	Cadmiumsulfat	E	233-331-6	10124-36-4	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 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 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
048-010-00-4	Cadmiumsulfid	E	215-147-8	1306-23-6	Carc. Cat. 2; R45	T; N	C ≥ 25 %: T; R45-22-48/23/25-	1

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
					Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62-63 T; R48/23/25 Xn; R22 R53	R: 45-22-48/23/25-62-63-68-53 S: 53-45-61	62-63-68-53 10 % ≤ C < 25 %: T; R45-22-48/23/25-62-63-68 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	
050-001-00-5	Zinntetrachlorid		231-588-9	7646-78-8	C; R34 R52-53	C R: 34-52/53 S: (1/2-)7/8-26-45-61	C ≥ 25 %: C; R34-52/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R34 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38	
050-005-00-7	Trimethyl-Zinnverbindungen, mit Ausnahme der namentlich in diesem Anhang bezeichneten	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	Triethyl-Zinnverbindungen, mit Ausnahme der namentlich in diesem Anhang bezeichneten	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	Tripropyl-Zinnverbindungen, mit Ausnahme der namentlich in diesem Anhang bezeichneten	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

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
050-008-00-3	Tributyl-Zinnverbindungen, mit Ausnahme der namentlich in diesem Anhang bezeichneten	A	-	-	T; R25-48/23/25 Xn; R21 Xi; R36/38 N; R50-53	T; N R: 21-25-36/38-48/23/25-50/53 S: (1/2-)35-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R21-25-36/38-48/23/25-50/53 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	1
050-009-00-9	Fluortripentylstannan [1] Hexapentyldistannoxan [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	Fluortrihexylstannan		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	Triphenyl-Zinnverbindungen, mit Ausnahme der namentlich in diesem Anhang bezeichneten	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	Tetracyclohexylstannan [1] Chlortricyclohexylstannan [2] Butyltricyclohexylstannan [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	Trioctyl-Zinnverbindungen, mit Ausnahme der namentlich in diesem Anhang bezeichneten	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	Antimonpentachlorid		231-601-8	7647-18-9	C; R34 N; R51-53	C; N R: 34-51/53	C ≥ 25 %: C, N; R34-51/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R34-	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
						S: (1/2-)26-45-61	52/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: R52/53	
051-003-00-9	Antimonverbindungen, mit Ausnahme von Diantimontetraoxid (Sb_2O_4), Diantimonpentoxid (Sb_2O_5), Diantimontrisulfid (Sb_2S_3), Diantimonpentasulfid (Sb_2S_5) sowie der Antimonverbindungen, die in diesem Anhang gesondert aufgeführt sind	A	-	-	Xn; R20/22 N; R51-53	Xn; N R: 20/22-51/53 S: (2-)61	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	I
080-002-00-6	Anorganische Quecksilberverbindungen mit Ausnahme von Quecksilber(II)sulfid (Zinnober) und der namentlich in diesem Anhang bezeichneten	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	I
080-004-00-7	Organische Quecksilberverbindungen mit Ausnahme der namentlich in diesem Anhang bezeichneten	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	I
080-007-00-3	Dimethylquecksilber [1] Diethylquecksilber [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;	I

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							R23/24/25-33 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22-33	
082-001-00-6	Bleiverbindungen mit Ausnahme der namentlich in diesem Anhang bezeichneten	AE	-	-	Repr. Cat. 1; R61 Repr. Cat. 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	Bleialkyle	AE	-	-	Repr. Cat. 1; R61 Repr. Cat. 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 Ethylen		200-815-3	74-85-1	F+; R12 R67	F+ R: 12-67 S: (2-)9-16-33-46		
601-014-00-5	Isopren 2-Methyl-1,3-butadien	D	201-143-3	78-79-5	F+; R12 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 R52-53	F+; T R: 45-12-68-52/53 S: 53-45-61		
601-017-00-1	Cyclohexan		203-806-2	110-82-7	F; R11 Xn; R65 Xi; R38 R67 N; R50-53	F; Xn; N R: 11-38-65-67-50/5 S: (2-)9-16-25-33-60-61-623		4 6
601-020-00-8	Benzol	E	200-753-7	71-43-2	F; R11 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46 T; R48/23/24/25	F; T R: 45-46-11-36/38-48/23/24/25-65 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
					Xn; R65 Xi; R36/38			
601-021-00-3	Toluol		203-625-9	108-88-3	F; R11 Repr.Cat.3; R63 Xn; R48/20-65 Xi; R38 R67	F; Xn R: 11-38-48/20-63-65-67 S: (2-)36/37-62-46		4, 6
601-025-00-5	Mesitylen 1,3,5-Trimethylbenzol		203-604-4	108-67-8	R10 Xi; R37 N; R51-53	Xi; N R: 10-37-51/53 S: (2-)61	C ≥ 25 %: Xi, N; R37-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: R52/53	
601-027-00-6	2-Phenylpropen		202-705-0	98-83-9	R10 Xi; R36/37 N; R51-53	Xi; N R: 10-36/37-51/53 S: (2-)61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: R52/53	
601-028-00-1	2-Methylstyrol		210-256-7	611-15-4	Xn; R20 N; R51-53	Xn; N R: 20-51/53 S: (2-)24-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: R52/53	
601-032-00-3	Benzo[*def*]chrysen Benzo[*a*]pyren		200-028-5	50-32-8	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 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	n-Hexan		203-777-6	110-54-3	F; R11 Repr. Cat. 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	Dibenz[*a*,*h*]anthracen		200-181-8	53-70-3	Carc. Cat. 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	Carc. Cat. 2; R45	T; N		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
					Muta. Cat. 3; R68 N; R50-53	R: 45-68-50/53 S: 53-45-60-61		
601-052-00-2	Naphthalin		202-049-5	91-20-3	Carc. Cat.3; R40 Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-40-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
601-053-00-8	Nonylphenol [1] 4-Nonyl-,Phenol, verzweigt [2]		246-672-0 [1] 284-325-5 [2]	25154-52-3 [1] 84852-15-3 [2]	Repr.Cat.3; R62 Repr.Cat.3; R63 Xn; R22 C; R34 N; R50-53	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	Kohlenstofftetrachlorid Tetrachlormethan		200-262-8	56-23-5	Carc. Cat. 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	1,2-Dibromethan Ethylendibromid	E	203-444-5	106-93-4	Carc. Cat. 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	Carc.Cat.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-	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R23/24 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21	
602-016-00-9	1,1,2,2-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	Carc. Cat. 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-Brompropan Propylbromid Propylbromid		203-445-0	106-94-5	F; R11 Rep. Cat. 2; R60 Rep. Cat. 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 Dichlorethylen	D	200-864-0	75-35-4	F; R12 Carc.Cat.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-Dichlorethylen [1] *cis*-Dichlorethylen [2] *trans*-Dichlorethylen [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-Chlorpropen Allylchlorid	D	203-457-6	107-05-1	F; R11 Carc.Cat.3; R40 Muta.Cat.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	Chlorbenzol		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-Dichlorbenzol *o*-Dichlorbenzol		202-425-9	95-50-1	Xn; R22 Xi; R36/37/38	Xn; N R: 22-36/37/38-50/53	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-36/37/38-50/53	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
					N; R50-53	S: (2-)23-60-61	20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-36/37/38-51/53 5 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R22-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53	
602-035-00-2	1,4-Dichlorbenzol *p*-Dichlorbenzol		203-400-5	106-46-7	Xi; R36 Carc. Cat. 3; R40 N; R50-53	Xn; N R: 36-40-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
602-036-00-8	2-Chlor-1,3-butadien Chloropren	D E	204-818-0	126-99-8	F; R11 Carc. Cat. 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	Polychlorierte Biphenyle PCB	C	215-648-1	1336-36-3	R33 N; R50-53	Xn; N R: 33-50/53 S: (2-)35-60-61	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	Lindan γ-1,2,3,4,5,6-Hexachlor-cyclohexan		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-)36/37-45-60-61	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	Carc. Cat. 2; R45 Repr. Cat. 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	Carc. Cat. 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	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R45-23-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: T; R45-20-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-20 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
603-006-00-7	Pentanolisomere, mit Ausnahme der in diesem Anhang anderweitig aufgeführten	C	250-378-8	30899-19-5	R10 Xn; R20 Xi; R37 R66	Xn R: 10-20-37-66 S: (2-)46		
603-007-00-2	2-Methylbutanol-2 tert-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	2,2'-Dichlor-diethylether		203-870-1	111-44-4	R10 Carc.Cat.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-Amino-ethanol 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-Dimethoxy-ethan Dimethylglykol		203-794-9	110-71-4	Repr.Cat.2; R60 Repr.Cat.2; R61 F; R11 R19 Xn; R20	F; T R: 60-61-11-19-20 S: 53-45		
603-054-00-9	Di-n-butylether		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	E	209-128-3	556-52-5	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 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-Epoxyethyl-3,4-epoxycyclohexan Vinylcyclohexan-diepoxid		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	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
603-067-00-X	Phenylglycidylether 1,2-Epoxy-3-phenoxypropan	E	204-557-2	122-60-1	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20 Xi; R37/38 R43 R52-53	T R: 45-20-37/38-43-68-52/53 S: 53-45-61		
603-070-00-6	2-Amino-2-methylpropanol		204-709-8	124-68-5	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	Reaktionsprodukt: Bisphenol-A-Epichlorhydrinharze mit durchschnittlichem Molekulargewicht ≤ 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-in-1,4-diol 2-Butin-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, C; 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-(Propyloxy)ethanol n-Propylglykol		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 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 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	Phenol		203-632-7	108-95-2	Muta.Cat.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	Pyrogallol		201-762-9	87-66-1	Muta. Cat. 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	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							1 % ≤ C < 10 %: Xn; R68	
604-010-00-1	Resorcin 1,3-Dihydroxybenzol		203-585-2	108-46-3	Xn; R22 Xi; R36/38 N; R50	Xn; N R: 22-36/38-50 S: (2-)26-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-36/38-50 20 % ≤ C < 25 %: Xn; R22-36/38 10 % ≤ C < 20 %: Xn; R22	
604-012-00-2	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-Tetrachlorphenol		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	Chlorkresol 4-Chlor-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	2,2'-Methylen-bis-(3,4,6-trichlorphenol) Hexachlorophen		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-Trichlorphenol		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	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							5 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R36/38-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53	
604-030-00-0	Bisphenol A 4,4'-Isopropylidendiphenol		201-245-8	80-05-7	Repr. Cat. 3; R62 Xi; R37-41 R43	Xn 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.Cat.3; R63 Xi; R37	F; Xn R: 11-37-63 S: (2-)36/37-46		
605-016-00-7	Glyoxal...%	B	203-474-9	107-22-2	Muta. Cat. 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	Safrol 5-Allyl-1,3-benzodioxol	E	202-345-4	94-59-7	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Xn; R22	T R: 45-22-68 S: 53-45		
605-022-00-X	Glutaral 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	Chloracetaldehyd		203-472-8	107-20-0	Carc. Cat. 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)		256-103-8	43121-43-3	Xn; R22	Xn; N		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	1-(4-Chlorphenoxy)-3,3-dimethyl-1-(1,2,4-triazol-1-yl)butanon				R43 N; R51-53	R: 22-43-51/53 S: (2-)24-37-61		
606-048-00-4	2'-Anilino-3'-methyl-6'-dipentylaminospiro(isobenzofuran-1(1*H*),9'-xanthen)-3-on		406-480-1	-	R53	R: 53 S: 61		
607-004-00-7	Trichloressigsäure		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-chlorformiat		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	Mecoprop (ISO) und seine Salze 2-(4-Chlor-*o*-tolyloxy) propionsäure (*RS*)-2-(4-Chlor-*o*-tolyloxy) propionsäure [1] 2-(4-Chlor-2-methylphenoxy)propionsäure [2]		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-)13-26-37/39-60-61	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-o-tolyloxy) buttersäure		202-365-3	94-81-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-061-00-8	Acrylsäure	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	Benzylchlorformiat		207-925-0	501-53-1	C; R34	C; N	C ≥ 25 %: C, N; R34-50/53	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
					N; R50-53	R: 34-50/53 S: (1/2-)26-45-60-61	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	
607-072-00-8	2-Hydroxyethylacrylat	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	C ≥ 25 %: 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	Diallylphthalat		205-016-3	131-17-9	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)24/25-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53	
607-091-00-1	Trifluoressigsäure . . . %	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 ≥ 25 %: 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	Peressigsäure . . . %		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 ≥ 25 %: 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-Ethylhexylacrylat	D	203-080-7	103-11-7	Xi; R37/38 R43	Xi R: 37/38-43 S: (2-)36/37-46		
607-113-00-X	Isobutylmethacrylat	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 ≥ 25 %: Xi, N; R36/37/38-43-50 20 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/37/38-43 1 % ≤ C < 20 %: Xi; R43	
607-116-00-6	Cyclohexylacrylat	D	221-319-3	3066-71-5	Xi; R37/38 N; R51-53	Xi; N R: 37/38-51/53 S: (2-)61	C ≥ 25 %: Xi, N; R37/38-51/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi; R37/38-52/53 2,5 % ≤ C < 10 %: R52/53	
607-133-00-9	Monoalkyl- oder Monoaryl- oder Monoalkylarylester der Acrylsäure mit Ausnahme der namentlich in diesem Anhang	A	-	-	Xi; R36/37/38 N; R51-53	Xi; N R: 36/37/38-51/53 S: (2-)26-28-61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37/38-51/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/37/38-52/53	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	bezeichneten						2,5 % ≤ C < 10 %: R52/53	
607-151-00-7	Propargit (ISO) 2-(4-*tert*-Butylphenoxy) cyclohexylprop-2-ynylsulfit		219-006-1	2312-35-8	Carc.Cat.3; R40 T; R23 Xi; R38-41 N; R50-53	T; N R: 23-38-40-41-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23-38-40-41-50-53 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	Trimethylendiamintetraessigsäure		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	Isooctylacrylat		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	*tert*-Butylacrylat	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	Dodecylmethacrylat		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	(1-Methyl-1,2-ethandiyl)bis[oxy(methyl-2,1-ethandiyl)]diacrylat		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	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43	
608-003-00-4	Acrylnitril	D E	203-466-5	107-13-1	F; R11 Carc. Cat. 2; R45 T; R23/24/25 Xi; R37/38-41 R43 N; R51-53	F; T; N R: 45-11-23/24/25-37/38-41-43-51/53 S: 9-16-53-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R45-23/24/25-37/38-41-43-51/53 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	
608-006-00-0	Bromoxynil (ISO) 3,5-Dibrom-4-hydroxybenzonitril		216-882-7	1689-84-5	Repr. Cat. 3; R63 T+; R26 T; R25 R43 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	
608-007-00-6	Ioxynil (ISO) 4-Hydroxy-3,5-diiodbenzonitril		216-881-1	1689-83-4	Repr. Cat. 3; R63 T; R23/25 Xn; R21-48/22 Xi; R36 N; R50-53	T; N R: 21-23/25-36-48/22-63-50/53 S: (1/2-)36/37-45-60-61-63	C ≥ 25 %: T, N; R21-23/25-36-48/22-63-50-53 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20/22-36-48/22-63-50-53 10 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R20/22-48/22-63-50-53 5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/22-63-50-53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R20/22-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
608-010-00-2	Methacrylonitril 2-Methyl-2-propennitril	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	
608-014-00-4	Chlorthalonil (ISO) Tetrachlorisophthalonitril		217-588-1	1897-45-6	Carc. Cat. 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	Bromoxyniloctanoat (ISO) 2,6-Dibrom-4-cyanphenyloctanoat		216-885-3	1689-99-2	Repr. Cat. 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	C ≥ 25 %: 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 %: 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	
608-018-00-6	Ioxyniloctanoat (ISO) 4-Cyan-2,6-diiodophenyloctanoat		223-375-4	3861-47-0	Repr. Cat. 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-(Diaminomethylenamino)thiazol-		403-710-2	76823-93-3	Xn; R22 R43	Xn R: 22-43		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	4-ylmethylthio)propiononitril					S: (2-)22-24-37		
609-007-00-9	2,4-Dinitrotoluol Dinitrotoluol, technisch [1] Dinitrotoluol [2]	E	204-450-0 [1] 246-836-1 [2]	121-14-2 [1] 25321-14-6 [2]	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 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		
609-023-00-6	Dinocap (ISO)	E	254-408-0	39300-45-3	Repr. Cat. 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	Quintozen (ISO) Pentachlornitrobenzol		201-435-0	82-68-8	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)13-24-37-60-61		
609-049-00-8	2,6-Dinitrotoluol	E	210-106-0	606-20-2	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 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		
609-050-00-3	2,3-Dinitrotoluol	E	210-013-5	602-01-7	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 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	3,4-Dinitrotoluol	E	210-222-1	610-39-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 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-Dinitrotoluol	E	210-566-2	618-85-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 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-Dinitrotoluol	E	210-581-4	619-15-8	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62	T; N R: 45-23/24/25-48/22-62-68-51/53		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
					T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R51-53	S: 53-45-61		
609-056-00-6	2,2-Dibrom-2-nitroethanol		412-380-9	69094-18-4	E; R2 Carc. Cat. 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-)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-nitrobenzol		202-809-6	100-00-5	Carc.Cat.3;R40 Mut.Cat.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	Azobenzol	E	203-102-5	103-33-3	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 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	Gemisch aus: Natrium-5-[8-[4-[4-[4-[7-(3,5-dicarboxylatophenylazo)-8-hydroxy-3,6-disulfonatonaphthalin-1-ylamino]-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-disulfonatonaphthalin-2-ylazo]-isophtalat; Ammonium-5-[8-[4-[4-[4-[7-(3,5-dicarboxylatophenylazo)-8-hydroxy-3,6-disulfonatonaphthalin-1-ylamino]-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-disulfonatonaphthalin-2-ylazo]-isophtalat; 5-[8-[4-[4-[4-[7-(3,5-Dicarboxylat-phenylazo)-8-hydroxy-3,6-		413-180-4	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	disulfonatonaphthalin-1-ylamino]-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-disulfonatonaphthalin-2-ylazo]-isophthalsäure							
611-063-00-4	Trinatrium-[4'-(8-acetylamino-3,6-disulfonato-2-naphthylazo)-4"-(6-benzoylamino-3-sulfonato-2-naphthylazo)-biphenyl-1,3',3",1"'-tetraolato-*O*,*O*',*O*",*O*"']kupfer(II)		413-590-3	164058-22-4	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
612-008-00-7	Anilin		200-539-3	62-53-3	Carc. Cat. 3; R40 Muta.Cat.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	Salze von Anilin	A	-	-	Carc. Cat. 3; R40 Muta. Cat. 3; R68 T; R23/24/25 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	Chloraniline (mit Ausnahme der namentlich in diesem Anhang bezeichneten)	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	2-Naphthylamin	E	202-080-4	91-59-8	Carc. Cat. 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	Phenylhydrazin [1] Phenylhydraziniumchlorid [2] Phenylhydrazinhydrochlorid	E	202-873-5 [1] 200-444-7 [2] 248-259-0	100-63-0 [1] 59-88-1 [2] 27140-08-5 [3] 52033-74-6	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 T; R23/24/25-48/23/24/25 Xi; R36/38	T; N R: 45-23/24/25-36/38-43-48/23/24/25-68-50 S: 53-45-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	[3] Phenylhydraziniumsulfat (2:1) [4]		[3] 257-622-2 [4]	[4]	R43 N; R50			
612-025-00-X	Nitrotoluidin	C	-	-	T; R23/24/25 R33 N; R51-53	T; N R: 23/24/25-33-51/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61		
612-035-00-4	2-Methoxy-anilin *o*-Anisidin	E	201-963-1	90-04-0	Carc. Cat. 2; R45 Muta Cat. 3; R68 T; R23/24/25	T R: 45-23/24/25-68 S: 53-45		
612-042-00-2	Benzidin 4,4'-Diaminobiphenyl	E	202-199-1	92-87-5	Carc. Cat. 1; R45 Xn; R22 N; R50-53	T; N R: 45-22-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: 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	4,4'-Diamino-diphenyl-methan	E	202-974-4	101-77-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 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 ≥ 25 %: 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 ≥ 25 %: T; R23/24/25-33-52-53 5 % ≤ C < 25 %: T; R23/24/25-33 1 % ≤ C < 5 %: Xn; R20/21/22-33	
612-059-00-5	3,6-Diazaoctan-1,8-diamin Triethylentetramin		203-950-6	112-24-3	Xn; R21 C; R34 R43 R52-53	C R: 21-34-43-52/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: 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-Triazaundecan-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 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: C, N; R21/22-34-43-51/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R34-43-52/53	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/38-43-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi; R43-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43	
612-064-00-2	3,6,9,12-Tetraazatetradecan-1,14-diamin Pentaethylenhexamin		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	Polyethylenpolyamine mit Ausnahme der namentlich in diesem Anhang bezeichneten		-	-	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 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	
612-066-00-3	Dicyclohexylamin		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-trimethylcyclohexylamin		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 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/38-43 1 % ≤ C < 5 %: Xi; R43	
612-077-00-3	Dimethylnitrosoamin	E	200-549-8	62-75-9	Carc. Cat. 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-	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							48/22-52/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T; R45-23-48/22-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23-48/22 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-20 0,001 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
612-086-00-2	Amitraz (ISO) *N,N*-Bis(2,4-xylyliminomethyl) methylamin		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	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		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)phenoxy-2-fluoranilinhydrochlorid		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	Amine, Polyethylenpoly-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*-Isopropyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylendiamin		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	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
612-151-00-5	Diaminotoluol, technisches Gemisch aus [2] und [3] [1] 4-Methyl-*m*-phenylendiamin [2] 2-Methyl-*m*-phenylendiamin [3]	E	246-910-3 [1] 202-453-1 [2] 212-513-9 [3]	25376-45-8 [1] 95-80-7 [2] 823-40-5 [3]	Carc. Cat. 2; R45 T; R25 Xn; R20/21 Xi; R36 R43 N; R51-53	T; N R: 45-20/21-25-36-43-51/53 S: 53-45-61		
613-009-00-5	2,4,6-Trichlor-1,3,5-triazin Cyanurchlorid		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-)26-28-36/37/39-45-46-63	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-ylamin		200-521-5	61-82-5	Repr.Cat.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	E	200-878-7	75-55-8	F; R11 Carc. Cat. 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	Azaconazol (ISO) 1-{[2-(2,4-Dichlorophenyl)-1,3-dioxolan-2-yl]methyl}-1*H*-1,2.4-triazol		262-102-3	60207-31-0	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)46		
613-043-00-0	Imazalilsulfat (ISO) pulver 1-[2-(Allyloxy)ethyl-2- (2,4-dichlorphenyl)]-1*H*-imidazoliumhydrogensulfat [1] (±)-1-[2-(Allyloxy)ethyl-2- (2,4-		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		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	dichlorphenyl)]-1H-imidazoliumhydrogensulfat [2]							
613-048-00-8	Carbendazim (ISO) Methylbenzimidazol-2-ylcarbamat		234-232-0	10605-21-7	Muta. Cat. 2; R46 Repr.Cat.2; R60-61 N; R50-53	T; N R: 46-60-61-50/53 S: 53-45-60-61		
613-049-00-3	Benomyl (ISO) Methyl-1-(butylcarbamoyl)benzimidazol-2-ylcarbamat		241-775-7	17804-35-2	Muta. Cat. 2; R46 Repr.Cat.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	
613-051-00-4	Molinat (ISO) *S*-Ethyl-1-perhydroazepinthioat		218-661-0	2212-67-1	Carc.Cat3; R40 Repr.Cat3; 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	
613-058-00-2	*m*-Phenoxybenzyl-3-(2,2-dichlorvinyl)-2,2-dimethylcyclopropancarboxylat Permethrin (ISO)		258-067-9	52645-53-1	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	
613-075-00-5	1,3-Dichlor-5-ethyl-5-methylimidazolidin-2,4-dion		401-570-7	89415-87-2	O; R8 T; R23 C; R34 Xn; R22 R43	O; T; N R: 8-22-23-34-43-50 S: (1/2-)8-26-36/37/39-45-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
					N; R50			
613-088-00-6	1,2-Benzisothiazol-3(2*H*)-on		220-120-9	2634-33-5	Xn; R22 Xi; R38-41 R43 N; R50	Xn; N R: 22-38-41-43-50 S: (2-)24-26-37/39-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-38-41-43-50 20 % ≤ C < 25 %: Xi; R38-41-43 10 % ≤ C < 20 %: Xi; R41-43 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36-43 0,05 % ≤ C < 5 %: Xi; R43	
613-112-00-5	2-Octyl-2*H*-isothiazol-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	Fenpropimorph cis-4-[3-(*p*-*tert*-butylphenyl)-2-methylpropyl]-2,6-dimethylmorpholin		266-719-9	67564-91-4	Repr. Cat. 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	4-Amino-3-methyl-6-phenyl-1,2,4-triazin-5-on		255-349-3	41394-05-2	Xn; R22 N; R50	Xn; N R: 22-50 S: (2-)61		
613-167-00-5	Gemisch aus: 5-Chlor-2-methyl-2*H*-isothiazol-3-on [EG nr. 247-500-7] und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on [EG nr. 220-239-6] (3:1)		-	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	(2*RS*,3*SR*)-3-(2-Chlorphenyl)-2-(4-fluorphenyl)-[(1*H*-1,2,4-		406-850-2	133855-98-8	Carc. Cat. 3; R40 Repr. Cat. 3; R62	Xn; N R: 40-62-63-51/53		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	triazol-1-yl)methyl]oxiran				Repr. Cat. 3; R63 N; R51-53	S: (2-)36/37-46-61		
615-001-00-7	Methylisocyanat		210-866-3	624-83-9	F+; R12 Repr.Cat.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	Salze von Rhodanwasserstoffsäure	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-*m*-phenylendiisocyanat 2,4-Diisocyanat-toluol [1] 4-Methyl-*m*-phenylendiisocyanat 2,6-Diisocyanat-toluol [2] *m*-Tolylidendiisocyanat [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]	Carc. Cat. 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-Isocyanatmethyl-3,5,5-trimethylcyclohexylisocyanat		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	1,7,7-Trimethylbicyclo(2,2,1)hept-2-ylthiocyanatoacetat		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-Chlor-2',6'-diethyl-*N*-(methoxymethyl)acetanilid		240-110-8	15972-60-8	Carc. Cat. 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-(4,4-Dimethyl-2,5-		402-260-4	-	R53			

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	dioxooxazolidin-1-yl)-2-chlor-5-(2-(2,4-di-tert-pentylphenoxy)butyramido)-4,4-dimethyl-3-oxovaleranilid					R: 53 S: 61		
617-002-00-8	α,α-Dimethylbenzylhydroperoxid Cumolhydroperoxyd		201-254-7	80-15-9	O; R7 T; R23 Xn; R21/22-48/20/22 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-naphthylhydroperoxid		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	Kreosotöl, Acenaphthen-Fraktion, Acenaphthen-frei Waschöl-Redestillat [HOl, das nach Entfernen von Acenaphthen aus Acenaphthenöl aus Kohlenteer durch ein Kristallisationsverfahren zurückbleibt. Besteht in erster Linie aus Naphthalin und Alkylnaphthalinen.]	H	292-606-9	90640-85-0	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-080-00-1	Rückstände (Kohlenteer), Kreosotöldestillation Waschöl-Redestillat [Rückstand aus der fraktionierten Destillation von Waschöl, siedet im ungefähren Bereich von 270°C bis 330°C. Besteht vorherrschend aus dinuklearen aromatischen und heterocyclischen Kohlenwasserstoffen.]	H	295-506-3	92061-93-3	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-098-00-X	Kreosotöl, Acenaphthen-Fraktion Waschöl [Komplexe Kombination von	H	292-605-3	90640-84-9	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Kohlenwasserstoffen, hergestellt durch Destillation von Kohlenteer und siedet im Bereich von etwa 240°C bis 280°C. Besteht in erster Linie aus Acenaphthen, Naphthalin und Alkylnaphthalinen.]							
648-099-00-5	Kreosotöl [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Destillation von Kohlenteer. Besteht in erster Linie aus aromatischen Kohlenwasserstoffen und kann beträchtliche Mengen von Teersäuren und Teerbasen enthalten. Destilliert im ungefähren Bereich von 200°C bis 325°C.]	H	263-047-8	61789-28-4	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-100-00-9	Kreosotöl, hochsiedendes Destillat Waschöl [Hochsiedender Destillationsbestandteil, erhalten aus der Hochtemperatur-Verkokung von Steinkohle, die weiter aufbereitet wird, um überschüssige kristalline Salze zu entfernen. Besteht in erster Linie aus Kreosotöl, aus dem einige der normalerweise vorkommenden polynuklearen aromatischen Salze, die Bestandteile von Kohlenteerdestillaten sind, entfernt sind. Ist bei etwa 5°C kristallfrei.]	H	274-565-9	70321-79-8	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-101-00-4	Kreosot [Kohlenteerdestillat aus der Hochtemperaturverkokung von Steinkohle. Besteht in erster Linie aus aromatischen Kohlenwasserstoffen, Teersäuren und Teerbasen.]	H	232-287-5	8001-58-9	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-102-00-X	Extraktrückstände (Kohle), Kreosotölsäure Waschölextrakt-Rückstand	H	310-189-4	122384-77-4	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	[Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der von der Basis-befreiten Fraktion aus der Destillation von Kohleteer, siedet im Bereich von ungefähr 250°C bis 280°C. Besteht vorherrschend aus biphenylen und isomerischen Diphenylnaphthalinen.]							
648-138-00-6	Kreosotöl, niedrigsiedendes Destillat Waschöl [Niedrigsiedender Destillationsbestandteil, erhalten aus der Hochtemperatur-Verkokung von Steinkohle, die weiter aufbereitet wird, um überschüssige kristalline Salze zu entfernen. Besteht in erster Linie aus Kreosotöl, aus dem einige der normalerweise vorkommenden polynuklearen aromatischen Salze, die Bestandteile von Kohlenteerdestillaten sind, entfernt sind. Ist bei etwa 38°C kristallfrei.]	H	274-566-4	70321-80-1	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-001-00-3	Extrakte (Erdöl), leichte naphthenhaltige Destillat-Lösungsmittel	H	265-102-1	64742-03-6	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-002-00-9	Extrakte (Erdöl), schwere paraffinhaltige Destillat-Lösungsmittel	H	265-103-7	64742-04-7	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-003-00-4	Extrakte (Erdöl), leichte paraffinhaltige Destillat-Lösungsmittel	H	265-104-2	64742-05-8	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-004-00-X	Extrakte (Erdöl), schwere naphthenhaltige Destillat-Lösungsmittel	H	265-111-0	64742-11-6	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-005-00-5	Extrakte (Erdöl), leichtes Vakuum Gasöl Lösungsmittel	H	295-341-7	91995-78-7	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-006-00-0	Kohlenwasserstoffe, C_{26-55}, Aromaten-reich	H	307-753-7	97722-04-8	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
						S: 53-45		
649-062-00-6	Gase (Erdöl), katalytisch gekrackte Naphtha Depropanisierer Kopf, C_3-reich Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Fraktionierung katalytisch gekrackter Kohlenwasserstoffe und behandelt, um säurehaltige Verunreinigungen zu entfernen. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_2 bis C_7, vorherrschend C_3.]	H K	270-755-0	68477-73-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-063-00-1	Gase (Erdöl), katalytische Kracker Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Destillation von Produkten aus einem katalytischen Krackverfahren. Besteht vorherrschend aus aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_6.]	H K	270-756-6	68477-74-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-064-00-7	Gase (Erdöl), katalytische Kracker, C_{1-5}-reich Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Destillation von Produkten aus einem katalytischen Krackverfahren. Besteht aus aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_1 bis C_6, vorherrschend C_1 bis C_5.]	H K	270-757-1	68477-75-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-065-00-2	Gase (Erdöl), katalytisch polymerisierte Naphtha Stabilisierer Kopf, C_{2-4}-reich Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der fraktionierten Stabilisierung katalytisch polymerisierter	H K	270-758-7	68477-76-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Naphtha. Besteht aus aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_2 bis C_6, vorherrschend C_2 bis C_4.]							
649-066-00-8	Gase (Erdöl), katalytische Reformer, C_{1-4}-reich Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Destillation von Produkten aus einem katalytischen Reformingverfahren. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_1 bis C_6, vorherrschend C_1 bis C_4.]	H K	270-760-8	68477-79-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-067-00-3	Gase (Erdöl), C_{4-5} olefinihaltige-paraffinhaltige Alkylierungsbeschickung Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von olefinhaltigen und paraffinhaltigen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_3 bis C_5, die für die Alkylierungsbeschickung gebraucht werden. Umgebungstemperaturen überschreiten normalweise die kritische Temperatur dieser Kombinationen.]	H K	270-765-5	68477-83-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-068-00-9	Gase (Erdöl), C_4-reich Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Distillation von Produkten aus einem katalytischen Fraktionierungsverfahren. Besteht aus aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_3 bis C_5, vorherrschend C_4.]	H K	270-767-6	68477-85-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-069-00-4	Gase (Erdöl), Deethanisierer	H K	270-768-1	68477-86-1	Carc. Cat. 1; R45	T		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Kopf Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Destillation der Gas- und Benzinfraktionen aus dem katalytischen Krackverfahren. Enthält vorherrschend Ethan und Ethylen.]				Muta. Cat. 2; R46	R: 45-46 S: 53-45		
649-070-00-X	Gase (Erdöl), Deisobutanisierer Turm Kopf Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der offenen Destillation eines Butan-Butylenlaufes. Besteht aus aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_3 bis C_4.]	H K	270-769-7	68477-87-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-071-00-5	Gase (Erdöl), Depropanisierer trocken, Propen-reich Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Destillation von Produkten aus den Gas- und Benzinfraktionen aus einem katalytischen Krackverfahren. Besteht vorherrschend aus Propylen mit etwas Ethan und Propan.]	H K	270-772-3	68477-90-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-072-00-0	Gase (Erdöl), Depropanisierer Kopf Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Destillation von Produkten aus den Gas- und Benzinfraktionen aus einem katalytischen Krackverfahren. Besteht aus aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_2 bis C_4.]	H K	270-773-9	68477-91-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-073-00-6	Gase (Erdöl), Gaswiedergewinnungsfabrik	H K	270-777-0	68477-94-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Depropanisierer Kopf Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Fraktionierung verschiedener Kohlenwasserstoffläufe. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_1 bis C_4, vorherrschend Propan.]					S: 53-45		
649-074-00-1	Gase (Erdöl), Girbatolanlage Beschickung Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, die zur Beschickung einer Girbatolanlage zur Entfernung von Schwefelwasserstoff gebraucht wird. Besteht aus aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_2 bis C_4.]	H K	270-778-6	68477-95-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-075-00-7	Gase (Erdöl), isomerisierte Naphthafraktionate, C_4-reich, Schwefelwasserstoff-frei Gase aus der Erdölverarbeitung	H K	270-782-8	68477-99-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-076-00-2	Endgas (Erdöl), katalytisch gekracktes aufgehelltes Öl und thermisch gekrackte Vakuumrückstandsfraktionierung Reflux Trommel Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Fraktionierung von katalytisch gekracktem aufgehelltem HOl und thermisch gekracktem Vakuumrückstand. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_6.]	H K	270-802-5	68478-21-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-077-00-8	Endgas (Erdöl), katalytisch gekrackte Naphtha Stabilisierung Absorber	H K	270-803-0	68478-22-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Stabilisierung katalytisch gekrackter Naphtha. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_6.]							
649-078-00-3	Endgas (Erdöl), katalytische Krack, katalytische Reformer und Hydrodesulfurierer kombinierte Fraktionator Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Fraktionierung von Produkten aus katalytischen Krack-, katalytischen Reforming- und Hydrodesulfurierungsverfahren, behandelt zum Entfernen säurehaltiger Verunreinigungen. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]	H K	270-804-6	68478-24-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-079-00-9	Endgas (Erdöl), katalytisch reformierte Naphtha Fraktionierung Stabilisator Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der fraktionierten Stabilisierung katalytisch reformierter Naphtha. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4.]	H K	270-806-7	68478-26-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-080-00-4	Abgas (Erdöl), gesättigter Gasanlage Mischungsstrom, C_4-reich Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen erhalten aus Fraktionsstabilisation von straight-run Naphtha, Destillation von Abgas und katalytisch	H K	270-813-5	68478-32-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	reformiertem Naphthastabilisiertem Abgas. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_3 bis C_6, vorherrschend Butan und Isobutan.]							
649-081-00-X	Abgas (Erdöl), gesättigte Gaswiedergewinnungsanlage, C_{1-2}-reich Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen erhalten aus Fraktionieren von destilliertem Abgas, straight-run Naphtha, katalytisch reformiertem Naphthastabilisiertem Abgas. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_1 bis C_5, vorherrschend Methan und Ethan.]	H K	270-814-0	68478-33-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-082-00-5	Endgas (Erdöl), Vakuumrückstände thermischer Kracker Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus thermischen Kracken von Vakuumrückständen. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]	H K	270-815-6	68478-34-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-083-00-0	Kohlenwasserstoffe, C_{3-4}-reich, Erdöldestillat Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, hergestellt durch Destillation und Kondensation von Rohöl. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_3 bis C_5, vorherrschend C_3 bios C_4.]	H K	270-990-9	68512-91-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-084-00-6	Gase (Erdöl), gesamte straight-run Naphtha Dehexanisierer Ab-Gase aus der Erdölverarbeitung	H K	271-000-8	68513-15-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	[Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Fraktionierung der gesamten straight-run Naphtha. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_2 bis C_6.]							
649-085-00-1	Gase (Erdöl), Hydrokracken Depropanisierer Ab-, Kohlenwasserstoff-reich Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, hergestellt durch Destillation von Produkten aus einem Hydrokrackverfahren. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4. Kann auch geringe Mengen Wasserstoff und Schwefelwasserstoff enthalten.]	H K	271-001-3	68513-16-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-086-00-7	Gase (Erdöl), leichte straight-run Naphtha Stabilisierer Ab- Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Stabilisierung leichter straight-run Naphtha. Besteht aus gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_2 bis C_6.]	H K	271-002-9	68513-17-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-087-00-2	Rückstände (Erdöl), Alkylierung Splitter, C_4-reich Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexer Rückstand aus der Destillation von Läufen aus verschiedenen Raffinerievorgängen. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_4 bis C_5, vorherrschend aus Butan, und siedet im Bereich von etwa -11,7°C bis 27,8°C.]	H K	271-010-2	68513-66-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
649-088-00-8	Kohlenwasserstoffe, C_{1-4}- Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, hergestellt durch thermische Krack- und Absorbervorgänge und durch Destillation von Rohöl. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4 und siedet im Bereich von etwa -164°C bis -0,5°C.]	H K	271-032-2	68514-31-8	Carc. Cat 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-089-00-3	Kohlenwasserstoffe, C_{1-4}-, gesüßt Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Aussetzen von Kohlenwasserstoffgasen einem Süßungsverfahren zur Konvertierung von Mercaptanen oder zum Entfernen säurehaltiger Verschmutzungen. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4 und siedet im Bereich von etwa -164°C bis -0,5°C.]	H K	271-038-5	68514-36-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-090-00-9	Kohlenwasserstoffe, C_{1-3}- Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_3 und siedet im Bereich von etwa -164°C bis -42°C.]	H K	271-259-7	68527-16-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-091-00-4	Kohlenwasserstoffe, C_{1-4}, Debutaniererfraktion Gase aus der Erdölverarbeitung	H K	271-261-8	68527-19-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-092-00-X	Gase (Erdöl), C_{1-5}-, naß Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, hergestellt durch Destillation von Rohöl und/oder durch Kracken von Turmgasöl. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit	H K	271-624-0	68602-83-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]							
649-093-00-5	Kohlenwasserstoffe, C_{2-4}- Gase aus der Erdölverarbeitung	H K	271-734-9	68606-25-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-094-00-0	Kohlenwasserstoffe, C_3- Gase aus der Erdölverarbeitung	H K	271-735-4	68606-26-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-095-00-6	Gase (Erdöl), Alkylierung Beschickung Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, hergestellt durch katalytisches Kracken von Gasöl. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_3 bis C_4.]	H K	271-737-5	68606-27-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-096-00-1	Gase (Erdöl), Entpropanisierer Boden-Fraktionen Ab- Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten aus der Fraktionierung von Entpropanisierer-Bodenprodukten. Besteht vorherrschend aus Butan, Isobutan und Butadien.]	H K	271-742-2	68606-34-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-097-00-7	Gase (Erdöl), Raffinerieverschnitt Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination, erhalten aus verschiedenen Raffinerieverfahren. Besteht aus Wasserstoff, Schwefelwasserstoff und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]	H K	272-183-7	68783-07-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-098-00-2	Gase (Erdöl), katalytisches Kracken Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, hergestellt durch Destillation von Produkten aus einem katalytischen Krackverfahren. Besteht	H K	272-203-4	68783-64-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_3 bis C_5.]							
649-099-00-8	Gase (Erdöl), C_{2-4}-, gesüßt Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Aussetzen eines Erdöldestillates einem Süßungsverfahren zur Konvertierung von Mercaptanen oder zum Entfernen saurer Verunreinigungen. Besteht vorherrschend aus gesättigten und ungesättigten Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_2 bis C_4 und siedet im Bereich von etwa -51 °C bis -34 °C.]	H K	272-205-5	68783-65-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-100-00-1	Gase (Erdöl), Rohöl Fraktionierung Ab- Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Fraktionierung von Rohöl. Besteht aus gesättigtem aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]	H K	272-871-7	68918-99-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-101-00-7	Gase (Erdöl), Enthexanisierer Ab- Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Fraktionierung von kombinierten Naphthaläufen. Besteht aus gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]	H K	272-872-2	68919-00-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-102-00-2	Gase (Erdöl), leichte straight-run Benzin Fraktionierung	H K	272-878-5	68919-05-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Stabilisierer Ab- Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Fraktionierung leichten straight-run Benzins. Besteht aus gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]					S: 53-45		
649-103-00-8	Gase (Erdöl), Naphtha Unifiner Desulfurierung Stripper Ab- Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, hergestellt in einem Naphtha Unifiner Desulfurierungsverfahren und gestrippt aus dem Naphthaprodukt. Besteht aus gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4.]	H K	272-879-0	68919-06-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-104-00-3	Gase (Erdöl), straight-run Naphtha katalytisches Reformieren Ab- Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch katalytisches Reformieren von straight-run Naphtha und Fraktionieren des gesamten Ausflusses. Besteht aus Methan, Ethan und Propan.]	H K	272-882-7	68919-09-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-105-00-9	Gase (Erdöl), Fließbettkracker Spalter Kopfbestandteile Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, hergestellt durch Fraktionierung der Charge zum C_3 -C_4-Spalter. Besteht vorherrschend aus C_3-Kohlenwasserstoffen.]	H K	272-893-7	68919-20-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-106-00-4	Gase (Erdöl), straight-run Stabilisator Ab- Gase aus der Erdölverarbeitung	H K	272-883-2	68919-10-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	[Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Fraktionierung der Flüssigkeit aus dem ersten Turm in der Destillation von Rohöl. Besteht aus gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4.]							
649-107-00-X	Gase (Erdöl), katalytisch gekrackte Naphtha Debutanisierer Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Fraktionisierung katalytisch gekrackter Naphtha. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4.]	H K	273-169-3	68952-76-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-108-00-5	Endgas (Erdöl), katalytisch gekracktes Destillat und Naphtha Stabilisator Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Fraktionierung katalytisch gekrackter Naphtha und Destillat. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4.]	H K	273-170-9	68952-77-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-109-00-0	Endgas (Erdöl), thermisch gekracktes Destillat, Gasöl und Naphtha Absorber Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten aus der Trennung von thermisch gekrackten Destillaten, Naphtha und Gasöl. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_6.]	H K	273-175-6	68952-81-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-110-00-6	Endgas (Erdöl), thermisch	H K	273-176-1	68952-82-9	Carc. Cat. 1; R45	T		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	gekrackter Kohlenwasserstoff-Fraktion Stabilisator, Erdöl-Verkokung Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch fraktionierte Stabilisierung von thermisch gekrackten Kohlenwasserstoffen aus dem Erdöl-Verkokungsverfahren. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_6.]				Muta. Cat. 2; R46	R: 45-46 S: 53-45		
649-111-00-1	Gase (Erdöl), leichte Dampf-gekrackte, Butadienkonzentrat Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, hergestellt durch Destillation von Produkten aus einem thermischen Krackverfahren. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit einer Kohlenstoffzahl vorherrschend von C_4.]	H K	273-265-5	68955-28-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-112-00-7	Gase (Erdöl), straight-run Naphtha katalytisch Reformer Stabilisator Kopf Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch katalytisches Reformieren von straight-run Naphtha und Fraktionieren des gesamten Ausflusses. Besteht aus gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_2 bis C_4.]	H K	273-270-2	68955-34-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-113-00-2	Kohlenwasserstoffe, C_4- Gase aus Erdölverarbeitung	H K	289-339-5	87741-01-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-114-00-8	Alkane, C_{1-4}-, C_3-reich Gase aus der Erdölverarbeitung	H K	292-456-4	90622-55-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-115-00-3	Gase (Erdöl), Dampfkracker C_3-	H K	295-404-9	92045-22-2	Carc. Cat. 1; R45	T		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	reich Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, hergestellt durch Destillation von Produkten aus einem Dampfkrackverfahren. Besteht vorherrschend aus Propylen mit etwas Propan und siedet im Bereich von etwa -70°C bis 0°C.]				Muta. Cat. 2; R46	R: 45-46 S: 53-45		
649-116-00-9	Kohlenwasserstoffe, C_4-, Dampfkracker Destillat Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, hergestellt durch Destillation der Produkte aus einem Dampfkrackverfahren. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit einer Kohlenstoffzahl von C_4, vorherrschend 1-Buten und 2-Buten. Enthält auch Butan und Isobuten und siedet im Bereich von etwa -12°C bis 5°C.]	H K	295-405-4	92045-23-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-117-00-4	Erdölgase, verflüssigt, gesüßt, C_4-Fraktion Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, die man erhält, wenn man ein verflüssigtes Erdölgasgemisch einem Süßungsverfahren zur Oxidation von Mercaptanen oder zum Entfernen saurer Verunreinigungen aussetzt. Besteht vorherrschend aus C_4-gesättigten und ungesättigten Kohlenwasserstoffen.]	HKS	295-463-0	92045-80-2	F+; R12 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	F+; T R: 12-45-46 S: 53-45		
649-119-00-5	Raffinate (Erdöl), Dampfgekrackte C_4-Fraktion, Kupferammoniakacetat-Extraktion, C_{3-5}- und C_{3-5}-ungesättigt, Butadien-frei Gase aus der Erdölverarbeitung	H K	307-769-4	97722-19-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-120-00-0	Gase (Erdöl), Aminsystem Beschickung	H K	270-746-1	68477-65-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Raffineriegas [Gas, mit dem das Aminsystem zur Entfernung von Schwefelwasserstoff beschickt wird. Besteht aus Wasserstoff. Kohlenmonoxid, Kohlendioxid, Schwefelwasserstoff und aliphatische Kohlenwasserstoffe mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5 können auch vorhanden sein.]					S: 53-45		
649-121-00-6	Gase (Erdöl), Benzolanlage Hydrodesulfurierer Ab-Raffineriegas [Abgase, hergestellt durch die Benzolanlage. Besteht in erster Linie aus Wasserstoff. Kohlenmonoxid und Kohlenwasserstoffe mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_6, einschließlich Benzol, können auch anwesend sein.]	H K	270-747-7	68477-66-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-122-00-1	Gase (Erdöl), Benzolanlage Recycling, Wasserstoff-reich Raffineriegas [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Recycling der Gase der Benzolanlage. Besteht in erster Linie aus Wasserstoff mit verschiedenen geringen Mengen Kohlenmonoxid und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_1 bis C_6.]	H K	270-748-2	68477-67-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-123-00-7	Gase (Erdöl), Verschnittöl, Wasserstoff-Stickstoff-reich Raffineriegas [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Destillation eines Verschnittöles. Besteht in erster Linie aus Wasserstoff und Stickstoff mit verschiedenen geringen Mengen	H K	270-749-8	68477-68-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Kohlenmonoxid, Kohlendioxid und aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]							
649-124-00-2	Gase (Erdöl), katalytisch reformierte Naphtha Stripper Kopf Raffineriegas [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Stabilisierung katalytisch reformierter Naphtha. Besteht aus Wasserstoff und gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4.]	H K	270-759-2	68477-77-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-125-00-8	Gase (Erdöl), C_{6-8} katalytische Reformer Recycle Raffineriegas [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Destillation von Produkten aus katalytischem Reforming von C_6 bis C_8-Beschickung und recycled zur Erhaltung von Wasserstoff. Besteht in erster Linie aus Wasserstoff. Kann auch verschiedene geringe Mengen Kohlenmonoxid, Kohlendioxid, Stickstoff und Kohlenwasserstoffe mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_3 bis C_6 enthalten.]	H K	270-761-3	68477-80-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-126-00-3	Gase (Erdöl), C_{6-8} Katalytische Reformer Raffineriegas [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Destillation von Produkten aus katalytischem Reforming von C_6-C_8-Beschickung. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_1 bis C_5 und Wasserstoff.]	H K	270-762-9	68477-81-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
649-127-00-9	Gase (Erdöl), C_{6-8}durch katalytisch reformiertes Recycling, wasserstoffreich Raffineriegas	H K	270-763-4	68477-82-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-128-00-4	Gase (Erdöl), C_2-Rücklauf Raffineriegas [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Extraktion von Wasserstoff aus einem Gaslauf, der in erster Linie aus Wasserstoff mit geringen Mengen Stickstoff, Kohlenmonoxid, Methan, Ethan und Ethylen besteht. Enthält vorherrschend Kohlenwasserstoffe wie Methan, Ethan und Ethylen mit geringen Mengen Wasserstoff, Stickstoff und Kohlenmonoxid.]	H K	270-766-0	68477-84-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-129-00-X	Gase (Erdöl), trocken sauer, Gaskonzentrationsanlage-Ab-Raffineriegas [Komplexe Kombination von trockenen Gasen aus einer Gaskonzentrationsanlage. Besteht aus Wasserstoff, Schwefelwasserstoff und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_3.]	H K	270-774-4	68477-92-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-130-00-5	Gase (Erdöl), Gaskonzentration Reabsorber Destillation Raffineriegas [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Destillation von Produkten aus kombinierten Gasläufen in einem Gaskonzentrationsreabsorber. Besteht vorherrschend aus Wasserstoff, Kohlenmonoxid, Kohlendioxid, Stickstoff, Schwefelwasserstoff und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_1 bis C_3.]	H K	270-776-5	68477-93-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
649-131-00-0	Gase (Erdöl), Wasserstoff Absorber Ab-Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten durch Wasserstoffabsorption aus einem wasserstoffreichen Lauf. Besteht aus Wasserstoff, Kohlenmonoxid, Stickstoff und Methan mit geringen Mengen von C_2-Kohlenwasserstoffen.]	H K	270-779-1	68477-96-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-132-00-6	Gase (Erdöl), Wasserstoff-reich Raffineriegas [Komplexe Kombination, durch Kühlen als Gas aus Kohlenwasserstoffgasen abgetrennt. Besteht in erster Linie aus Wasserstoff mit verschiedenen geringen Mengen Kohlenmonoxid, Stickstoff, Methan and C_2-Kohlenwasserstoffen.]	H K	270-780-7	68477-97-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-133-00-1	Gase (Erdöl), Wasserstoffbehandlungs-Verschnittöl Recycle, Wasserstoff-Stickstoff-reich Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten aus Recycling von mit Wasserstoff behandeltem Verschnittöl. Besteht in erster Linie aus Wasserstoff und Stickstoff mit verschiedenen geringen Mengen Kohlenmonoxid, Kohlendioxid und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]	H K	270-781-2	68477-98-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-134-00-7	Gase (Erdöl), Recycle, Wasserstoff-reich Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten aus Recycling von Reaktorgasen. Besteht in erster Linie aus Wasserstoff mit verschiedenen geringen Mengen Kohlenmonoxid, Kohlendioxid,	H K	270-783-3	68478-00-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Stickstoff, Schwefelwasserstoff und gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_1 bis C_5.]							
649-135-00-2	Gase (Erdöl), Reformer Zusammensetzung, Wasserstoff-reich, Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten aus den Reformern. Besteht in erster Linie aus Wasserstoff mit verschiedenen geringen Mengen Kohlenmonoxid und aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]	H K	270-784-9	68478-01-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-136-00-8	Gase (Erdöl), Reforming Wasserstoffbehandler Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten aus dem Reforming-Wasserstoffbehandlungsverfahren. Besteht in erster Linie aus Wasserstoff, Methan und Ethan mit verschiedenen geringen Mengen Schwefelwasserstoff und aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_3 bis C_5.]	H K	270-785-4	68478-02-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-137-00-3	Gase (Erdöl), Reforming Wasserstoffbehandler, Wasserstoff-Methan-reich Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten aus dem Reforming-Wasserstoffbehandlungsverfahren. Besteht in erster Linie aus Wasserstoff und Methan mit verschiedenen geringen Mengen Kohlenmonoxid, Kohlendioxid, Stickstoff und gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend	H K	270-787-5	68478-03-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	im Bereich von C_2 bis C_5.]							
649-138-00-9	Gase (Erdöl), Reforming Wasserstoffbehandler Zusammensetzung, Wasserstoff-reich Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten aus dem Reforming-Wasserstoffbehandlungsverfahren . Besteht in erster Linie aus Wasserstoff mit verschiedenen geringen Mengen Kohlenmonoxid und aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]	H K	270-788-0	68478-04-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-139-00-4	Gase (Erdöl), thermisches Kracken Destillation Raffineriegas [Komplexe Kombination, hergestellt durch Destillation von Produkten aus einem thermischen Krackverfahren. Besteht aus Wasserstoff, Schwefelwasserstoff, Kohlenmonoxid, Kohlendioxid und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_6.]	H K	270-789-6	68478-05-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-140-00-X	Endgas (Erdöl), katalytische Krack Refraktionierung Absorber Raffineriegas [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Refraktionierung von Produkten aus einem katalytischen Krackverfahren. Besteht aus Wasserstoff und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_3.]	H K	270-805-1	68478-25-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-141-00-5	Endgas (Erdöl), katalytisch reformierte Naphtha Separator Raffineriegas [Komplexe Kombination von	H K	270-807-2	68478-27-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Kohlenwasserstoffen aus katalytischem Reformieren von straight-run Naphtha. Besteht aus Wasserstoff und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_6.]							
649-142-00-0	Endgas (Erdöl), katalytisch reformierte Naphtha Stabilisator Raffineriegas [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Stabilisierung katalytisch reformierter Naphtha. Besteht vorherrschend aus Wasserstoff und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_6.]	H K	270-808-8	68478-28-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-143-00-6	Endgas (Erdöl), gekracktes Destillat Wasserstoffbehandler Separator Raffineriegas [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Behandeln gekrackter Destillate mit Wasserstoff in Gegenwart eines Katalysators. Besteht aus Wasserstoff und gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]	H K	270-809-3	68478-29-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-144-00-1	Endgas (Erdöl), hydrodesulfurierte straight-run Naphtha Separator Raffineriegas [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Hydrodesulfurierung von straight-run Naphtha. Besteht aus Wasserstoff und gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_6.]	H K	270-810-9	68478-30-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-145-00-7	Gase (Erdöl), katalytisch	H K	270-999-8	68513-14-4	Carc. Cat. 1; R45	T		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	reformierte straight-run Naphtha Stabilisierer Kopf Raffineriegas [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten aus katalytischem Reforming von straight-run Naphtha, gefolgt durch Fraktionierung des gesamten Ausflusses. Besteht aus Wasserstoff, Methan, Ethan und Propan.]				Muta. Cat. 2; R46	R: 45-46 S: 53-45		
649-146-00-2	Gase (Erdöl), Reformer Ausfluß Hochdruck Entspannungstrommel Ab- Raffineriegas [Komplexe Kombination, hergestellt durch Hochdruck-Entspannung des Abflusses aus dem Reformer-Reaktor. Besteht in erster Linie aus Wasserstoff mit verschiedenen geringen Mengen Methan, Ethan und Propan.]	H K	271-003-4	68513-18-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-147-00-8	Gase (Erdöl), Reformer Ausfluß Niedrigdruck Entspannungstrommel Ab- Raffineriegas [Komplexe Kombination, hergestellt durch Niedrigdruck-Entspannung des Abflusses aus dem Reformer-Reaktor. Besteht in erster Linie aus Wasserstoff mit verschiedenen geringen Mengen Methan, Ethan und Propan.]	H K	271-005-5	68513-19-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-148-00-3	Gase (Erdöl), Öl Raffinerie Gasdestillation Ab- Raffineriegas [Komplexe Kombination, durch Destillation eines Wasserstoffes, Kohlenmonoxid, Kohlendioxid und Kohlenwasserstoffe mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_1 bis C_6 enthaltenden Gaslaufes getrennt oder durch Kracken von Ethan und Propan erhalten. Besteht aus	H K	271-258-1	68527-15-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_2, Wasserstoff, Stickstoff und Kohlenmonoxid.]							
649-149-00-9	Gase (Erdöl), Benzoleinheit Wasserstoffbehandler Entpentanisierer Kopf Raffineriegas [Komplexe Kombination, hergestellt durch Behandeln der Beschickung aus einer Benzolanlage mit Wasserstoff in Gegenwart eines Katalysators, gefolgt durch Entpentanisieren. Besteht in erster Linie aus Wasserstoff, Ethan und Propan mit verschiedenen geringen Mengen Stickstoff, Kohlenmonoxid, Kohlendioxid und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_6. Kann Spuren Benzol enthalten.]	H K	271-623-5	68602-82-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-150-00-4	Gase (Erdöl), sekundäre Absorber Ab-, verflüssigte katalytische Krack Kopf Fraktionator Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten durch Fraktionierung der Kopfprodukte aus dem katalytischen Krackverfahren in der Fließbettkrackanlage. Besteht aus Wasserstoff, Stickstoff und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_3.]	H K	271-625-6	68602-84-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-151-00-X	Erdölprodukte, Raffineriegase Raffineriegas [Komplexe Kombination, die in erster Linie aus Wasserstoff mit verschiedenen geringen Mengen Methan, Ethan und Propan besteht.]	H K	271-750-6	68607-11-4	Car. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-152-00-5	Gase (Erdöl), Hydrokracken Niedrigdruck Separator	H K	272-182-1	68783-06-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten durch Flüssigkeit-Dampf-Trennung des Reaktorausflusses beim Hydrokrackverfahren. Besteht vorherrschend aus Wasserstoff und gesättigten Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_3.]					S: 53-45		
649-153-00-0	Gase (Erdöl), Raffinerie Raffineriegas [Komplexe Kombination aus verschiedenen Erdöl-Raffinerievorgängen. Besteht aus Wasserstoff und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_3.]	H K	272-338-9	68814-67-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-154-00-6	Gase (Erdöl), Platformerprodukte Separator Ab-Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten aus chemischem Reforming von Naphthenen in Aromaten. Besteht aus Wasserstoff und gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_2 bis C_4.]	H K	272-343-6	68814-90-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-155-00-1	Gase (Erdöl), mit Wasserstoff behandelte saure Kerosin Entpentanisierer Stabilisierer Ab-Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten aus der Entpentanisierter-Stabilisierung von mit Wasserstoff behandeltem Kerosin. Besteht in erster Linie aus Wasserstoff, Methan, Ethan und Propan mit verschiedenen geringen Mengen Stickstoff, Schwefelwasserstoff, Kohlenmonoxid und Kohlenwasserstoffen mit	H K	272-775-5	68911-58-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_4 bis C_5.]							
649-156-00-7	Gase (Erdöl), mit Wasserstoff behandelte saure Kerosin Entspannungstrommel Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten aus der Entspannungstrommel der Anlage, in der saures Kerosin mit Wasserstoff in Gegenwart eines Katalysators behandelt wird. Besteht in erster Linie aus Wasserstoff und Methan mit verschiedenen geringen Mengen Stickstoff, Kohlenmonoxid und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_2 bis C_5.]	H K	272-776-0	68911-59-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-157-00-2	Gase (Erdöl), Destillat Unifiner Desulfurierung Stripper Ab-Raffineriegas [Komplexe Kombination, gestrippt aus dem flüssigen Produkt des Unifiner Desulfurierungsverfahrens. Besteht aus Schwefelwasserstoff, Methan, Ethan und Propan.]	H K	272-873-8	68919-01-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-158-00-8	Gase (Erdöl), Flußbettkrackung Fraktionierung Ab-Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten durch Fraktionierung des Kopfproduktes aus dem Fließbettkrackverfahren. Besteht aus Wasserstoff, Schwefelwasserstoff, Stickstoff und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]	H K	272-874-3	68919-02-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-159-00-3	Gase (Erdöl), Flußbettkrackung Auswaschen sekundärer Absorber Ab-Raffineriegas [Komplexe Kombination, hergestellt durch Auswaschen des	H K	272-875-9	68919-03-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Kopfgases aus dem Fließbettkracker. Enthält Wasserstoff, Stickstoff, Methan, Ethan und Propan.]							
649-160-00-9	Gase (Erdöl), schweres Destillat Wasserstoffbehandler Desulfurierung Stripper Ab-Raffineriegas [Komplexe Kombination, gestrippt aus dem flüssigen Produkt des schweren Destillates aus dem Wasserstoffbehandlungs-Desulfurierungsverfahren. Besteht aus Wasserstoff, Schwefelwasserstoff und gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]	H K	272-876-4	68919-04-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-161-00-4	Gase (Erdöl), Platformer Stabilisator Ab-, leichte Bestandteile Fraktionierung Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten durch Fraktionierung der leichten Bestandteile des Platinreaktors der Platformeranlage. Besteht aus Wasserstoff, Methan, Ethan und Propan.]	H K	272-880-6	68919-07-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-162-00-X	Gase (Erdöl), Vorentspannungsturm Ab-, Rohdestillation Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten aus dem ersten Turm in der Rohöldestillation. Besteht aus Stickstoff und gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]	H K	272-881-1	68919-08-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-163-00-5	Gase (Erdöl), Teer Stripper Ab-Raffineriegas [Komplexe Kombination,	H K	272-884-8	68919-11-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	erhalten durch Fraktionierung von reduziertem Rohöl. Besteht aus Wasserstoff und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4.]							
649-164-00-0	Gase (Erdöl), Unifiner Stripper Ab- Raffineriegas [Kombination von Wasserstoff und Methan, erhalten durch Fraktionieren der Produkte aus der Unifineranlage.]	H K	272-885-3	68919-12-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-165-00-6	Endgas (Erdöl), katalytisch hydrodesulfurierte Naphtha Separator Raffineriegas [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Hydrodesulfurierung von Naphtha. Besteht aus Wasserstoff, Methan, Ethan und Propan.]	H K	273-173-5	68952-79-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-166-00-1	Endgas (Erdöl), straight-run Naphtha Hydrodesulfurierer Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten aus der Hydrodesulfurierung von straight-run Naphtha. Besteht aus Wasserstoff und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]	H K	273-174-0	68952-80-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-167-00-7	Gase (Erdöl), Schwamm Absorber Ab-, Fließbettkracker und Gasöldesulfurierer Kopffraktionierung Raffineriegas [Komplexe Kombination, erhalten durch Fraktionierung von Produkten aus dem Fließbettkracker und Gasöldesulfurierer. Besteht aus Wasserstoff und Kohlenwasserstoffen mit	H K	273-269-7	68955-33-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4.]							
649-168-00-2	Gase (Erdöl), rohe Destillation und katalytisches Kracken Raffineriegas [Komplexe Kombination, hergestellt durch rohe Destillation und katalytische Krackverfahren. Besteht aus Wasserstoff, Schwefelwasserstoff, Stickstoff, Kohlenmonoxid und paraffinhaltigen und olefinhaltigen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_6.]	H K	273-563-5	68989-88-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-169-00-8	Gase (Erdöl), Gasöl Diethanolamin Wäscher Ab-Raffineriegas [Komplexe Kombination, hergestellt durch Desulfurierung von Gasölen mit Diethanolamin. Besteht vorherrschend aus Schwefelwasserstoff, Wasserstoff und aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_1 bis C_5.]	H K	295-397-2	92045-15-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-170-00-3	Gase (Erdöl), Gasöl Hydrodesulfurierung Ausfluß Raffineriegas [Komplexe Kombination, die man durch Abtrennen der flüssigen Phase vom Ausfluß aus der Hydrierreaktion erhält. Besteht vorherrschend aus Wasserstoff, Schwefelwasserstoff und aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_3.]	H K	295-398-8	92045-16-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-171-00-9	Gase (Erdöl), Gasöl Hydrodesulfurierung Entlüfter Raffineriegas [Komplexe Kombination von Gasen, die man aus dem	H K	295-399-3	92045-17-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Reformer und aus den Entlüftern aus dem Hydrierreaktor erhält. Besteht vorherrschend aus Wasserstoff und aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4.]							
649-172-00-4	Gase (Erdöl), Hydrierreaktor Ausfluß Flashtrommel Ab-Raffineriegas [Komplexe Kombination von Gasen, die man aus dem Entspannen der Ausflüsse nach der Hydrierreaktion erhält. Besteht vorherrschend aus Wasserstoff und aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_6.]	H K	295-400-7	92045-18-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-173-00-X	Gase (Erdöl), Naphtha Dampfkracken Hochdruck Rückstand Raffineriegas [Komplexe Kombination, die man als Gemisch der nichtkondensierbaren Portionen aus dem Produkt eines Naphtha-Dampfkrackverfahrens wie auch als Rückstandsgase erhält, die während der Vorbereitung nachfolgender Produkte anfallen. Besteht vorherrschend aus Wasserstoff und paraffinhaltigen und olefinhaltigen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5. Erdgas kann auch beigemischt sein.]	H K	295-401-2	92045-19-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-174-00-5	Gase (Erdöl), Rückstand Viskositätsbrechen Ab-Raffineriegas [Komplexe Kombination, die man aus der Reduktion der Viskosität von Rückständen in einem Ofen erhält. Besteht vorherrschend aus Schwefelwasserstoff und	H K	295-402-8	92045-20-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	paraffinhaltigen und olefinhaltigen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]							
649-177-00-1	Gase (Erdöl), C_{3-4}- Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Destillation von Produkten aus dem Kracken von Rohöl. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_3 bis C_4, vorherrschend aus Propan und Propylen, und siedet im Bereich von etwa -51°C bis -1°C.]	H K	268-629-5	68131-75-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-178-00-7	Endgas (Erdöl), katalytisch gekracktes Destillat und katalytisch gekrackte Naphtha-Fraktionierung Absorber Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Destillation von Produkten aus katalytisch gekrackten Destillaten und katalytisch gekrackter Naphtha. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_1 bis C_4.]	H K	269-617-2	68307-98-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-179-00-2	Endgas (Erdöl), katalytisch polymerisierte Naphtha-Fraktionierung Stabilisator Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus Produkten stabilisierter Fraktionierung aus der Polymerisation von Naphtha. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_1 bis C_4.]	H K	269-618-8	68307-99-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-180-00-8	Endgas (Erdöl), katalytisch reformierte Naphtha-	H K	269-619-3	68308-00-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Fraktionierung Stabilisator, Schwefelwasserstoff-frei Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus stabilisierter Fraktionierung von katalytisch reformierter und durch Aminbehandlung von Schwefelwasserstoff befreiter Naphtha. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4.]					S: 53-45		
649-181-00-3	Endgas (Erdöl), gekracktes Destillat Wasserstoffbehandler Stripper Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Behandlung thermisch gekrackter Destillate mit Wasserstoff in Gegenwart eines Katalysators. Besteht vorherrschend aus gesättigten Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_6.]	H K	269-620-9	68308-01-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-182-00-9	Endgas (Erdöl), straight-run Destillat Hydrodesulfurierer, Schwefelwasserstoff-frei Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch katalytische Hydrodesulfurierung von straight-run und von durch Aminbehandlung von Schwefelwasserstoff befreiten Destillaten. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4.]	H K	269-630-3	68308-10-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-183-00-4	Endgas (Erdöl), Gasöl katalytisches Kracken Absorber Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von	H K	269-623-5	68308-03-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Kohlenwasserstoffen aus der Destillation von Produkten aus dem katalytischen Kracken von Gasöl. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]							
649-184-00-X	Endgas (Erdöl), Gaswiedergewinnungsanlage Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Distillation von Produkten aus verschiedenen Kohlenwasserstoffläufen. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]	H K	269-624-0	68308-04-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-185-00-5	Endgas (Erdöl), Gaswiedergewinnungsanlage Deethanisierer Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Destillation von Produkten aus verschiedenen Kohlenwasserstoffläufen. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4.]	H K	269-625-6	68308-05-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-186-00-0	Endgas (Erdöl), hydrodesulfuriertes Destillat und hydrodesulfurierter Naphtha-Fraktionator, Säurefrei Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Fraktionierung von Produkten aus hydrodesulfurierter Naphtha und Destillat-Kohlenwasserstoffläufen, behandelt zur Beseitigung von sauren Verunreinigungen. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend	H K	269-626-1	68308-06-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	im Bereich von C_1 bis C_5.]							
649-187-00-6	Endgas (Erdöl), hydrodesulfuriertes Vakuumgasöl Stripper, Schwefelwasserstoff-frei Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Stripping-Stabilisierung von katalytisch hydrodesulfuriertem und durch Aminbehandlung von Schwefelwasserstoff befreitem Gasöl. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_6.]	H K	269-627-7	68308-07-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-188-00-1	Endgas (Erdöl), leichtes straight-run Naphtha Stabilisator, Schwefelwasserstoff-frei Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch stabilisierte Fraktionierung von leichter straight-run und durch Aminbehandlung von Schwefelwasserstoff befreiter Naphtha. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_5.]	H K	269-629-8	68308-09-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-189-00-7	Endgas (Erdöl), Propan-Propylen Alkylierung Zulaufvorbereitung Deethanisierer Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Destillation der Reaktionsprodukte von Propan mit Propylen. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4.]	H K	269-631-9	68308-11-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-190-00-2	Endgas (Erdöl), Vakuumgasöl Hydrodesulfurierer, Schwefelwasserstoff-frei	H K	269-632-4	68308-12-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch katalytisches Hydrodesulfurieren von durch Aminbehandlung von Schwefelwasserstoff befreitem Vakuumgasöl. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_6.]							
649-191-00-8	Gase (Erdöl), katalytisch gekrackte Kopfprodukte Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Destillation von Produkten aus dem katalytischen Krackverfahren. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_3 bis C_5 und siedet im Bereich von etwa -48°C bis 32°C.]	H K	270-071-2	68409-99-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-193-00-9	Alkane, C_{1-2}- Gase aus der Erdölverarbeitung	H K	270-651-5	68475-57-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-194-00-4	Alkane, C_{2-3}- Gase aus der Erdölverarbeitung	H K	270-652-0	68475-58-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-195-00-X	Alkane, C_{3-4}- Gase aus der Erdölverarbeitung	H K	270-653-6	68475-59-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-196-00-5	Alkane, C_{4-5}- Gase aus der Erdölverarbeitung	H K	270-654-1	68475-60-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-197-00-0	Brenngase Gase aus der Erdölverarbeitung [Kombination leichter Gase. Besteht vorherrschend aus Wasserstoff und/oder Kohlenwasserstoffen mit niedrigem Molekulargewicht.]	H K	270-667-2	68476-26-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-198-00-6	Brenngase, Rohöldestillate Gase aus der Erdölverarbeitung	H K	270-670-9	68476-29-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	[Komplexe Kombination von leichten Gasen, hergestellt durch Destillation von Rohöl und durch katalytisches Reformieren von Naphtha. Besteht aus Wasserstoff und Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4 und siedet im Bereich von etwa -217°C bis -12°C.]					S: 53-45		
649-199-00-1	Kohlenwasserstoffe, C_{3-4} Gase aus der Erdölverarbeitung	H K	270-681-9	68476-40-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-200-00-5	Kohlenwasserstoffe, C_{4-5}- Gase aus der Erdölverarbeitung	H K	270-682-4	68476-42-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-201-00-0	Kohlenwasserstoffe, C_{2-4}-, C_3-reich Gase aus der Erdölverarbeitung	H K	270-689-2	68476-49-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-202-00-6	Erdölgase, verflüssigt Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, hergestellt durch Destillation von Rohöl. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_3 bis C_7 und siedet im Bereich von etwa -40 °C bis 80 °C.]	HKS	270-704-2	68476-85-7	F+; R12 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	F+; T R: 12-45-46 S: 53-45		
649-203-00-1	Erdölgase, verflüssigt, gesüßt Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Einwirkung eines Süßungsverfahrens auf verflüssigtes Erdölgasgemisch, um Mercaptane zu konvertieren oder um saure Verunreinigungen zu entfernen. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_3 bis C_7 und siedet im Bereich von etwa -40 °C bis 80 °C.]	HKS	270-705-8	68476-86-8	F+; R12 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	F+; T R: 12-45-46 S: 45-53		
649-204-00-7	Gase (Erdöl), C_{3-4}-, Isobutan-	H K	270-724-1	68477-33-8	Carc. Cat. 1; R45	T		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	reich Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten aus der Destillation gesättigter und ungesättigter Kohlenwasserstoffe mit Kohlenstoffzahlen, die sich gewöhnlich von C_3 bis C_6 erstrecken, vorherrschend von Butan und Isobutan. Besteht aus gesättigten und ungesättigten Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_3 bis C_4, vorherrschend Isobutan.]				Muta. Cat. 2; R46	R: 45-46 S: 53-45		
649-205-00-2	Destillate (Erdöl), C_{3-6}-, Piperylen-reich Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Destillation gesättigter und ungesättigter aliphatischer Kohlenwasserstoffe mit Kohlenstoffzahlen, die sich gewöhnlich von C_3 bis C_6 erstrecken. Besteht aus gesättigten und ungesättigten Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_3 bis C_6, vorherrschend Piperylenen.]	H K	270-726-2	68477-35-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-206-00-8	Gase (Erdöl), Butan Spaltung Überschüsse Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, enhalten durch Destillation des Butanlaufes. Besteht aus aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_3 bis C_4.]	H K	270-750-3	68477-69-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-207-00-3	Gase (Erdöl), C_{2-3}- Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten	H K	270-751-9	68477-70-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	durch Destillation von Produkten aus dem katalytischen Fraktionierungsverfahren. Enthält vorherrschend Ethan, Ethylen, Propan und Propylen.]							
649-208-00-9	Gase (Erdöl), katalytisch gekracktes Gasöl Depropanisierer Boden, C_4-reich Säure-frei Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen aus der Fraktionierung von katalytisch gekracktem Gasöl-Kohlenwasserstofflauf und zur Beseitigung von Schwefelwasserstoff und anderen säurehaltigen Bestandteile behandelt. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen im Bereich von C_3 bis C_5, vorherrschend C_4.]	H K	270-752-4	68477-71-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-209-00-4	Gase (Erdöl), katalytisch gekrackte Naphtha Debutanisierer Boden, C_{3-5}-reich Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten durch Stabilisierung von katalytisch gekrackter Naphtha. Besteht aus aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_3 bis C_5.]	H K	270-754-5	68477-72-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-210-00-X	Endgas (Erdöl), isomerisierte Naphtha-Fraktionierung Stabilisator Gase aus der Erdölverarbeitung [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, erhalten aus Produkten stabilisierter Fraktionierung aus isomerisierter Naphtha. Besteht vorherrschend aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_1 bis C_4.]	H K	269-628-2	68308-08-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-224-00-6	Brennstoffe, Diesel-	H N	269-822-7	68334-30-5	Carc. Cat. 3; R40	Xn		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Gasöl - nicht spezifiziert [Komplexe Kombination von Kohlenwasserstoffen, hergestellt durch Destillation von Rohöl. Besteht aus Kohlenwasserstoffen mit Kohlenstoffzahlen vorherrschend im Bereich von C_9 bis C_{20} und siedet im Bereich von etwa 163°C bis 357°C.]					R: 40 S: (2-)36/37		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
005-009-00-3	Tetrabutylammoniumbutyltriphenylborat		418-080-4	120307-06-4	R 43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-56-61		
005-010-00-9	N,N-Dimethylaniliniumtetrakis(pentafluorphenyl)borat		422-050-6	118612-00-3	Carc.Cat.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-diethylaminophenyl)penta-2,4-dienyliden]cyclohexa-2,5-dienyliden}ammonium butyltriphenylborat(1-)		418-070-1	141714-54-7	R 43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		
011-007-00-3	Propoxycarbazon-Natrium		-	-	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	Natrium((n-butyl)x(ethyl)y-1,5-dihydro)aluminat) x = 0.5 y = 1.5		418-720-2	-	F; R11 R14/15 R 17 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-fluorphenyl)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-fluorophenyl)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-(1-Oxoprop-2-enyl)-1-oxypropyl]dimethoxysilyloxy-ω-[3-(1-prop-2-enyl)-1-oxypropyl]dimethoxysilyl poly(dimethylsiloxan)		415-290-8	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
014-029-00-1	O,O'-(Ethenylmethylsilylen)di[(4-methylpentan-2-on)oxim]		421-870-1	-	Repr.Cat.3; R62 Xn; R22-48/22	Xn R: 22-48/22-62 S: (2-)36/37		
014-030-00-7	[(Dimethylsilylen)bis((1,2,3,3a,7a-η)-1H-inden-1-yliden)dimethyl]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	Bis(1-methylethyl)-dimethoxisilan		421-540-7	18230-61-0	R 10 Xi; R38 R43 R 52-53	Xi R: 10-38-43-52/53 S: (2-)24-37-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
014-032-00-8	Dicyclopentyldimethoxysilan		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-Methyl-1-(1-oxopropoxy)propoxy]-(4-phenylbutyl)phosphinyl]essigsäure, (-)-cinchonidin (1:1)salz		415-820-8	137590-32-0	Xi; R41 R 43 R 52-53	Xi R: 41-43-52/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
015-181-00-1	Phosphin		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	Salze von Glyphosat, mit Ausnahme der in diesem Anhang an anderer Stelle aufgeführten		-	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
015-186-00-9	Chlorpyrifos-methyl		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	Gemisch aus: Tetranatrium(((2-hydroxyethyl)imino)bis(methylen))bisphosphonat, N-oxid; Trinatrium((tetrahydro-2-hydroxy-4H-1,4,2-oxazaphosphorin-4-yl)-methyl)phosphonat, N-oxid, P-oxid		417-540-1	-	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
015-189-00-5	Phenyl-bis(2,4,6-trimethylbenzoyl)-phosphinoxid		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-ylamino)prop-3-ylamino)-5,12-dioxa-7,14-diazapentacen-4,11-disulfonat		402-590-9	109125-56-6	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
016-087-00-3	Gemisch aus: Thiobis(4,1-phenylen)-S,S,S',S'-tetraphenyldisulfoniumbishexafluorphosphat Diphenyl(4-		403-490-8	74227-35-3	Xi; R36 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 36-43-50/53 S: (2-)24-26-37-60-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	phenylthiophenyl)sulfoniumhexafluorphosphat Propylencarbonat							
016-088-00-9	4-(Bis(4-(diethylamino)phenyl)methyl)benzol-1,2-dimethansulfonsäure		407-280-7	71297-11-5	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
016-089-00-4	Gemisch aus Ester aus 5,5',6,6',7,7'-Hexahydroxy-3,3,3',3'-tetramethyl-1,1'-spirobiindan und 2-Diazo-1,2-dihydro-1-oxo-5-sulfonaphthalin		413-840-1	-	E; R2 F; R11 R 53	E R: 2-11-53 S: (2-)33-35-40-61		
016-090-00-X	4-Methyl-N-(methylsulfonyl)benzolsulfonamid		415-040-8	14653-91-9	Xn; R22 Xi; R37-41	Xn R: 22-37-41 S: (2-)26-39		
016-091-00-5	C12-14-tert-alkylammonium-1-amino-9,10-dihydro-9,10-dioxo-4-(2,4,6-trimethylanilino)-anthracen-2-sulfonat		414-110-5	-	Xi; R41 N; R50-53	Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
016-093-00-6	2:1 Gemisch aus: 4-(7-Hydroxy-2,4,4-trimethyl-2-chromanyl)resorcinol-4-yl-tris(6-diazo-5,6-dihydro-5-oxonaphthalin-1-sulfonat) 4-(7-Hydroxy-2,4,4-trimethyl-2-chromanyl)resorcinolbis(6-diazo-5,6-dihydro-5-oxonaphthalin-1-sulfonat)		414-770-4	140698-96-0	F; R11 Carc.Cat.3; R40	F; Xn R: 11-40 S: (2-)7-36/37		
016-095-00-7	Gemisch aus: Reaktionsprodukt aus 4,4'-Methylenbis[2-(4-hydroxybenzyl)-3,6-dimethylphenol] und 6-Diazo-5,6-dihydro-5-oxo-naphthalinsulfonat (1:2) Reaktionsprodukt aus 4,4'-Methylenbis[2-(4-hydroxybenzyl)-3,6-dimethylphenol] und 6-Diazo-5,6-dihydro-5-oxo-naphthalinsulfonat (1:3)		417-980-4	-	F; R11 Carc.Cat.3; R40	F; Xn R: 11-40 S: (2-)7-36/37		
016-096-00-2	Thifensulfuron-methyl		-	79277-27-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
017-015-00-3	(2-(Aminomethyl)phenyl)acetylchloridhydrochlorid		417-410-4	61807-67-8	Xn; R22 C; R35 R43	C R: 22-35-43 S: (1/2-)26-36/37/39-45		
017-016-00-9	Methyltriphenylphosphoniumchlorid		418-400-2	1031-15-8	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)-13-Docosenyl-N,N-bis(2-hydroxyethyl)-N-methyl-ammoniumchlorid		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	N,N,N-Trimethyl-2,3-bis(stearoyloxy)propylammoniumchlorid		405-660-7	-	N;R51-53	N R: 51/53 S: 61		
017-019-00-5	(R)-1,2,3,4-Tetrahydro-6,7-dimethoxy-1-veratrylisochinolinhydrochlorid		415-110-8	54417-53-7	Xn; R22 R52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		
017-020-00-0	Ethylpropoxyaluminiumchlorid		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	Behenamidopropyl-dimethyl-(dihydroxypropyl)ammoniumchlorid		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	Gemisch aus: Dicalcium-(bis(2-hydroxy-5-tetra-propenylphenylmethyl)methylamin)dihydroxid Tricalcium-(tris(2-hydroxy-5-tetra-propenylphenylmethyl)methylamin)tri-hydroxid Poly[calcium ((2-hydroxy-5-tetra-propenyl-phenylmethyl)methylamin)hydroxid]		420-470-4	-	Xi; R36/38 R43	Xi R: 36/38-43 S: (2-)24-26-37		
024-019-00-9	Hauptkomponente: Acetoessigsäureanilid / 3-Amino-1-hydroxybenzol (ATAN-MAP): Trinatrium {6-[(2 oder 3 oder 4)-amino-(4 oder 5 oder 6)-hydroxyphenylazo]-5'-(phenylsulfamoyl)-3-sulfonatonaphthalin-2-azobenzol-		419-230-1	-	R 43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	1,2'-diolato}-{6"-[1-(phenylcarbamoyl)ethylazo]-5"'-(phenylsulfamoyl)-3"-sulfonatonaphthalin-2"-azobenzol-1",2"'-diolato}chromat (III) Nebenprodukt 1: Acetoessigsäureanilid / Acetoessigsäureanilid (ATAN-ATAN): Trinatrium bis{6-[1-(phenylcarbamoyl)ethylazo]-5'-(phenylsulfonyl)-3-sulfonatonaphthalin-2-azobenzol-1,2'-diolato}chromat (III) Nebenprodukt 2: 3-Amino-1-hydroxybenzol / 3-Amino-1-hydroxybenzol (MAP-MAP): Trinatrium bis{6-[(2 oder 3 oder 4)-amino-(4 oder 5 oder 6)-hydroxyphenylazo]-5'-(phenylsulfamoyl)-3-sulfonatonaphthalin-2-azobenzol-1,2'-diolato} chromat (III)							
024-020-00-4	Trinatrium bis[(3'-nitro-5'-sulfonato(6-amino-2-[4-(2-hydroxy-1-naphtylazo)phenylsulfonylamino]pyrimidin-5-azo)benzol-2',4-diolato)]chromat(III)		418-220-4	-	R43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		
025-005-00-5	Gemisch aus: Trinatrium [29H, 31H-phthalocyanin-C,C,C-trisulfonato (6-)-N29,N30,N31,N32], manganat (3-) Tetranatrium [29H,31H-phthalocyanin-C,C,C,C-tetrasulfonato (6-)-N29,N30,N31,N32], manganat (3-) Pentanatrium [29H,31H-phthalocyanin-C,C,C,C,C-pentasulfonato (6-)-N29,N30,N31,N32] manganat (3-)		417-660-4	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
029-012-00-4	Natrium-((N-(3-trimethylammoniopropyl)sulfamoyl)methylsulfonatophthalocyanin		407-340-2	124719-24-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	ato)kupfer(II)							
029-013-00-X	Trinatrium-(2-(α-(3-(4-chlor-6-(2-(2-(vinylsulfonyl)ethoxy)ethylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino)-2-oxido-5-sulfonatophenylazo)benzylidenhydrazino)-4-sulfonatobenzoato)kupfer(II)		407-580-8	130201-51-3	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)24-37-61		
030-011-00-6	Trizinkbis(orthophosphat)		231-944-3	7779-90-0	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
030-013-00-7	Zinkoxid		215-222-5	1314-13-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
034-003-00-3	Natriumselenit		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-(1-Methylethyl)phenyl)-(4-methylphenyl)iodonium tetrakis(pentafluorphenyl)borat (1-)		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	Isomerengemisch aus: Methyldiphenylmethan Dimethyldiphenylmethan		405-470-4	-	Xi; R38 N; R50-53	Xi; N R: 38-50/53 S: (2-)37-60-61		
601-057-00-X	N-Dodecyl-[3-(4-dimethylamino)benzamido)-propyl]dimethylammoniumtosylat		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-l-p-menthen Pinolen		417-870-6	-	Xi; R38 R 43 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-oxobutyrat		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	1,2-Bis[4-fluor-6-{4-sulfo-5-(2-(4-sulfonaphthalin-3-ylazo)-1-hydroxy-3,6-disulfo-8-aminonaphthalin-7-ylazo)phenylamino}-1,3,5-		417-610-1	155522-09-1	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	triazin-2ylamino|ethan;x-natrium, y-kaliumsalze x = 7,755 y = 0,245							
601-061-00-1	(Ethyl-1,2-ethandiyl)|-2-|||(2-hydroxyethyl)methylamino|acetyl|-propyl|ω-(nonylphenoxy)poly|oxy-(methyl-1,2-ethandiyl)		418-960-8	-	C; R34 R 43 N; R51-53	C; N R: 34-43-51/53 S: (1/2-)26-28-36/37/39-45-61		
601-062-00-7	Gemisch aus: Triacontan, verzweigt; Dotriacontan, verzweigt; Tetratriacontan, verzweigt; Hexatriacontan, verzweigt;		417-030-9	151006-59-6	R 53	R: 53 S: 61		
601-063-00-2	Tetracosan, verzweigt, Isomerengemisch		417-060-2	151006-61-0	Xn; R20 R53	Xn R: 20-53 S: (2-)61		
601-064-00-8	Hexatriacontan, verzweigt		417-070-7	151006-62-1	R53	R: 53 S: 61		
601-065-00-3	Gemisch aus: (1'-α,3'-α,6'-α-2,2,3',7',7'-pentamethylspiro(1,3-dioxan-5,2'-norcaran) und (1'α,3'β,6'α)-2,2,3',7',7'-pentamethylspiro(1,3-dioxan-5,2'-norcaran)		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-(4-(trans-4-Heptylcyclohexyl)phenyl)ethan		426-820-2	78531-60-9	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
601-067-00-4	Triethylarsenat		427-700-2	15606-95-8	Carc.Cat.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	1,2-Diacetoxybut-3-en		421-720-5	18085-02-4	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)		
601-069-00-5	2-Ethyl-1-(2-(1,3-dioxanyl)ethyl)-pyridiniumbromid		422-680-1	-	R52-53	R: 52/53 S: 61		
601-071-00-6	1-Dimethoxymethyl-2-nitro-benzol		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-difluorbenzol		416-710-2	461-96-1	R10 Xn; R22-48/22 Xi; R38	Xn; N R: 10-22-38-43-48/22-50/53		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
					R43 N; R50-53	S: (2-)24-36/37-60-61		
601-074-00-2	Gemisch aus: 4-(2,2,3-Trimethylcyclopent-3-en-1-yl)-1-methyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octan, 1-(2,2,3-Trimethylcyclopent-3-en-1-yl)-5-methyl-6-oxabicyclo[3.2.1]octan, Spiro[cyclohex-3-en-1-yl-[(4,5,6,6a-tetrahydro-3,6',6',6'a-tetramethyl)-1,3'(3'aH)-[2H]cyclopenta[b]furan] und Spiro[cyclohex-3-en-1-yl-[4,5,6,6a-tetrahydro-4,6',6',6'a-tetramethyl)-1,3'(3'aH)-[2H]cyclopenta[b][furan]		422-040-1	-	Xi; R36/38 N; R51-53	Xi; N R: 36/38-51/53 S: (2-)26-37-61		
602-093-00-9	α,α,α,4-Tetrachlortoluol *p*-Chlorbenzotrichlorid	E	226-009-1	5216-25-1	Carc.Cat.2; R45 Repr.Cat.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; Octabrom-Derivat		251-087-9	32536-52-0	Repr.Cat.2; R61 Repr.Cat.3; R62	T R: 61-62 S: 53-45		
602-096-00-5	Malachitgrün Hydrochlorid; C.I. Basic Green 4 [1] Malachitgrün Oxalat [2]		209-322-8 [1] 219-441-7 [2]	569-64-2 [1] 18015-76-4 [2]	Xn; R22 Xi; R41 Repr. Cat. 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-Bromo-9-(4,4,5,5,5-pentafluorpentylthio)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-tert-butylbiphenyl-2,2'-diol		407-920-5	6390-69-8	R 53	R: 53 S: 61		
603-168-00-9	3-(2-Ethylhexyloxy)propan-1,2-diol		408-080-2	70445-33-9	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
603-169-00-4	(+/-)-trans-4-(4-Fluorphenyl)-3-hydroxymethyl-N-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	Gemisch aus: 2-Methyl-1-(6-methylbicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)pent-1-en-3-ol, 2-Methyl-1-(1-		415-990-3	67739-11-1	Xi; R36 N; R51-53	Xi; N R: 36-51/53 S: (2-)26-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	methylbicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)-pent-1-en-3-ol und 2-Methyl-1-(5-methylbicyclo[2.2.1]hept-5-en-2-yl)pent-1-en-3-ol							
603-171-00-5	5-Thiazolylmethanol		414-780-9	38585-74-9	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
603-172-00-0	Mono-2-[2-(4-dibenzo[b,f][1,4]thiazepin-11-yl)piperazinium-1-yl]ethoxy)ethanol-trans-butendioat		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-trioxabicyclo[5.1.0]octan		421-750-9	57280-22-5	Xi; R36 R 43	Xi R: 36-43 S: (2-)26-36/37		
603-174-00-1	4-Cyclohexyl-2-methyl-2-butanol		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-Hexyloxyethoxy)ethanol DEGHE Diethylenglycol-Monohexylether 3,6-Dioxa-1-dodecanol Hexylcarbitol		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 Triethylenglycol-Dimethylether Triglyme		203-977-3	112-49-2	R19 Repr. Cat.2; R61 Repr. Cat.3; R62	T R: 61-19-62 S: 53-45		
603-177-00-8	1-Ethoxypropan-2-ol 2PG1EE 1-Ethoxy-2-propanol Propylenglycol-Ethylether Propylenglycol-Monoether [1] 2-Ethoxy-1-methylethylacetat; (2-ethoxy-1-methyl)etheracetat 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-Hexyloxyethanol Ethylenglycol-Monohexylether 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 Vitamin D2		200-014-9	50-14-6	T+; R26 T; R24/25-48/25	T+ R: 24/25-26-48/25 S: (1/2-)28-36/37-45		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
603-180-00-4	Colecalciferol Vitamin D3		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	*tert*-Butylmethylether MTBE 2-Methoxy-2-methylpropan		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 Triethylenglycol-Monobutylether Butoxytriethylenglycol		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-(isooctadecyloxy)propoxy]methyl]-1,3-propandiol		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-nitrophenol		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	Trans-(5RS,6SR)-6-Amino-2,2-dimethyl-1,3-dioxepan-5-ol		419-050-3	79944-37-9	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24/25-26-37		
603-187-00-2	2-((4,6-Bis(4-(2-(1-methylpyridinium-4-yl)vinyl)phenylamino)-1,3,5-triazin-2-yl)(2-hydroxyethyl)amino)ethanoldichlorid		419-360-9	163661-77-6	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
603-189-00-3	Gemisch aus Komplexen von: Titanium, 2,2'-Oxydiethanol, Ammoniumlactat, Nitrilotris(2-propanol) und Ethylenglycol		405-250-8	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
603-191-00-4	2-(4,6-Bis(2,4-dimethylphenyl)-1,3,5-triazin-2-yl)-5-(3-((2-ethylhexyl)oxy)-2-hydroxypropoxy)phenol		419-740-4	137658-79-8	R53	R: 53 S: 61		
603-195-00-6	2-[4-(4-Methoxyphenyl)-6-phenyl-1,3,5-triazin-2-yl]-phenol		430-810-3	154825-62-4	R52-53	R: 52/53 S: 61		
603-196-00-1	2-(7-Ethyl-1H-indol-3-yl)ethanol		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		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
603-197-00-7	1-(4-Chlorphenyl)-4,4-dimethyl-3-(1,2,4-triazol-1-ylmethyl)pentan-3-ol		403-640-2	107534-96-3	Repr.Cat.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		-	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"-(1-Methylpropan-1-yl-3-yliden)tris(2-cyclohexyl-5-methylphenol)		407-460-5	111850-25-0	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
604-066-00-7	Gemisch aus: Phenol, 6-(1,1-dimethylethyl)-4-tetrapropyl-2-[(2-hydroxy-5-tetra-propylphenyl)methyl (C41-Verbindung) und Methan, 2,2'-bis[6-(1,1-dimethyl-ethyl)-1-hydroxy-4-tetrapropyl-phenyl)]-(C45-verbindung) 2,6-Bis(1,1-dimethylethyl)-4-tetra-propyl-phenol und 2-(1,1-dimethylethyl)-4-tetrapropyl-phenol 2,6-Bis[(6-(1,1-dimethylethyl)-1-hydroxy-4-tetrapropylphenyl)methyl]-4-(tetrapropyl)phenol und 2-[(6-(1,1-Dimethylethyl)-1-hydroxy-4-tetrapropylphenylmethyl]-6-[1-hydroxy-4-tetrapropylphenyl)methyl]-4-(tetrapropyl)phenol		414-550-8	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
604-067-00-2	Gemisch aus: 2,2'-[[(2-Hydroxyethyl)imino]bis(methylen)bis[4-dodecylphenol] formaldehyd, oligomer mit 4-dodecylphenol und 2-aminoethanol(n = 2) Formaldehyd, oligomer mit 4-Dodecylphenol und 2-Aminoethanol(n = 3, 4 und höher)		414-520-4	-	Xi; R38-41 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-50/53 S: (2-)26-37/39-60-61		
604-068-00-8	(+/-)-4-[2-[[3-(4-Hydroxyphenyl)-1-		415-170-5	99095-19-9	Xn; R20/22 R 43	Xn R: 20/22-43		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	methylpropyl]amino]-1-hydroxyethyl]phenolhydrochlorid					S: (2-)24-26-37		
604-069-00-3	2-(1-Methylpropyl)-4-tert-butylphenol		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		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	Gemisch aus: 2,2-Dimethoxyethanal (diese Komponente gilt in Bezug auf Identität, Struktur und Zusammensetzung als wasserfrei. 2,2-Dimethoxyethanal besteht jedoch in wasserhaltiger Form. 60% wasserfrei entspricht 70,4% wasserhaltig) Wasser (einschließlich freies Wasser und Wasser in hydriertem 2,2-Dimethoxyethanal)		421-890-0	-	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
606-062-00-0	Tetrahydrothiopyran-3-carboxaldehyde		407-330-8	61571-06-0	Repr.Cat.2; R61 Xi; R41 R 52-53	T R: 61-41-52/53 S: 53-45-61		
606-063-00-6	(E)-3-(2-Chlorphenyl)-2-(4-fluorphenyl)propenal		410-980-5	112704-51-5	Xi; R36 R 43	Xi R: 36-43 S: (2-)24-26-37		
606-064-00-1	Pregn-5-en-3,20-dionbis(ethylenketal)		407-450-0	7093-55-2	R 53	R: 53 S: 61		
606-065-00-7	1-(4-Morpholinphenyl)butan-1-on		413-790-0	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
606-066-00-2	(E)-5[(4-Chlorphenyl)methylen]-2,2-dimethylcyclopentanon		410-440-9	131984-21-9	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
606-067-00-8	Gemisch aus: 1-(2,3,6,7,8,9-Hexahydro-1,1-dimethyl-1H-benz(g)inden-4-yl)ethanon 1-(2,3,5,6,7,8-Hexahydro-1,1-dimethyl-1H-benz(f)inden-4-yl)ethanon		414-870-8	96792-67-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	1-(2,3,6,7,8,9-Hexahydro-1,1-dimethyl-1H-benz(g)inden-5-yl)ethanon 1-(2,3,6,7,8,9-Hexahydro-3,3-dimethyl-1H-benz(g)inden-5-yl)ethanon							
606-068-00-3	2,7,11-Trimethyl-13-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-en-1-yl)tridecahexaen-2,4,6,8,10,12-al		415-770-7	1638-05-7	Xn; R48/22 R 43 R 52-53	Xn R: 43-48/22-52/53 S: (2-)22-36/37-61		
606-069-00-9	Spiro[1,3-dioxolan-2,5'-(4',4',8',8'-tetramethyl-hexahydro-3',9'-methannaphthalin)]		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-trimethylphenyl)-2-[1-(ethoxyimino)propyl]-3-hydroxycyclohex-2-en-1-on		414-790-3	138164-12-2	Repr.Cat.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	17-Spiro(5,5-dimethyl-1,3-dioxan-2-yl)androsta-1,4-dien-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-phenyl-pyrrolidin-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	4,4'-Bis(dimethylamino)benzophenon Michlers Keton		202-027-5	90-94-8	Carc.Cat.2; R45 Muta.Cat.3; R68 Xi; R41	T R: 45-41-68 S: 53-45		
606-075-00-1	1-Benzyl-5-ethoxyimidazolidin-2,4-dion		417-340-4	65855-02-9	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)22		
606-076-00-7	1-((2-Chinolinyl-carbonyl)oxy)-2,5-pyrrolidinedion		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]-2-oxetanon		418-650-2	104872-06-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-078-00-8	1-Octylazepin-2-on		420-040-6	59227-88-2	C; R34 R 43 N; R51-53	C; N R: 34-43-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		
606-079-00-3	2-n-Butyl-benzo[d]isothiazol-3-on		420-590-7	-	C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
606-080-00-9	Reaktionsprodukt von: 3-		417-100-9	-	R 53			

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Hydroxy-5,7-di-tert-butylbenzofuran-2-on mit O-xylen					R: 53 S: 61		
606-081-00-4	(3β, 5α, 6β)-3-(Acetyloxy)-5-bromo-6-hydroxy-androstan-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	Gemisch aus: Butan-2-on-oxim und syn-O,O'-Di(butan-2-on-oxim)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-sec-hexadecylhydrochinon		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-(4-Methoxy-5-benzofuranyl)-3-phenyl-1,3-propandion		414-540-3	484-33-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-085-00-6	(1R,4S)-2-Azabicyclo[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-Dimethylcyclohexyl)pent-4-en-1-one		422-330-8	56973-87-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
606-087-00-7	6-Ethyl-5-fluor-4(3H)-pyrimidon		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-octen-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	Gemisch aus: 1,4-Diamino-2-chlor-3-phenoxyanthrachinon und 1,4-Diamino-2,3-bis-phenoxyanthrachinon		423-220-2	12223-77-7	R53	R: 53 S: 61		
606-091-00-9	6-Chlor-5-(2-chlorethyl)-1,3-dihydroindol-2-on		421-320-0	118289-55-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-092-00-4	Gemisch aus: (E)-Oxacyclohexadec-12-en-2-on, (E)-Oxacyclohexadec-13-en-2-on und a) (Z)-Oxacyclohexadec-(12)-en-2-on und b) (Z)-Oxacyclohexadec-(13)-en-2-on		422-320-3	111879-80-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
607-379-00-7	Gemisch aus: 2-[N-(2-Hydroxyethyl)stearamido]ethyl-stearat, Natrium-[bis[2-(stearoyloxy)ethyl]amino]methylsulfonat, Natrium-[bis(2-hydroxyethyl)amino]methylsulfonat und N,N-bis(2-hydroxyethyl)stearamid		401-230-8	55349-70-7	R52-53	R: 52/53 S: 61		
607-380-00-2	Gemisch aus: Ammonium-1,2-bis(hexyloxycarbonyl)ethansulfonat, Ammonium-1-hexyloxycarbonyl-2-octyloxycarbonylethansulfonat und Ammonium-2-hexyloxycarbonyl-1-octyloxycarbonylethansulfonat		407-320-3	-	Xi; R38-41 R 52-53	Xi R: 38-41-52/53 S: (2-)26-37/39-61		
607-381-00-8	Gemisch aus Triestere von 2,2-Bis(hydroxymethyl)butanol mit C7-Alkansäure und 2-Ethylhexansäure		413-710-4	-	R 53	R: 53 S: 61		
607-382-00-3	2-((4-Amino-2-nitrophenyl)amino)benzoesäure		411-260-3	117907-43-4	Xi; R41 R 43 R 52-53	Xi R: 41-43-52/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
607-383-00-9	Gemisch aus: 2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-4-yl-hexadecanoat und 2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-4-yl-octadecanoat		415-430-8	86403-32-9	Xi; R41 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-384-00-4	Gemisch aus: Estern von C14-C15 verzweigten Alkoholen mit 3,5-Di-t-butyl-4-hydroxyphenylpropionsäure, C15 verzweigtem und linearem Alkyl, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxybenzolpropanoat und C13 verzweigtem und linearem Alkyl, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxybenzolpropanoat		413-750-2	171090-93-0	R 53	R: 53 S: 61		
607-385-00-X	Copolymer von Vinyl-alkohol und Vinyl-acetat teilweise		414-590-6	125229-74-5	N; R51-53	N R: 51/53		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	acetyliert mit 4-(2-(4-Formylphenyl)ethenyl)-1-methylpyridinium-methylsulfat					S: 61		
607-386-00-5	Gemisch aus: Tetradecansäure (42.5-47.5%) und Poly(1-7)lactatester von Tetradecansäure (52.5-57.5%)		412-580-6	174591-51-6	Xi; R38-41 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-387-00-0	Gemisch aus: Dodecansäure (35-40%) und Poly(1-7)lactatester von Dodecansäure (60-65%)		412-590-0	58856-63-6	Xi; R38-41 R 43 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-nitrobenzoesäure		412-090-2	2788-74-1	Xn; R22 R 43 R 52-53	Xn R: 22-43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		
607-389-00-1	Trinatrium-N,N-bis(carboxymethyl)-3-amino-2-hydroxypropionat		414-130-4	119710-96-2	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)22		
607-390-00-7	1,2,3,4-tetrahydro-6-nitro-chinoxalin		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	Dimethylcyclopropan-1,1-dicarboxylat		414-240-2	6914-71-2	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-392-00-8	2-Phenoxyethyl-4-((5-cyano-1,6-dihydro-2-hydroxy-1,4-dimethyl-6-oxo-3-pyridinyl)azo)benzoat		414-260-1	88938-37-8	R 53	R: 53 S: 61		
607-393-00-3	3-(cis-1-Propenyl)-7-amino-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carbonsäure		415-750-8	106447-44-3	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-394-00-9	5-Methylpyrazin-2-carbonsäure		413-260-9	5521-55-1	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-395-00-4	Gemisch aus: Natrium-1-tridecyl-4-allyl-(2 oder 3)-sulfobutandioat und Natrium-1-dodecyl-4allyl-(2 oder 3)-sulfobutandioat		410-230-7	-	C; R34 R 43 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-pentamethyl-4-piperidinyl)-2-(4-methoxybenzyliden)malonat		414-840-4	147783-69-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 22-60-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
607-397-00-5	Gemisch aus: Calcium-salicylat (verzweigt C10-14 C18-30 alkyliert), Calcium phenolate (verzweigt C10-14 und C18-30 alkyliert) Calcium phenolate, sulfuriert (verzweigt C10-14 und C18-30 alkyliert)		415-930-6	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)36/37		
607-398-00-0	Ethyl-N-(5-chlor-3-(4-(diethylamino)-2-methylphenylimino)-4-methyl-6-oxo-1,4-cyclohexadienyl)carbamat		414-820-5	125630-94-6	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-399-00-6	2,2-Dimethyl-3-methyl-3-butenylpropanoat		415-610-6	104468-21-5	Xi; R38 R52-53	Xi R: 38-52/53 S: (2-)37-61		
607-400-00-X	Methyl-3-||(dibutylamino)thioxomethyl|thio|propanoat		414-400-1	32750-89-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-401-00-5	Ethyl-3-hydroxy-5-oxo-3-cyclohexen-1-carboxylat		414-450-4	88805-65-6	Xi; R38-41 R 43	Xi R: 38-41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-402-00-0	Methyl N-(phenoxycarbonyl)-L-valinat		414-500-5	153441-77-1	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-403-00-6	Gemisch aus: Bis(1S,2S,4S)-(1-benzyl-4-tert-butoxycarboxamido-2-hydroxy-5-phenyl)pentylammoniumsuccinat und Isopropylalkohol		414-810-0	-	Xn; R48/22 Xi; R41 N; R50-53	Xn; N R: 41-48/22-50/53 S: (2-)22-26-36/39-60-61		
607-404-00-1	Gemisch aus: ((Z)-3,7-Dimethyl-2,6-octadienyl)oxycarbonylpropansäure Di-((E)-3,7-dimethyl-2,6-octadienyl)butandioat, Di-((Z)-3,7-dimethyl-2,6-octadienyl)butandioat, (Z)-3,7-Dimethyl-2,6-octadienylbutandioat und ((E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadienyl)oxycarbonylpropansäure		415-190-4	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
607-405-00-7	2-Hexyldecyl-p-hydroxybenzoat		415-380-7	148348-12-3	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-406-00-2	Kalium-2,5-dichlorbenzoat		415-700-5	-	Xn; R22 Xi; R41	Xn R: 22-41 S: (2-)26-39		
607-407-00-8	Ethyl-2-carboxy-3-(2-thienyl)propionat		415-680-8	143468-96-6	Xi; R38-41 R 43	Xi R: 38-41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-408-00-3	Kalium-N-(4-fluorphenyl)glycinat		415-710-1	-	Xn; R48/22 Xi; R41 R 43 R 52-53	Xn R: 41-43-48/22-52/53 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
607-409-00-9	Gemisch aus: (3R)-|1S-(1α, 2α, 6β-((2S)-2-Methyl-1-oxo-butoxy)-8a.gamma.)hexahydro-2,6-dimethyl-1-naphthalin|-3,5-dihydroxyheptansäure und inerte Biomasse von Aspergillus terreus		415-840-7	-	R 43 R 52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)36/37-61		
607-410-00-4	Mono[2-(dimethylamino)ethyl]monohydrogen-2-(hexadec-2-enyl)butandioat und/oder Mono[2-(Dimethylamino)ethyl]monohydrogen-3-(hexadec-2-enyl)butandioat		415-880-5	-	Xi; R38-41 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-411-00-X	Oxiranmethanol, 4-methylbenzolsulfonat, (S)-		417-210-7	70987-78-9	Carc.Cat.2; R45 Muta.Cat.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-2-(1-cyanocyclohexyl)acetat		415-970-4	133481-10-4	Xn; R22-48/22 R 52-53	Xn R: 22-48/22-52/53 S: (2-)36/37-61		
607-413-00-0	trans-4-Phenyl-L-prolin		416-020-1	96314-26-0	Repr.Cat.3; R62 R 43	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-triyltriimino)tribenzoat		402-070-1	88122-99-0	R53	R: 53 S: 61		
607-415-00-1	Poly-(methylmethacrylat)-co-(butylmethacrylat)-co-(4-		419-590-1	-	F; R11 R 43	F; Xi R: 11-43		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	acryloxybutyl-isopropenyl-.alpha.,.alpha.-dimethylbenzylcarbamat)-co-(maleicanhydrid)					S: (2-)24-37-43		
607-416-00-7	4-(2-Carboxymethylthio)ethoxy-1-hydroxy-5-isobutyloxycarbonylamino-N-(3-dodecyloxypropyl)-2-naphthamid		420-730-7	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-418-00-8	2-Ethylhexyl-4-aminobenzoat		420-170-3	26218-04-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-419-00-3	(3'-Carboxymethyl-5-(2-(3-ethyl-3H-benzothiazol-2-yliden)-1-methyl-ethyliden)-4,4'-dioxo-2'-thioxo-(2,5')bithiazolidinyliden-3-yl)-essigsäure		422-240-9	166596-68-5	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)26-36/37/39		
607-420-00-9	2,2-Bis(hydroxymethyl)butansäure		424-090-1	10097-02-6	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
607-421-00-4	Cypermethrin *cis/trans* +/- 40/60 α-Cyan-3-phenoxybenzyl-3-(2,2-dichlorvinyl)-2,2-dimethylcycloproancarboxylat (*RS*)-α-Cyano-3-phenoxybenzyl-(1*RS*)-*cis, trans*-3-(2,2-dichlorvinyl)-2,2-dimethylcyclopropancarboxylat		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		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	Ester von Mecoprop und von Mecoprop-P		-	-	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)13-36/37-60-61		
607-424-00-0	Trifloxistrobin Methyl(*E*)-methoxyimino-{(*E*)-α-[1-(α,α,α-trifluor-m-tolyl)ethylidenaminooxy]-o-tolyl}acetat		-	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-dimethylphenyl)-N-(methoxyacetyl)-DL-alaninat		260-979-7	57837-19-1	Xn; R22 R43 R52-53	Xn R: 22-43-52/53 S: (2-)13-24-37-46-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
607-426-00-1	1,2-Benzoldicarbonsäure, Dipentylester, verzweigt und linear [1] n-Pentyl-isopentylphthalat [2] Di-n-pentylphthalat [3] Diisopentylphthalat [4]		284-032-2 [1] - [2] 205-017-9 [3] 210-088-4 [4]	84777-06-0 [1] - [2] 131-18-0 [3] 605-50-5 [4]	Repr. Cat. 2; R60-61 N; R50	T; N R: 60-61-50 S: 53-45-61		
607-427-00-7	Bromoxynil-Heptanoat (ISO) 2,6-Dibrom-4-cyanphenyl-Heptanoat		260-300-4	56634-95-8	Repr.Cat3; R63 Xn; R20/22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 20/22-43-63-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
607-430-00-3	BBP Benzylbutylphtalat		201-622-7	85-68-7	Repr. Cat.2; R61 Repr. Cat.3; R62 N; R50-53	T; N R: 61-62-50/53 S: 53-45-60-61		
607-431-00-9	Prallethrin ETOC 2-Methyl-4-oxo-3-(prop-2-ynyl)cyclopent-2-en-1-yl 2,2-dimethyl-3-(2-methylprop-1-enyl)cyclopropancarboxylat		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*-Metolachlor Gemisch aus (*S*)-2-Chlor-*N*-(2-ethyl-6-methyl-phenyl)-*N*-(2-methoxy-1-methyl-ethyl)-acetamid (80-100%) [1] *S*-Metolachlor (*R*)-2-Chlor-*N*-(2-ethyl-6-methyl-phenyl)-*N*-(2-methoxy-1-methyl-ethyl)-acetamid (0-20%) [2]		- [1] - [2]	87392-12-9 [1] 178961-20-1 [2]	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		
607-433-00-X	Cypermethrin *cis/trans* +/- 80/20 α-Cyan-3-phenoxybenzyl-3-(2,2-dichlorvinyl)-2,2-dimethylcyclopropancarboxylat (*RS*)-α-Cyano-3-phenoxybenzyl-(1*RS*)-*cis/trans*-3-(2,2-dichlorvinyl)-2,2-dimethylcyclopropancarboxylat		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-)36/37/39-60-61		
607-434-00-5	Mecoprop-P [1] und seine Salze (*R*)-2-(4-Chlor-2-		240-539-0	16484-77-8	Xn; R22 Xi; R41	Xn; N R: 22-41-51/53		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	methylphenoxy)propionsäure				N; R51-53	S: (2-)13-26-37/39-46-61		
607-435-00-0	2S-Isopropyl-5R-methyl-1R-cyclohexyl-2,2-dihydroxyacetat		416-810-6	111969-64-3	Xn; R48/22 Xi; R41 N; R51-53	Xn; N R: 41-48/22-51/53 S: (2-)22-26-36/39-61		
607-436-00-6	2-Hydroxy-3-(2-ethyl-4-methylimidazoyl)propylneodecanoat		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-Aminophenyl)-2-cyano-2-propensäure		417-480-6	-	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-438-00-7	Methyl-2-[(aminosulfonyl)methyl]benzoat		419-010-5	-	Xn; R22 Xi; R36	Xn R: 22-36 S: (2-)22-26		
607-439-00-2	Methyltetrahydro-2-furancarboxylat		420-670-1	37443-42-8	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-440-00-8	Methyl 2-aminosulfonyl-6-(trifluormethyl)pyridin-3-carboxylat		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-(2-Dodecyloxy-5-methylphenylcarbamoyl)-4-hydroxy-1-naphthylthio]propionsäure		421-490-6	167684-63-1	R53	R: 53 S: 57-61		
607-442-00-9	Benzyl-[hydroxy-(4-phenylbutyl)phosphinyl]acetat		416-050-5	87460-09-1	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-36/39		
607-443-00-4	Bis(2,4-di-tert-butyl-6-methylphenyl)ethylphosphat		416-140-4	145650-60-8	R 53	R: 53 S: 61		
607-444-00-X	Gemisch aus: cis-1,4-Dimethylcyclohexyldibenzoat und trans-1,4-Dimethylcyclohexyldibenzoat		416-230-3	35541-81-2	R 53	R: 53 S: 61		
607-445-00-5	Eisen (III) tris(4-methylbenzolsulfonat)		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-nitrophenylazo)-3-(1-oxopropyl)amino]phenylaminopropionat		416-240-8	155522-12-6	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)22-24-37-61		
607-447-00-6	Natrium-4-[4-(4-		416-370-5	156738-27-1	R 43	Xi		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	hydroxyphenylazo)phenylamino]-3-nitrobenzolsulfonat				R52-53	R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		
607-448-00-1	2,3,5,6-Tetrafluorbenzoesäure		416-800-1	652-18-6	Xi; R38-41	Xi R: 38-41 S: (2-)22-26-37/39		
607-449-00-7	Gemisch aus: 4,4',4''-[(2,4,6-Trioxo-1,3,5(2H,4H,6H)-triazin-1,3,5-triyl)tris[methylen(3,5,5-trimethyl-3,1-cyclohexandiyl)iminocarbonyloxy-2,1-ethandiyl(ethyl)amino]]trisbenzoldiazoniumtri[bis(2-methylpropyl)naphthalinesulfonat] und 4,4',4'',4'''-[[5,5'-[Carbonylbis[imino(1,5,5-trimethyl-3,1-cyclohexanediyl)methylen]]-2,4,6-trioxo-1,3,5(2H,4H,6H)-triazin-1,1',3,3'-tetrayl]tetrakis[methylen(3,5,5-trimethyl-3,1-cyclohexanediyl)iminocarbonyloxy-2,1-ethandiyl(ethyl)amino]]tetrakisbenzoldiazoniumtetra[bis(2-methylpropyl)naphthalinesulfonat]		417-080-1	-	E; R2 R43 N; R50-53	E; Xi; N R: 2-43-50/53 S: (2-)24-35-37-60-61		
607-450-00-2	2-Merkaptobenzothiazolyl-(Z)-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(tert-butoxycarbonyl)isopropoxyimino acetat		419-040-9	89604-92-2	R 53	R: 53 S: 61		
607-451-00-8	4-[4-Amino-5-hydroxy-3-(4-(2-sulfoxyethylsulfonyl)phenylazo)-2,7-disulfonapht-6-ylazo]-6-[3-(4-amino-5-hydroxy-3-(4-(2-sulfoxyethylsulfonyl)phenylazo)-2,7-disulfonapht-6-ylazo]phenylcarbonylamino]benzolsulfonsäure, natriumsalz		417-640-5	161935-19-9	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
607-453-00-9	4-Benzyl-2,6-dihydroxy-4-aza-heptylen bis(2,2-dimethyloctanoat)		418-100-1	172964-15-7	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
607-454-00-4	Gemisch aus: trans-2-(1-Methylethyl)-1,3-dioxan-5-carbonsäure und cis-2-(1-Methylethyl)-1,3-dioxan-5-carbonsäure		418-170-3	-	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)25-26-39-61		
607-455-00-X	1-Amino-4-(3-|4-chlor-6-(2,5-di-sulfophenylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino|-2,2-dimethyl-propylamino)-anthrachinon-2-sulfonsäure, Natrium-/Lithiumsalz		419-520-8	172890-93-6	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-456-00-5	3-Amino-4-chlorbenzoesäure, hexadecylester		419-700-6	143269-74-3	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-457-00-0	Tetranatriumdihydrogen-1,1''-dihydroxy-8,8''-|p-phenylbis(imino-{6-|4-(2-aminoethyl)piperazin-1-yl|}-1,3,5-triazin-4,2-diylimino)|bis(2,2'-azonaphthalin-1',3,6-trisulfonat)		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	Gemisch aus: 2-Ethyl-|2,6-dibromo-4-[1-|3,5-dibromo-4-(2-hydroxyethoxy)phenyl|-1-methylethyl|phenoxy|propenoat und 2,2'-diethyl-|4,4'-bis(2,6-dibromophenoxy)-1-methylethyliden|dipropenoat 2,2'-|(1-methylethyliden)bis||2,6-dibromo-4,1-phenylen)oxy|ethanol||		420-850-1	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-459-00-1	Isopentyl-4-{2-|5-cyano-1,2,3,6-tetrahydro-1-(2-isopropoxyethoxy-carbonylmethyl)-4-methyl-2,6-dioxo-3-pyridyliden|hydrazino}benzoat		418-930-4	-	R 53	R: 53 S: 61		
607-460-00-7	3-Tridecyloxy-propyl-ammonium-9-octadecenoat		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	Gemisch aus: Pentanatrium-2-{4-{3-methyl-4-|6-sulfonato-4-(2-		421-160-1	-	R 52-53	R: 52/53		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	sulfonato-phenylazo)-naphthalin-1-ylazo]-phenylamino}-6-[3-(2-sulfato-ethansulfonyl)-phenylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino}-benzol-1,4-disulfonat und Pentanatrium-2-{4-{3-methyl-4-[7-sulfonato-4-(2-sulfonato-phenylazo)-naphthalin-1-ylazo]-phenylamino}-6-[3-(2-sulfato-ethansulfonyl)-phenylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino}-benzol-1,4-disulfonat					S: 61		
607-462-00-8	Gemisch aus: 1-Hexylacetat, 2-Methyl-1-pentylacetat, 3-Methyl-1-pentylacetat, 4-Methyl-1-pentylacetat und sonstige gemischte lineare und verzweigte C6-Alkylacetate		421-230-1	88230-35-7	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-463-00-3	3-(Phenothiazin-10-yl)propionsäure		421-260-5	362-03-8	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24/25-61		
607-464-00-9	Gemisch aus: 7-Chlor-1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure und 5-Chlor-1-ethyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure		421-280-4	68077-26-9	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-465-00-4	Tris(2-hydroxyethyl)ammonium 7-{4-[4-(2-Cyanoamino-4-hydroxy-6-oxidopyrimidin-5-ylazo)benzamido]-2-ethoxy-phenylazo}naphthalin-1,3-disulfonat		421-440-3	-	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-466-00-X	Gemisch aus: Phenyl 1-(1-[2-Chlor-5-(hexadecyloxycarbonyl)phenylcarbamoyl]-3,3-dimethyl-2-oxobutyl)-1H-2,3,3a,7a-tetrahydrobenzotriazol-5-carboxylat, Phenyl 2-(1-(2-chlor-5-(hexadecyloxycarbonyl)phenylcarbamoyl)-3,3-dimethyl-2-oxobutyl)-1H-2,3,3a,7a-		421-480-1	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 37/39-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	tetrahydrobenzotriazol-5-carboxylat und Phenyl 3-(1-(2-chlor-5-(hexadecyloxycarbonyl)phenylcarbamoyl)-3,3-dimethyl-2-oxobutyl)-1H-2,3,3a,7a-tetrahydrobenzotriazol-5-carboxylat							
607-467-00-5	1,1,3,3-Tetrabutyl-1,3-ditinoxydicaprylat		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	Gemisch aus: Mononatrium 4-((4-(5-sulfonat-2-methoxyphenylamino)-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-2-((1,4-dimethyl-6-oxido-2-oxo-5-sulfonatomethyl-1,2-dihydropyridin-3-yl)azo)benzenesulfonat, Dinatrium 4-((4-(5-sulfonat-2-methoxyphenylamino)-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-2-((1,4-dimethyl-6-oxido-2-oxo-5-sulfonatomethyl-1,2-dihydropyridin-3-yl)azo)benzenesulfonat, Trinatrium 4-((4-(5-sulfonat-2-methoxyphenylamino)-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-2-((1,4-dimethyl-6-oxido-2-oxo-5-sulfonatomethyl-1,2-dihydropyridin-3-yl)azo)benzenesulfonat und Tetranatrium 4-((4-(5-sulfonat-2-methoxyphenylamino)-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-2-((1,4-dimethyl-6-oxido-2-oxo-5-sulfonatomethyl-1,2-dihydropyridin-3-yl)azo)benzenesulfonat		419-450-8	-	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-469-00-6	Dinatrium 7-((4,6-bis(3-diethylaminpropylamin)-1,3,5-triazin-2-yl)amin)-4-hydroxy-3-(4-(4-sulfonatophenylazo)phenylazo)-2-naphthalensulfonat		419-460-2	120029-06-3	R52-53	R: 52/53 S: 61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
607-470-00-1	Kaliumnatrium 6,13-dichloro-3,10-bis{2-[4-[3-(2-hydroxysulfonyloxyethansulfonyl)phenylamino]-6-(2,5-disulfonatphenylamino-1,3,5-triazin-2-ylamin]ethylamin}benzo[5,6][1,4]oxazin[2,3-b]phenoxazino-4,11-disulfonat		414-100-0	-	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)39-22-26-61		
607-472-00-2	Ammonium-eisen(III)trimethylendiamintetraacetathemihydrat		400-660-3	111687-36-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-474-00-3	(4-(-4-(4-Dimethylaminobenzyliden-1-yl)-3-methyl-5-oxo-2-pyrazolin-1-il)benzoesäure		410-430-4	117573-89-4	R53	R: 53 S: 61		
607-475-00-9	Gemisch (50/50) aus: Tetranatrium-7-(4-[4-chlor-6-[methyl-(3-sulfonatophenyl)amino]-1,3,5-triazin-2-ylamino]-2-ureidophenylazo)naphthalin-1,3,6-trisulfonat und Tetranatrium-7-(4-[4-chlor-6-[methyl-(4-sulfonatophenyl)amino]-1,3,5-triazine-2-ylamino]-2-ureidophenylazo)naphthalin-1,3,6-trisulfonat		412-940-2	148878-18-6	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-476-00-4	Trinatrium-N,N-bis(carboxymethyl)-β-alanin		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	Tetramethylammoniumhydrogenphthalat		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-dioxo-1,3-oxazolidin-3-yl)-4,4-dimethyl-3-oxopentamido]benzoat		418-550-9	168689-49-4	R53	R: 53 S: 61		
607-480-00-6	1,2-Benzoldicarbonsäure di-C7-11-verzweigte und lineare		271-084-6	68515-42-4	Repr. Cat. 2; R61 Repr. Cat. 3; R62	T R: 61-62		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Alkylester					S: 53-45		
607-487-00-4	Gemisch aus: Dinatrium-4-(3-ethoxycarbonyl-4-(5-(3-ethoxycarbonyl-5-hydroxy-1-(4-sulfonatophenyl)pyrazol-4-yl)penta-2,4-dienyliden)-4,5-dihydro-5-oxopyrazol-1-yl)benzolsulfonat und Trinatrium-4-(3-ethoxycarbonyl-4-(5-(3-ethoxycarbonyl-5-oxido-1-(4-sulfonatophenyl)pyrazol-4-yl)penta-2,4-dienyliden)-4,5-dihydro-5-oxopyrazol-1-yl)benzolsulfonat		402-660-9	-	Repr.Cat.2; R61 R52-53	T R: 61-52/53 S: 53-45-61		
607-488-00-X	Ethyl (2-acetylamino-5-fluor-4-isothiocyanatophenoxy)acetat		414-210-9	147379-38-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-489-00-5	Gemisch aus: 2-Ethylhexyllinolenat, linolat und olat 2-Ethylhexylepoxyolat 2-Ethylhexyldiepoxylinolat und 2-Ethylhexyltriepoxylinolenat		414-890-7	71302-79-9	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
607-490-00-0	N-[2-Hydroxy-3-(C12-16-alkyloxy)propyl]-N-methylglycinat		415-060-7	-	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-492-00-1	2-(1-(3',3'-Dimethyl-1'-cyclohexyl)ethoxy)-2-methylpropylpropanoat		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,3-triacetoxypropyl)-3a,7a-dihydro-4H-pyrano[3,4-d]oxazol-6-carboxylat		415-670-3	78850-37-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-494-00-2	Bis(2-ethylhexyl)octylphosphonat		417-170-0	52894-02-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-495-00-8	Natrium-4-sulfophenyl-6-((1-oxononyl)amino)hexanoat		417-550-6	168151-92-6	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
607-496-00-3	2,2'-Methylenbis(4,6-di-tert-butyl-phenyl)-2-ethylhexylphosphit		418-310-3	126050-54-2	R53	R: 53 S: 61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
607-497-00-9	Ceriumoxidisostearat		419-760-3	-	R53	R: 53 S: 61		
607-498-00-4	(E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadienylhexadecanoat		421-370-3	3681-73-0	Xi; R38 R53	Xi R: 38-53 S: (2-)37-61		
607-499-00-X	Bis(dimethyl-(2-hydroxyethyl)ammonium)-1,2-ethandiyl-bis(2-hexadecenylsuccinat)		421-660-1	-	Xi; R41 R43 N; R51-53	Xi; N R: 41-43-51/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
607-500-00-3	Calcium-2,2,bis[(5-tetrapropylen-2-hydroxy)phenyl]ethanoat		421-670-4	-	Xi; R38 N; R50-53	Xi; N R: 38-50/53 S: (2-)37-60-61		
607-501-00-9	Gemisch aus: Triphenylthiophosphat und tertiären butylierten Phenylderivaten		421-820-9	-	R53	R: 53 S: 61		
607-502-00-4	(N-Benzyl-N,N,N-tributyl)ammonium-4-dodecylbenzolsulfonat		422-200-0	-	C; R34 Xn; R22 N; R51-53	C; N R: 22-34-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		
607-503-00-X	2,4,6-Tri-n-propyl-2,4,6-trioxo-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphorinan		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-(sulfonato-ethoxy)sulfonyl)phenylazo)phenylamino)-6-chlor-1,3,5-triazin-2-yl)amino-2-ureidophenylazo)naphthalin-1,3,6-trisulfonat		422-930-1	171599-84-1	R52-53	R: 52/53 S: 22-61		
607-506-00-6	Gemisch aus: Strontium-(4-chlor-2-((4,5-dihydro-3-methyl-5-oxo-1-(3-sulfonatophenyl)-1H-pyrazol-4-yl)azo)-5-methyl)benzolsulfonat und Dinatrium-(4-chlor-2-((4,5-dihydro-3-methyl-5-oxo-1-(3-sulfonatophenyl)-1H-pyrazol-4-yl)azo)-5-methyl)benzolsulfonat		422-970-8	136248-04-9	N; R51-53	N R: 51/53 S: 22-61		
607-507-00-1	Kalium, Natrium-2,4-diamino-3-[4-(2-sulfonatoethoxysulfonyl)phenylazo]-5-[4-(2-		422-980-2	187026-95-5	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	sulfonatoethoxysulfonyl)-2-sulfonatophenylazo]-benzolsulfonat							
607-508-00-7	Dinatrium-3,3'-[iminobis[sulfonyl-4,1-phenylen-(5-hydroxy-3-methylpyrazol-1,4-diyl)azo-4,1-phenylensulfonylimino-(4-amino-6-hydroxypyrimidin-2,5-diyl)azo-4,1-phenylensulfonylimino(4-amino-6-hydroxypyrimidin-2,5-diyl)azo]bis(benzolsulfonat)]		423-110-4	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
607-512-00-9	Trinatrium-2,4-diamino-3,5-bis-[4-(2-sulfonatoethoxy)sulfonyl)phenylazo]benzolsulfonat		423-970-0	182926-43-8	R52-53	R: 52/53 S: 22-61		
607-513-00-4	Gemisch aus: Trisodium 4-benzoylamino-6-(6-ethensulfonyl-1-sulfato-naphthalen-2-ylazo)-5-hydroxynaphthalen-2,7-disulfonat, 5-(Benzoylamino)-4-hydroxy-3-((1-sulfo-6-((2-(sulfooxy)ethyl)sulfonyl)-2-naphtyl)azo)naphthalen-2,7-disulfonsäure, Natriumsalz und 5-(Benzoylamino)-4-hydroxy-3-((1-sulfo-6-((2-(sulfooxy)ethyl)sulfonyl)-2-naphtyl)azo)naphthalen-2,7-disulfonsäure		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	Gemisch aus: Dinatriumhexyldiphenyletherdisulfonat und Dinatriumdihexyldiphenyletherdisulfonat		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(trifluoroacetyl)-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)-α-(acetylthio)benzolpropansäure		430-300-0	76932-17-7	Xn; R22 Xi; R41 R43	Xn R: 22-41-43 S: (2-)22-26-36/37/39		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
607-526-00-5	Cartap		-	15263-53-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-527-00-0	Gemisch aus: 1-(1'H,1'H,2'H,2'H-Tridecafluoroctyl) 12-(1"H,1"H,2"H,2"H-tridecafluoroctyl)dodecandioat, 1-(1'H,1'H,2'H,2'H-Tridecafluoroctyl) 12-(1"H,1"H,2"H,2"H-heptdecafluordecyl)dodecandioat, 1-(1'H,1'H,2'H,2'H-Tridecafluoroctyl) 12-(1"H,1"H,2"H,2"H-henicosafluordodecyl)dodecandioat, 1-(1'H,1'H,2'H,2'H-Tridecafluoroctyl) 12-(1"H,1"H,2"H,2"H-pentacosafluortetradecyl)dodecandioat, 1-(1'H,1'H,2'H,2'H-Heptadecafluordecyl) 12-(1"H,1"H,2"H,2"H-heptadecafluordecyl)dodecandioat und 1-(1'H,1'H,2'H,2'H-Heptadecafluordecyl) 12-(1"H,1"H,2"H,2"H-henicosafluordodecyl)dodecandioat		423-180-6	-	Xn; R48/22	Xn R: 48/22 S: (2-)36		
608-031-00-7	2-Benzyl-2-methyl-3-butenitril		407-870-4	97384-48-0	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)61		
608-033-00-8	N-Butyl-3-(2-chlor-4-nitrophenylhydrazono)-1-cyano-2-methylprop-1-en-1,3-dicarboximid		407-970-8	75511-91-0	R 43 R 52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)24-37-61		
608-034-00-3	Chlorfenapyr 4-Brom-2-(4-chlorphenyl)-1-ethoxymethyl-5-trifluormethylpyrrol-3-carbonitril		-	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	(+/-)-α-[(2-Acetyl-5-methylphenyl)-amino]-2,6-dichlorbenzol-aceto-nitril		419-290-9	-	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
608-036-00-4	3-(2-{4-[2-(4-Cyanophenyl)vinyl]phenyl}vinyl) benzonitril		419-060-8	79026-02-1	R 53	R: 53 S: 61		
608-037-00-X	Gemisch aus: (E)-2,12-Tridecadiennitrile (E)-3,12-Tridecadiennitrile und (Z)-3,12-Tridecadiennitrile		422-190-8	124071-40-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
608-038-00-5	2,2,4-Trimethyl-4-phenyl-butan-nitril		422-580-8	75490-39-0	Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)61		
608-039-00-0	2-Phenylhexanenitril		423-460-8	3508-98-3	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)23-60-61		
608-040-00-6	4,4'-Dithiobis(5-amino-1-(2,6-dichlor-4-(trifluormethyl)phenyl)-1H-pyrazol-3-carbonitril)		423-490-1	130755-46-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
608-041-00-1	4'-((2-Butyl-4-oxo-1,3-diazaspiro[4.4]non-1-en-3-yl)methyl)(1,1'-biphenyl)-2-carbonitril		423-500-4	138401-24-8	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
608-043-00-2	3-(cis-3-Hexenyloxy)propannitril		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		-	104206-82-8	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
609-066-00-0	Lithiumnatrium 3-amino10-{4-(10-amino-6,13-dichloro-4,11-disulfonatobenzo[5,6][1,4]oxazino[2,3-b]phenoxazin-3-ylamino)-6-[methyl(2-sulfonato-ethyl)amino]-1,3,5-triazin-2-ylamino}-6,13-dichlorobenzo[5,6][1,4]oxazino[2,3-b]phenoxazino-4,11-disulfonat		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- und Kalium-4-(3-aminopropylamino)-2,6-bis[3-(4-methoxy-2-sulfophenylazo)-4-hydroxy-2-sulfo-7-naphthylamino]-1,3,5-triazin		416-280-6	156769-97-0	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
609-068-00-1	Xylolmoschus 5-*tert*-Butyl-2,4,6-trinitro-*m*-xylol		201-329-4	81-15-2	Carc. Cat. 3; R40 E; R2	E; Xn; N R: 2-40-50/53		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
					N; R50-53	S: (2-)36/37-46-60-61		
609-070-00-2	1,4-Dichlor-2-(1,1,2,3,3,3-hexafluorpropoxy)-5-nitrobenzol		415-580-4	130841-23-5	Xn; R22 R 43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)36/37/39-60-61		
609-071-00-8	Gemisch aus: 2-Methylsulfanyl-4,6-bis-(2-hydroxy-4-methoxy-phenyl)-1,3,5-triazin und 2-(4,6-Bis-methylsulfanyl-1,3,5-triazin-2-yl)-5-methoxy-phenol		423-520-3	156137-33-6	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-099-00-0	(Methylenbis(4,1-phenylenazo(1-(3-(dimethylamino)propyl)-1,2-dihydro-6-hydroxy-4-methyl-2-oxopyridin-5,3-diyl)))-1,1'-dipyridiniumdichloriddihydrochlorid		401-500-5	-	Carc.Cat.2; R45 N; R51-53	T; N R: 45-51/53 S: 53-45-61		
611-100-00-4	Kaliumnatrium-3,3'-(3(oder4)-methyl-1,2-phenylenbis(imino(6-chlor)-1,3,5-triazin-4,2-diylimino(2-acetamido-5-methoxy)-4,1-phenylenazo)dinaphthalin-1,5-disulfonat		403-810-6	140876-13-7	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
611-101-00-X	2'-(4-Chlor-3-cyan-5-formyl-2-thienyl)azo-5'-diethylaminoacetanilid		405-200-5	104366-25-8	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-103-00-0	Trinatrium-(1-(3-carboxylato-2-oxido-5-sulfonatophenylazo)-5-hydroxy-7-sulfonatonaphthalin-2-amido)nickel(II)		407-110-1	-	Xi; R41 R 43 N; R51-53	Xi; N R: 41-43-51/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
611-104-00-6	Gemisch aus: Trinatrium-(2,4(oder 2,6 oder 4,6)-Bis(3,5-dinitro-2-oxidophenylazo)-5-hydroxyphenolato)(2(oder 4 oder 6)-(3,5-dinitro-2-oxidophenylazo)-5-hydroxy-4(oder 2 oder 6)-(4-(4-nitro-2-sulfonatoanilino)phenylazo)phenolato)ferrat(1-), Trinatriumbis(2,4(oder 2,6 oder 4,6)-bis(3,5-dinitro-2-oxidophenylazo)-5-hydroxyphenolato)ferrat(1-),		406-870-1	-	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Trinatrium-(2,4(oder 2,6 oder 4,6)-bis(3,5-dinitro-2-oxidophenylazo)-5-hydroxyphenolato)(2(oder 4 oder 6)-(3,5-dinitro-2-oxidophenylazo)-5-hydroxy-4(oder 2 oder 6)-(4-nitro-2-sulfonatophenylazo)phenolato)ferrat(1-), Trinatrium-(2,4(oder 2,6 oder 4,6)-bis(3,5-dinitro-2-oxidophenylazo)-5-hydroxyphenolato)(2(oder 4 oder 6)-(3,5-dinitro-2-oxidophenylazo)-5-hydroxy-4(oder 2 oder 6)-(3-sulfonatophenylazo)phenolato)ferrat(1-) und Dinatrium-3,3'-(2,4-dihydroxy-1,3(oder 1,5 oder 3,5)-phenylendiazo)dibenzolsulfonat							
611-105-00-1	Natrium-4-(4-chlor-6-(N-ethylanilino)-1,3,5-triazin-2-ylamino)-2-(1-(2-chlorphenyl)-5-hydroxy-3-methyl-1H-pyrazol-4-ylazo)benzolsulfonat		407-800-2	136213-75-7	R 43 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-sulfonatophenylazo)phenylazo]-7,7'[p-phenylenbis[imino(6-chlor-1,3,5-triazin-4,2-diyl)imino]]dinaphthalen-2-sulfonat		410-180-6	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
611-107-00-2	Kaliumnatrium-4-(4-chlor-6-(3,6-disulfonato-7-(5,8-disulfonato-naphthalin-2-ylazo)-8-hydroxy-naphthalin-1-ylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino)-5-hydroxy-6-(4-(2-sulfatoethanesulfonyl)-phenylazo)-naphthalin-1,7-disulfonat		412-490-7	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-108-00-8	Dinatrium-5-((4-((4-chlor-3-sulfonatophenyl)azo)-1-naphthyl)azo)-8-(phenylamino)-1-naphthalensulfonat		413-600-6	6527-62-4	R 52-53	R: 52/53 S: 61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
611-109-00-3	Reaktionsprodukte von: Kupfer(II)sulfat und Tetranatrium-2,4-bis[6-(2-methoxy-5-sulfonatophenylazo)-5-hydroxy-7-sulfonato-2-naphthylamino]-6-(2-hydroxyethylamino)-1,3,5-triazin (2:1)		407-710-3	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
611-110-00-9	Tetra-natrium/lithium-4,4'-bis-(8-amino-3,6-disulfonato-1-naphthol-2-ylazo)-3-methylazobenzol		408-210-8	124605-82-9	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-28-37-61		
611-111-00-4	Dinatrium-2-[[4-(2-chlorethylsulfonyl)phenyl]-[(2-hydroxy-5-sulfo-3-[3-[2-(2-(sulfooxy)ethylsulfonyl)ethylazo]-4-sulfobenzoato(3-)cuprat(1-)		414-230-8	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-112-00-X	Tetranatrium-4-hydroxy-5-[4-[3-(2-sulfatoethansulfonyl)phenylamino]-6-morpholin-4-yl-1,3,5-triazin-2-ylamino]-3-(1-sulfonatonaphthalin-2-ylazo)naphthalin-2,7-disulfonat		413-070-6	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-113-00-5	Lithium/natrium-(2-(((5-((2,5-dichlorphenyl)azo)-2-hydroxyphenyl)methylen)amino) benzoato(2-))(2-((4,5-dihydro-3-methyl-5-oxo-1-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)azo)-5-sulfobenzoato(3-)) chromat(2-)		414-280-0	149626-00-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24/25-61		
611-114-00-0	Lithium/natrium-(4-((5-chlor-2-hydroxyphenyl)azo)-2,4-dihydro-5-methyl-3H-pyrazol-3-onato(2-))(3-((4,5-dihydro-3-methyl-1-(4-methylphenyl)-5-oxo-1H-pyrazol-4-yl)azo)-4-hydroxy-5-nitrobenzolsulfonato(3-)) chromat(2-)		414-250-7	149564-66-9	Xn; R22 Xi; R41 R 52-53	Xn R: 22-41-52/53 S: (2-)22-26-39-61		
611-115-00-6	Trilithiumbis(4-((4-(diethylamino)-2-hydroxyphenyl)azo)-3-hydroxy-1-naphthalensulfonato(3-		414-290-5	149564-65-8	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	))chromat(3-)							
611-116-00-1	Gemisch aus: Trinatrium-5-{4-chlor-6-[2-(2,6-dichlor-5-cyanopyrimidin-4-ylamino)-propylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino}-4-hydroxy-3-(1-sulfonatonaphthalin-2-ylazo)-naphthalin-2,7-disulfonat, Trinatrium-5-{4-chlor-6-[2-(2,6-dichlor-5-cyanopyrimidin-4-ylamino)-1-methyl-ethylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino}-4-hydroxy-3-(1-sulfonatonaphthalin-2-ylazo)-naphthalin-2,7-disulfonat, Trinatrium-5-{4-chlor-6-[2-(4,6-dichlor-5-cyanopyrimidin-2-ylamino)-propylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino}-4-hydroxy-3-(1-sulfonatonaphthalin-2-ylazo)-naphthalin-2,7-disulfonat und Trinatrium-5-{4-chlor-6-[2-(4,6-dichlor-5-cyanopyrimidin-2-ylamino)-1-methyl-ethylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino}-4-hydroxy-3-(1-sulfonatonaphthalin-2-ylazo)-naphthalin-2,7-disulfonat		414-620-8	-	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-117-00-7	1,3-Bis{6-fluor-4-[1,5-disulfo-4-(3-aminocarbonyl-1-ethyl-6-hydroxy-4-methyl-pyrid-2-on-5-ylazo)-phenyl-2-ylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino}propan lithium-, natriumsalz		415-100-3	149850-29-3	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-118-00-2	Natrium-1,2-bis[4-[4-{4-(4-sulfophenylazo)-2-sulfophenylazo}-2-ureido-phenyl-amino]-6-fluor-1,3,5-triazin-2-ylamino]-propan, natriumsalz		413-990-8	149850-31-7	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-119-00-8	Tetranatrium-4-[4-chlor-6-(4-methyl-2-sulfophenylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino]-6-(4,5-dimethyl-2-sulfophenylazo)-5-hydroxynaphthalen-2,7-disulfonat		415-400-4	148878-22-2	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
611-120-00-3	5-{4-[5-Amino-2-[4-(2-sulfoxyethylsulfonyl)phenylazo]-4-sulfo-phenylamino]-6-chlor-1,3,5-triazin-2-ylamino}-4-hydroxy-3-(1-sulfo-naphthalin-2-ylazo)-naphthalin-2,7-disulfonsäure natriumsalz		418-340-7	157707-94-3	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)22-26-39-61		
611-121-00-9	Hauptbestandteil 6 (Isomer): asym. 1:2 Cr(III)-Komplex von: A: 3-Hydroxy-4-(2-hydroxy-naphthalin-1-ylazo)-naphthalin-1-sulfonsäure, Natriumsalz und B: 1-[2-Hydroxy-5-(4-methoxy-phenylazo)-phenylazo]-naphthalin-2-ol Hauptbestandteil 8 (Isomer): asym. 1:2 Cr-Komplex von: A: 3-Hydroxy-4-(2-hydroxy-naphthalin-1-ylazo)-naphthalin-1-sulfonsäure, Natriumsalz und B: 1-[2-Hydroxy-5-(4-methoxy-phenylazo)-phenylazo]-naphthalin-2-ol		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-(di[N-(3-(4-[5-(5-amino-3-methyl-1-phenylpyrazol-4-yl-azo)-2,4-disulfo-anilino]-6-chlor-1,3,5-triazin-2-ylamino}phenyl)-sulfamoyl](di-sulfo)-phthalocyaninato)nickel		417-250-5	151436-99-6	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-123-00-X	3-(2,4-Bis(4-((5-(4,6-bis(2-aminopropylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino)-4-hydroxy-2,7-disulfonaphthalin-3-yl)azo)phenylamino)-1,3,5-triazin-6-ylamino)propyldiethylammonium lactat		424-310-4	178452-66-9	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
611-124-00-5	Gemisch aus: Pentanatrium-5-amino-3-(5-{4-chlor-6-[4-(2-sulfoxyethoxysulfonato)phenylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino}-2-sulfonatophenylazo)-6-[5-(2,3-dibromopropionylamino)-2-sulfonatophenylazo]-4-hydroxynaphthalin-2,7-disulfonat,		424-320-9	180778-23-8	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Pentanatrium-5-amino-6-[5-(2-bromoacryloylamino)-2-sulfonatophenylazo]-3-(5-{4-chlor-6-[4-(2-sulfoxyethoxysulfonato)phenylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino}-2-sulfonatophenylazo)-4-hydroxynaphthalin-2,7-disulfonat und Tetranatrium-5-amino-3-[5-{4-chlor-6-[4-(vinylsulfonyl)phenylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino}-2-sulfonatophenylazo]-6-[5-(2,3-dibromopropionylamino)-2-sulfonatophenylazo]-4-hydroxynaphthalin-2,7-disulfonat							
611-125-00-0	Gemisch aus: Dinatrium-4-((8-oxido-7-(2-oxido-4-ethenylsulfonyl-5-(methoxyphenyl)azo)-6-sulfonato)naphthalin-2-ylazo)-5-oxo-1-(4-sulfonatophenyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-carbonsäurekupfer(II) komplex und Dinatrium-4-((8-oxido-7-(2-oxido-4-(2-hydroxyethylsulfonyl)-5-(methoxyphenyl)azo)-6-sulfonato)naphthalin-2-ylazo)-5-oxo-1-(4-sulfonatophenyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-carbonsäurekupfer(II)komplex		423-940-7	-	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
611-126-00-6	2,6-Bis-(2-(4-(4-amino-phenylamino)-phenylazo)-1,3-dimethyl-3H-imidazolium)-4-dimethylamino-1,3,5-triazin, dichlorid		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	Pentanatrium 4-amino-6-(5-(4-(2-ethyl-phenylamino)-6-(2-sulfatoethansulfonyl)-1,3,5-triazin-2-ylamino)-2-sulfonatophenylazo)-5-hydroxy-3-(4-(2-sulfatoethansulfonyl)phenylazo)naphthalin-2,7-disulfonat		423-790-2	-	R 5 Xi; R41 R 43 R 52-53	Xi R: 5-41-43-52/53 S: (2-)22-26-36/37/39-41-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
611-128-00-7	N,N'-Bis{6-chlor-4-[6-(4-vinylsulfonylphenylazo)-2,7-disulfonsäure-5-hydroxy-napht-4-ylamino]-1,3,5-triazin-2-yl}-N-(2-hydroxyethyl)ethan-1,2-diamin, natriumsalz		419-500-9	171599-85-2	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-129-00-2	Gemisch aus: 5-[(4-[(7-Amino-1-hydroxy-3-sulfo-2-naphthyl)azo]-2,5-diethoxyphenyl)azo]-2-[(3-phosphonophenyl)azo]benzoesäure und 5-[(4-[(7-Amino-1-hydroxy-3-sulfo-2-naphthyl)azo]-2,5-diethoxyphenyl)azo]-3-[(3-phosphonophenyl)azo]benzoesäure		418-230-9	163879-69-4	E; R2 Repr.Cat,3; R62 Xn; R48/22 R 43 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	Tetraammonium 2-[6-[7-(2-carboxylato-phenylazo)-8-hydroxy-3,6-disulfonato-1-naphthylamino]-4-hydroxy-1,3,5-triazin-2-ylamino]benzoat		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-[2-Hydroxy-3-(2-chlorphenyl)carbamoyl-1-naphthylazo]-7-[2-hydroxy-3-(3-methylphenyl)carbamoyl-1-naphthylazo]fluoren-9-on		420-580-2	-	Repr.Cat,2; R61 R 53	T R: 61-53 S: 53-45-61		
611-132-00-9	Pentanatrium bis{7-[4-(1-butyl-5-cyano-1,2-dihydro-2-hydroxy-4-methyl-6-oxo-3-pyridylazo)phenylsulfonylamino]-5'-nitro-3,3'-disulfonatonaphthalin-2-azobenzol-1,2'-diolato} chromat (III)		419-210-2	-	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
611-133-00-4	Eisenkomplex von Azofarbstoffen, die durch die Kupplungsreaktion eines Gemisches aus diazotiertem 2-Amino-1-hydroxybenzol-4-sulfanilid und 2-Amino-1-hydroxybenzol-4-sulfonamid mit Resorcin hergestellt wird, wobei das auf diese Weise hergestellte		419-260-5	-	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	Gemisch anschließend einer zweiten Kupplungsreaktion mit einem Gemisch aus diazotierter 3-Aminobenzol-1-sulfonsäure (Metanilsäure) und 4'-Amino-4-nitro-1,1'-diphenylamin-2-sulfonsäure sowie einer Metallisierung mit Eisenchlorid unterzogen wird, Natriumsalz							
611-134-00-X	Trinatrium 2-{α[2-hydroxy-3-[4-chlor-6-[4-(2,3-dibromopropionylamino)-2-sulfonatophenylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino]-5-sulfonatophenylazo]-benzylidenhydrazino}-4-sulfonatobenzoat, Kupferkomplex		423-770-3	-	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)22-26-39-61		
611-135-00-5	Reaktionsprodukt aus: 2-[[4-Amino-2-ureidophenylazo]-5-[(2-(sulfooxy)ethyl)sulfonyl]]benzolsulfonsäure mit 2,4,6-Trifluorpyrimidin und Teilhydrolyse mit dem entsprechenden Vinylsulfonylderivat, gemischtes Kalium-/Natriumsalz		424-250-9	-	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
611-136-00-0	2-{4-(2-Ammoniopropylamino)-6-[4-hydroxy-3-(5-methyl-2-methoxy-4-sulfamoylphenylazo)-2-sulfonatonaphth-7-ylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino}-2-aminopropylhydroformiat		424-260-3	-	Repr.Cat.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-tert-Butyl-7-chlor-3-tridecyl-7,7a-dihydro-1H-pyrazolo[5,1-c]-1,2,4-triazol		419-870-1	159038-16-1	R 53	R: 53 S: 61		
611-138-00-1	2-(4-Aminophenyl)-6-tert-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		-	68049-83-2	T; R48/22 Repr. Cat. 2; R61 Repr. Cat. 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	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
612-184-00-5	6'-(Dibutylamino)-3'-methyl-2'-(phenylamino)spiro[isobenzofuran-1(3H),9-(9H)-xanthen]-3-on		403-830-5	89331-94-2	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
612-185-00-0	1-[3-[4-((Heptadecafluornonyl)oxy)-benzamido]propyl]-N,N,N-trimethylammoniumiodid		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(N-(7-hydroxy-8-methyl-5-phenylphenazin-3-yliden)dimethylammonium)sulfat		406-770-8	149057-64-7	Xn; R48/22 Xi; R41 R 43 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; R21/22-48/22 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-yliden)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)phenoldihydrochloride		412-510-4	135043-64-0	Xn; R22 R 43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)22-24-37-60-61		
612-190-00-8	4,4'-Methylenbis(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	Polymer aus Allylaminhydrochlorid		415-050-2	71550-12-4	Xn; R22 R 43	Xn R: 22-43 S: (2-)36/37		
612-192-00-9	2-Isopropyl-4-(N-methyl)aminomethylthiazol		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-Methylaminomethylphenylamin		414-570-7	18759-96-1	Xn; R21/22 C; R34 R 43 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-hydroxyethyl)-[2-(1-oxotetradecyl)amino]ethyl]amino]-N,N,N-trimethyl-1-propanammoniumchlorid		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)ammonium]-1,5-		415-210-1	-	Xn; R20/22 Xi; R41	Xn; N R: 20/22-41-50/53		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	naphthalendisulfonat				N; R50-53	S: (2-)26-36/39-60-61		
612-196-00-0	4-Chlor-*o*-toluidin [1] 4-Chlor-*o*-toluidin-Hydrochlorid [2]	E	202-441-6 [1] 221-627-8 [2]	95-69-2 [1] 3165-93-3 [2]	Carc.Cat.2; R45 Muta.Cat.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-Trimethylanilin [1] 2,4,5-Trimethylanilin-Hydrochlorid [2]	E	205-282-0 [1] - [2]	137-17-7 [1] 21436-97-5 [2]	Carc.Cat.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'-Thiodianilin [1] und seine Salze	E	205-370-9	139-65-1	Carc.Cat.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 [1] und seine Salze p-Aminophenylether	E	202-977-0	101-80-4	Carc.Cat.2; R45 Muta.Cat.2; R46 Repr.Cat.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-Diaminoanisol 4-Methoxy-*m*-phenylenediamin [1] 2,4-Diaminoanisolsulfat [2]		210-406-1 [1] 254-323-9 [2]	615-05-4 [1] 39156-41-7 [2]	Carc.Cat.2; R45 Muta.Cat.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'-methylendianilin		202-959-2	101-61-1	Carc.Cat.2; R45 N; R50-53	T; N R: 45-50/53 S: 53-45-60-61		
612-202-00-1	3,4-Dichloranilin		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-[4,4'-bis(dimethylamino) benzhydrylidene|cyclohexa-2,5-dien-1-ylidene]dimethylammoniumchlorid		208-953-6	548-62-9	Carc.Cat.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 mit ≥ 0.1% Michlers Keton (EC Nr. 202-027-5)	E	208-953-6	548-62-9	Carc.Cat.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 3-Anilino-5-methyl-5-(4-		-	131807-57-3	Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-50/53		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	phenoxyphenyl)-1,3-oxazolidin-2,4-dion					S: (2-)46-60-61		
612-209-00-X	6-Methoxy-*m*-toluidin *p*-cresidin	E	204-419-1	120-71-8	Carc.Cat.2; R45 Xn; R22	T R: 45-22 S: 53-45		
612-210-00-5	5-Nitro-*o*-toluidin [1] 5-Nitro-*o*-toluidin-Hydrochlorid [2]		202-765-8 [1] 256-960-8 [2]	99-55-8 [1] 51085-52-0 [2]	Carc.Cat.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	N-[(Benzotriazol-1-yl)methyl)]-4-carboxybenzolsulfonamid		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-trifluormethylanilin		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	Isobutyliden-(2-(2-isopropyl-4,4-dimethyloxazolidin-3-yl)-1,1-dimethylethyl)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-Diphenylethenyl)-N,N-diphenylbenzolamin		421-390-2	89114-90-9	R 53	R: 53 S: 61		
612-215-00-2	3-Chlor-2-(isopropylthio)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-Methoxy-2-propylamin		422-550-4	37143-54-7	F; R11 C; R34 Xn; R22 R52-53	F; C R: 11-22-34-52/53 S: (1/2-)9-26-36/37/39-45-61		
613-181-00-1	5,5-Dimethyl-perhydro-pyrimidin-2-on-α-(4-trifluormethylstyryl)-α-(4-trifluormethyl)cinnamylidenhydrazon		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-Naphthylmethyl)quinoliniumchlorid		406-220-7	65322-65-8	Carc.Cat.3; R40 Muta.Cat.3; R68 Xn; R22 Xi; R38-41 R 52-53	Xn R: 22-38-40-41-52/53-68 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
613-183-00-2	Gemisch aus: 5-(N-Methylperfluoroctylsulfonamido)methyl-3-octadecyl-1,3-		413-640-4	-	Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-50/53 S: (2-)36-60-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	oxazolidin-2-on und 5-(N-Methylperfluorheptylsulfonamido)methyl-3-octadecyl-1,3-oxazolidin-2-on							
613-184-00-8	Nitrilotriethylenammoniopropan-2-ol-2-ethylhexanat		413-670-8	-	Xi; R36 R 43	Xi R: 36-43 S: (2-)24-26-37		
613-185-00-3	2,3,5,6-Tetrahydro-2-methyl-2H-cyclopenta[d]-1,2-thiazol-3-on		407-630-9	82633-79-2	T; R25 Xi; R41 R 43 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-(tert-Butyldimethylsiloxy)ethyl)-4-oxoazetidin-2-ylacetat		408-050-9	76855-69-1	Xi; R36 R 43 N; R51-53	Xi; N R: 36-43-51/53 S: (2-)24-26-37-61		
613-188-00-X	1-(3-(4-Fluorphenoxy)propyl)-3-methoxy-4-piperidinon		411-500-7	116256-11-2	Xn; R22 Xi; R41 R 43 N; R51-53	Xn; N R: 22-41-43-51/53 S: (2-)22-24-26-37/39-61		
613-189-00-5	1,4,7,10-Tetrakis(p-toluensulfonyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan		414-030-0	52667-88-6	R 43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		
613-190-00-0	Dinatrium-1-amino-4-(2-(5-chlor-6-fluor-pyrimidin-4-ylamino-methyl)-4-methyl-6-sulfo-phenylamino)-9,10-dioxo-9,10-dihydro-anthracen-2-sulfonat		414-040-5	149530-93-8	Xn; R22 R 43	Xn R: 22-43 S: (2-)22-24-37		
613-191-00-6	3-Ethyl-2-methyl-2-(3-methylbutyl)-1,3-oxazolidin		421-150-7	143860-04-2	Repr.Cat.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-(dimethylammonio)propylsulfamoyl]-[(6-hydroxy-4,4,8,8-tetramethyl-4,8-diazoniaundecan-1,11-diyldisulfamoyl)di[phthalocyanin kupfer(II)]]heptalactat		414-930-3	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
613-194-00-2	6,13-Dichlor-3,10-bis{2-[4-fluor-6-(2-sulfophenylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino]propylamino}benzo[5,6]		418-000-8	163062-28-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	|1,4|oxazino|2,3-.b.|phenoxazin-4,11-disulfonsäure, Lithium-, Natriumsalz							
613-195-00-8	2,2-(1,4-Phenylen)bis((4H-3,1-benzoxazin-4-on)		418-280-1	18600-59-4	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
613-196-00-3	5-[|4-Chlor-6-[|2-[|4-fluor-6-[|5-hydroxy-6-[(4-methoxy-2-sulfophenyl)azo]-7-sulfo-2-naphthalinyl|amino]-1,3,5-triazin-2-yl|amino]-1-methylethyl|amino]-1,3,5-triazin-2-yl|amino]-3-[|4-(ethenylsulfonyl)phenyl|azo]-4-hydroxy-naphthalin-2,7-disulfonsäure, Natriumsalz		418-380-5	168113-78-8	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
613-197-00-9	Gemisch aus: 2,4,6-Tri(butylcarbamoyl)-1,3,5-triazin 2,4,6-Tri(methylcarbamoyl)-1,3,5-triazin |(2-Butyl-4,6-dimethyl)tricarbamoyl|-1,3,5-triazin und |(2,4-Dibutyl-6-methyl)tricarbamoyl|-1,3,5-triazin		420-390-1	187547-46-2	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		
613-199-00-X	Gemisch aus: 1,3,5-Tris(3-aminomethylphenyl)-1,3,5-(1H,3H,5H)-triazin-2,4,6-trion und Oligomerengemisch aus 3,5-Bis(3-aminomethylphenyl)-1-poly[3,5-bis(3-aminomethylphenyl)-2,4,6-trioxo-1,3,5-(1H,3H,5H)-triazin-1-yl]-1,3,5-(1H,3H,5H)-triazin-2,4,6-trion		421-550-1	-	Carc.Cat.2; R45 Repr.Cat.2; R61 R 43 R 52-53	T R: 45-61-43-52/53 S: 53-45-61		
613-200-00-3	Reaktionsprodukt von: Kupfer, (29H,31H-phthalocyaninato(2-)-N29,N30,N31,N32)-, chlorschwefelsäure und 3-(2-Sulfooxyethylsulfonyl)anilin, Natriumsalze		420-980-7	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
613-201-00-9	(R)-5-Brom-3-(1-methyl-2-		422-390-5	143322-57-0	Repr.Cat.3; R62	T; N		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	pyrrolidinylmethyl)-1H-indol				T; R39-48/25 Xn; R20/22 Xi; R41 R 43 N; R50-53	R: 20/22-39-41-43-48/25-62-50/53 S: (1/2-)53-45-60-61		
613-202-00-4	Pymetrozin (*E*)-4,5-Dihydro-6-methyl-4-(3-pyridylmethylenamino)-1,2,4-triazin-3(2*H*)-on		-	123312-89-0	Carc.Cat3; R40 R52-53	Xn R: 40-52/53 S: (2-)36/37-61		
613-203-00-X	Pyraflufen-Ethyl [1] Pyraflufen [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 3-[2,4-Dichlor-5-(2-propynyloxy)phenyl]-5-(1,1-dimethylethyl)-1,3,4-oxadiazol-2(3*H*)-on 5-*tert*-Butyl-3-[2,4-dichlor-5-(prop-2-ynyloxy)phenyl]-1,3,4-oxadiazol-2(3*H*)-on		254-637-6	39807-15-3	Repr.Cat3; R63 Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-63-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
613-205-00-0	Propiconazol (+)-1-[2-(2,4-Dichlorphenyl)-4-propyl-1,3-dioxolan-2-ylmethyl]-1*H*-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-)36/37-46-60-61		
613-206-00-6	Fenamidon (*S*)-5-Methyl-2-methylthio-5-phenyl-3-phenylamino-3,5-dihydroimidazol-4-on		-	161326-34-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-207-00-1	Imazalilsulfat, wässrige Lösung 1-[2-(Allyloxy)ethyl-2- (2,4-dichlorphenyl)]-1*H*-imidazoliumhydrogensulfat (±)-1-[2-(Allyloxy)ethyl-2- (2,4-dichlorphenyl)]-1*H*-imidazoliumhydrogensulfat		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-)26-36/37/39-45-60-61	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	

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
							0,25 % ≤ C < 1 %: R52-53	
613-208-00-7	Imazamox		-	114311-32-9	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-209-00-2	cis-1-(3-Chlorpropyl)-2,6-dimethyl-piperidinhydrochlorid		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	N-Methyl-4-(p-formylstyryl)pyridiniummethylsulfat		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)phenyl](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	cis-1-Senzoyl-4-[(4-methylsulfonyl)oxy]-L-prolin		416-040-0	120807-02-5	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
613-214-00-X	N,N-Di-n-butyl-2-(1,2-dihydro-3-hydroxy-6-isopropyl-2-chinolyliden)-1,3-dioxoindan-5-carboxamid		416-260-7	147613-95-4	R 53	R: 53 S: 61		
613-215-00-5	2-Chlormethyl-3,4-dimethoxypyridiniumchlorid		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-tert-Butyl-7-(6-diethylamino-2-methyl-3-pyridylimino)-3-(3-methylphenyl)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-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionyloxy]-1-[2-[3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydrophenyl)propionyloxy]ethyl]-2,2,6,6-tetramethylpiperidin		416-770-1	73754-27-5	R 53	R: 53 S: 61		
613-218-00-1	6-Hydroxyindol		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		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
613-219-00-7	7a-Ethyl-3,5-bis(1-methylethyl)-2,3,4,5-tetrahydrooxazolo[3,4-c]-2,3,4,5-tetrahydrooxazol		417-140-7	79185-77-6	Xi; R38 N; R51-53	Xi; N R: 38-51/53 S: (2-)37-61		
613-220-00-2	trans-(4S,6S)-5,6-Dihydro-6-methyl-4H-thieno[2,3-b]thiopyran-4-ol, 7,7-dioxid		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	18368-64-4	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-(1-Oxo-2-propenyl)-morpholin		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	N-Isopropyl-3-(4-fluorphenyl)-1H-indol		418-790-4	93957-49-4	R 53	R: 53 S: 61		
613-224-00-4	2,5-Dimercaptomethyl-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	Gemisch aus:[2-(Anthrachinon-1-ylamino)-6-[(5-benzoylamino)-anthrachinon-1-ylamino]-4-phenyl]-1,3,5-triazin und 2,6-Bis-[(5-benzoylamino)-anthrachinon-1-ylamino]-4-phenyl-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-(Ethyl(4-(4-(4-(ethyl(2-pyridinoethyl)amino)-2-methylphenylazo)benzoylamino)-phenylazo)-3-methylphenyl)amino)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	(+/-)-[(R*,R*) und (R*,S*)]-6-Fluor-3,4-dihydro-2-oxiranyl-2H-1-benzopyran		419-600-2	-	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-28-36/37-61		
613-228-00-6	(+/-)-(R*,S*)-6-Fluor-3,4-dihydro-2-oxiranyl-2H-1-benzopyran		419-630-6	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24-61		
613-230-00-7	Florasulam		-	145701-23-1	N; R50-53	N		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	2',6',8-Trifluor-5-methoxy-5-triazolo[1,5-c]pyrimidin-2-sulfonanilid					R: 50/53 S: 60-61		
613-233-00-3	4,4'-(Oxy-(bismethylen))-bis-1,3-dioxolan		423-230-7	56552-15-9	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
614-028-00-1	Gemisch aus: 2-Ethylhexyl-mono-D-glucopyranosid und 2-Ethylhexyl-di-D-glucopyranosid		414-420-0	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
614-029-00-7	Konstitutionsisomere von Penta-O-allyl-β-D-fructofuranosyl-α-D-glucopyranosid Konstitutionsisomere von Hexa-O-allyl-β-D-fructofuranosyl-α-D-glucopyranosid Konstitutionsisomere von Hepta-O-allyl-β-D-fructofuransoyl-α-D-glucopyranosid		419-640-0	68784-14-5	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)		
615-030-00-5	Alkalisalze, Erdalkalisalze und andere Salze der Thiocyansäure, soweit in diesem Anhang nicht gesondert aufgeführt	A	-	-	Xn; R20/21/22 R32 R52-53	Xn R: 20/21/22-32-52/53 S: (2-)13-61		
615-031-00-0	Thalliumsalz der Thiocyanisäure	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	Metallsalze der Thiocyansäure, soweit in diesem Anhang nicht gesondert aufgeführt	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	Polymerreaktionsprodukt aus Bicyclo[2.2.1]hepta-2,5-dien, Ethen, 1,4-Hexadien, 1-Propen und N,N-Di-2-propenylformamid		404-035-6	-	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
616-093-00-1	Reaktionsprodukte von: Anilin-Terephthalaldehyd-o-Toluidinkondensat mit Maleinsäureanhydrid		406-620-1	129217-90-9	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		
616-094-00-7	3,3'-Dicyclohexyl-1,1'-methylenbis(4,1-phenylen)diharnstoff		406-370-3	58890-25-8	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
616-095-00-2	3,3'-Dioctadecyl-1,1'-methylenbis(4,1-phenylen)diharnstoff		406-690-3	43136-14-7	R 53	R: 53 S: 61		
616-096-00-8	N-(3-Hexadecyloxy-2-hydroxyprop-1-yl)-N-(2-hydroxyethyl)palmitamid		408-110-4	110483-07-3	R 53	R: 53 S: 61		
616-097-00-3	N,N'-1,4-Phenylenbis(2-((2-methoxy-4-nitrophenyl)azo)-3-oxobutanamid		411-840-6	83372-55-8	R 53	R: 53 S: 61		
616-098-00-9	1-[4-Chlor-3-((2,2,3,3,3-pentafluorpropoxy)methyl)phenyl]-5-phenyl-1H-1,2,4-triazol-3-carboxamid		411-750-7	119126-15-7	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
616-099-00-4	2-[4-[(4-Hydroxyphenyl)sulfonyl]phenoxy]-4,4-dimethyl-N-[5-[(methylsulfonyl)amino]-2-[4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenoxy]phenyl]-3-oxopentanamid		414-170-2	135937-20-1	R 53	R: 53 S: 61		
616-100-00-8	1,3-Dimethyl-1,3-bis(trimethylsilyl)harnstoff		414-180-7	10218-17-4	Xn; R22 Xi; R38	Xn R: 22-38 S: (2-)36/37		
616-101-00-3	(S)-N-tert-Butyl-1,2,3,4-tetrahydro-3-isochinolincarboxamid		414-600-9	149182-72-9	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)61		
616-102-00-9	Gemisch aus: α-[3-(3-Mercaptopropanoxycarbonylamino)methylphenylaminocarbonyl]-ω-[3-(3-mercaptopropanoxycarbonylamino)methylphenylaminocarbonyloxy]-poly-(oxyethylen-co-oxypropylen), 1,2-(oder 1,3-)Bis[α-(3-mercaptopropanoxycarbonylamino)methylphenylaminocarbonyl)-ω-oxy-poly(oxyethylen-co-oxypropylen)]-3-(oder 2-)propanol und 1,2,3-Tris[α-(3-mercaptopropanoxycarbonyl-amino)methylphenylaminocarbon		415-870-0	-	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)36/37-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	yl)-ω-oxy-poly-(oxyethylen-co-oxypropylen)]propan]							
616-103-00-4	(S,S)-trans-4-(Acetylamino)-5,6-dihydro-6-methyl-7,7-dioxo-4H-thieno[2,3-b]thiopyran-2-sulfonamid		415-030-3	120298-38-6	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		
616-104-00-X	Benalaxyl Methyl *N*-(2,6-dimethylphenyl)-*N*-(phenylacetyl)-DL-alaninat		275-728-7	71626-11-4	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-105-00-5	Chlortoluron 3-(3-chlor-*p*-tolyl)-1,1-dimethylharnstoffe		239-592-2	15545-48-9	Carc. Cat. 3; R40 Repr. Cat. 3; R63 N; R50-53	Xn; N R: 40-63-50/53 S: (2-)36/37-26-46-60-61		
616-106-00-0	Phenmedipham (ISO) Methyl 3-(3-methylcarbaniloyloxy)carbanilat		237-199-0	13684-63-4	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-108-00-1	Iodosulfuron-methyl-natrium		-	144550-36-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-109-00-7	Sulfosulfuron 1-(4,6-Dimethoxypyrimidin-2-yl)-3-(2-ethylsulfonylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)sulfonylharnstoffe		-	141776-32-1	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-110-00-2	Cyclanilid 1-(2,4-Dichloranilinocarbonyl)cyclopropancarbonsäure		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		422-530-5	126833-17-8	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
616-112-00-3	Oxasulfuron Oxetan-3-yl 2-[(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl]-carbamoylsulfamoyl]benzoat		-	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	Desmedipham Ethyl 3-phenylcarbamoyloxyphenylcarbamat		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	Dodecanamid, N,N'-(9,9',10,10'-tetrahydro-9,9',10,10'-		418-010-2	136897-58-0	R53	R: 53		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	tetraoxo(1,1'-bianthracen)-4,4'-diyl)bis-					S: 22-61		
616-115-00-X	N-(3-Acetyl-2-hydroxyphenyl)-4-(4-phenylbutoxy)benzamid		416-150-9	136450-06-1	R 53	R: 53 S: 61		
616-116-00-5	N-(4-Dimethylaminopyridinium)-3-methoxy-4-(1-methyl-5-nitroindol-3-ylmethyl)-N-(o-tolylsulfonyl)benzamidat		416-790-9	-	R 53	R: 53 S: 61		
616-117-00-0	N-[2-(3-Acetyl-5-nitrothiophen-2-ylazo)-5-diethylaminophenyl]acetamid		416-860-9	-	Repr.Cat.3; R62 R43 N; R50-53	Xn; N R: 43-62-50/53 S: (2-)22-36/37-60-61		
616-118-00-6	N-(2',6'-Dimethylphenyl)-2-piperidincarboxamidhydrochlorid		417-950-0	65797-42-4	Xn; R22 R52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		
616-119-00-1	2-(1-Butyl-3,5-dioxo-2-phenyl-(1,2,4)-triazolidin-4-yl)-4,4-dimethyl-3-oxo-N-(2-methoxy-5-(2-(dodecyl-1-sulfonyl))propionylamino)-phenyl)-pentanamid		418-060-5	118020-93-2	R 53	R: 53 S: 61		
616-120-00-7	Gemisch aus: N-(3-Dimethylamino-4-methyl-phenyl)-benzamid, N-(3-Dimethylamino-2-methyl-phenyl)-benzamid und N-(3-Dimethylamino-3-methyl-phenyl)-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-methoxyphenyl)benzamid		419-090-1	129205-19-2	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		
616-123-00-3	N-[3-[[4-(Diethylamino)-2-methylphenyl]imino]-6-oxo-1,4-cyclohexadienyl]acetamid		414-740-0	96141-86-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-124-00-9	Lithium-bis(trifluormethylsulfonyl)imid		415-300-0	90076-65-6	T; R24/25 C; R34 R 52-53	T R: 24/25-34-52/53 S: (1/2-)22-26-36/37/39-45-61		
616-125-00-4	3-Cyano-N-(1,1-dimethylethyl)androsta-3,5-dien-17-β-carboxamid		415-730-9	151338-11-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-127-00-5	Gemisch aus: N,N'-Ethan-1,2-		430-050-2	-	R43	Xi; N		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	diylbis(decanamid), 12-Hydroxy-N-[2-[1-oxydecyl)amino]ethyl]octadecanamid und N,N'-Ethan-1,2-diylbis(12-hydroxyoctadecanamid)				N; R51-53	R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		
616-128-00-0	N-(2-(1-Allyl-4,5-dicyanoimidazol-2-ylazo)-5-(dipropylamino)phenyl)-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)isophthalamid		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-dioxo-imidazolin-1-yl)-4,4-dimethyl-3-oxo-pentanoylamino)-4-methoxy-phenyl)-octadecanamid		421-780-2	150919-56-5	R53	R: 53 S: 61		
616-132-00-2	N-[4-(4-Cyano-2-furfuryliden-2,5-dihydro-5-oxo-3-furyl)phenyl]butan-1-sulfonamid		423-250-6	130016-98-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-133-00-8	N-Cyclohexyl-S,S-dioxobenzo[b]tiophen-2-carboxamid		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(dioctyloxythiophosphinoylthio)-N,N'-oxybis(methylen)dipropionamid		401-820-5	-	R52-53	R: 52/53 S: 61		
616-135-00-9	(3S,4aS,8aS)-2-[(2R,3S)-3-Amino-2-hydroxy-4-phenylbutyl]-N-tert-butyldecahydroisochinolin-3-carboxamid		430-230-0	136522-17-3	Xn; R22 R52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		
616-142-00-7	1,3-Bis(vinylsulfonylacetamido)propane		428-350-3	93629-90-4	Muta.Cat.3; R68 Xi; R41 R 43 R 52-53	Xn R: 41-43-68-52/53 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
616-143-00-2	N,N'-Dihexadecyl-N,N'-bis(2-hydroxyethyl)propandiamid		422-560-9	149591-38-8	Xn; Repr. Cat. 3; R62 Xi; R36 R53	Xn R: 62-36-53 S: (2-)26-36/37-61		
617-018-00-5	Gemisch aus: 1-Methyl-1-(3-(1-methylethyl)phenyl)ethyl-1-		410-840-3	71566-50-2	O; R7 N; R51-53	O; N R: 7-51/53		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
	methyl-1-phenylethylperoxid, 63 GHT und 1-Methyl-1-(4-(1-methylethyl)phenyl)ethyl-1-methyl-1-phenylethylperoxid, 31 GHT					S: (2-)3/7-14-36/37/39-61		
617-019-00-0	6-(Phthalimid)peroxyhexansäure		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-Di(prop-2,2-diyl)benzen bis(neodecanoylperoxid)		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	Reaktionsprodukt aus: Polyethylen-polyamin-(C16-C18)-alkylamiden mit Monothio-(C2)-alkylphosphonaten		417-450-2	-	Xi; R36/38 R43 R52-53	Xi R: 36/38-43-52/53 S: (2-)24-26-37-61		
650-043-00-X	Reaktionsprodukt aus: 3,5-Bis-tert-butylsalicylsäure und Aluminiumsulfat		420-310-3	-	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)22-56-60-61		
650-044-00-5	gemischte lineare und verzweigte C14-15 Alkohole ethoxyliert, reaktionsprodukt mit epichlorhydrin		420-480-9	158570-99-1	Xi; R38 R43 N; R50-53	Xi; N R: 38-43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		
650-045-00-0	Reaktionsprodukt aus: 1,2,3-Propantricarbonsäure, 2-hydroxy, Diethylester, 1-Propanol und Zirkonium-tetra-n-propanolat		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	Di(tetramethylammonium)(29H,31H-phthalocyanin-N29,N30,N31,N32)disulfonamid disulfonat, cuprat(2-)komplex, derivate		416-180-2	-	Xn; R22-48/22 N; R51-53	Xn; N R: 22-48/22-51/53 S: (2-)22-36-61		
650-047-00-1	Dibenzylphenylsulfonium hexafluorantimonat		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	Reaktionsprodukt aus: Borax, Wasserstoffperoxid, Acetanhydrid und Essigsäure		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-		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
					N; R50	36/37/39-45-61		
650-049-00-2	2-Alkoyloxyethylhydrogenmaleat, wobei Alkoyl (gewichtsmäßig) zu 70 bis 85% aus ungesättigtem Octadecoyl, zu 0,5 bis 10% aus gesättigtem Octadecoyl und zu 2 bis 18% aus gesättigtem Hexadecoyl besteht		417-960-5	-	Xi; R38-41 R43 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
650-050-00-8	Gemisch aus: 1-Methyl-3-hydroxypropyl 3,5-[1,1-dimethylethyl]-4-hydroxydihydro-cinnamat und/oder 3-hydroxybutyl 3,5-[1,1-dimethylethyl]-4-hydroxydihydrocinnamat, 1,3-butandiol-bis[3-(3'-(1,1-dimethylethyl)4'-hydroxy-phenyl)propionat] isomere und 1,3-butandiol-bis[3-(3',5'-(1,1-dimethylethyl)-4'-hydroxyphenyl)propionat] isomere		423-600-8	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
650-055-00-5	Silbernatriumzirkoniumhydrogen phosphat		422-570-3	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

Index No	chemischer Name	Anmerkungen zu Stoffen	EC Nr	CAS Nr	Einstufung	Kennzeichnung	Konzentrationsgrenzen	Anmerkungen zu Zubereitungen
048-002-00-0	Cadmium (stabilisiert) [1] Cadmiumoxid (stabilisiert) [2]	E	231-152-8 [1] 215-146-2 [2]	7440-43-9 [1] 1306-19-0 [2]	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 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	Cadmium (pyrophor)	E	231-152-8	7440-43-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62-63 T; R48/23/25 T+; R26 F; R17 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	4-Nitrotoluol	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	2-Nitrotoluol	E	201-853-3	88-72-2	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 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-Ethoxyanilin *o*-Phenetidin	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-Ethoxyanilin *p*-Phenetidin		205-855-5	156-43-4	Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20/21/22 Xi; R36 R43	Xn R: 20/21/22-36-43-68 S: (2-)36/37-46		

ANHANG 2A

A.21. BRANDFÖRDERNDE EIGENSCHAFTEN (FLÜSSIGE STOFFE)

1. VERFAHREN

1.1 EINLEITUNG

Mit diesem Prüfverfahren soll festgestellt werden, inwieweit ein flüssiger Stoff die Verbrennungsgeschwindigkeit oder die Verbrennungsintensität eines brennbaren Stoffes erhöhen kann oder ein Gemisch mit einem brennbaren Stoff bilden kann, welches sich spontan entzündet, wenn beide sorgfältig gemischt werden. Es beruht auf dem UN-Test auf brandfördernde (oxidierende) Eigenschaften für flüssige Stoffe (1) und ist ihm gleichwertig. Da dieses Verfahren A.21 jedoch in erster Linie für die Anforderungen der Richtlinie 67/548/EWG eingeführt wurde, ist lediglich der Vergleich mit einem Referenzstoff vorgeschrieben. Weitere Tests und der Vergleich mit zusätzlichen Referenzstoffen können erforderlich sein, wenn die Testergebnisse für andere Zwecke verwendet werden sollen[1].

Dieser Test muss nicht durchgeführt werden, wenn anhand der Strukturformel hinreichend nachgewiesen wurde, dass der Stoff mit anderen brennbaren Stoffen nicht exotherm reagieren kann.

Es ist nützlich, Vorausinformationen über die potenziellen explosiven Eigenschaften der Stoffe zu haben, bevor dieser Test durchgeführt wird.

Dieser Test ist nicht auf feste Stoffe, Gase, explosive oder leichtentzündliche Stoffe oder auf organische Peroxide anwendbar.

Dieser Test muss nicht durchgeführt werden, wenn bereits Ergebnisse für den getesten Stoff aus dem UN-Test auf brandfördernde (oxidierende) Eigenschaften für flüssige Stoffe (1) vorliegen.

1.2 DEFINITIONEN UND EINHEITEN

Die durchschnittliche Druckanstiegszeit ist der Durchschnitt der gemessenen Zeiten, die vergehen, bis ein Gemisch bei einem Test einen Druckanstieg von 690 kPa auf 2070 kPa über atmosphärischem Druck erzeugt.

1.3 REFERENZSTOFF

Als Referenzstoff ist 65% (w/w) Salpetersäure in wässeriger Lösung (analysenrein) erforderlich.[2] Wenn der Experimentator davon ausgeht, dass die Ergebnisse dieses Tests auch für andere Zwecke verwendet werden sollen,[1] kann die Prüfung zusätzlicher Referenzstoffe sinnvoll sein.[3]

1.4 PRINZIP DES PRÜFVERFAHRENS

Die Testflüssigkeit wird in einem Massenverhältnis von 1:1 mit Fasercellulose gemischt und in ein Druckgefäß gefüllt. Kommt es beim Mischen oder beim Einfüllen spontan zur Entzündung, sind keine weiteren Tests mehr nötig.

Kommt es nicht spontan zur Entzündung, so wird der gesamte Test durchgeführt. Das Gemisch wird in einem Druckgefäß erhitzt, und die Zeit, die im Durchschnitt vergeht, bis der Druck von 690 kPa auf 2070 kPa über atmosphärischen Druck angestiegen ist, wird ermittelt. Diese Zeit wird mit der durchschnittlichen Druckanstiegszeit für das 1:1 Gemisch des/der Referenzstoffe(s) und der Cellulose verglichen.

1.5 QUALITÄTSKRITERIEN

In fünf hintereinander erfolgten Prüfungen mit ein und demselben Stoff sollten die Ergebnisse um nicht mehr als 30 % vom arithmetischen Mittel abweichen. Ergebnisse, die um mehr als 30% abweichen, sind nicht zu berücksichtigen, Misch- und Einfüllverfahren sollten verbessert und die Testreihe sollte wiederholt werden.

---

[1] Beispielsweise im Rahmen der UN-Beförderungsbestimmungen

[2] Die Säure ist vor dem Test zu titrieren, um die genaue Konzentraton zu überprüfen.

[3] z.B.: 50% (w/w) Perchlorsäure und 40% (w/w) Natriumchlorat werden in Bezugsdokument 1 verwendet.

1.6 BESCHREIBUNG DES VERFAHRENS

1.6.1 **Vorbereitung**

1.6.1.1 *Brennbarer Stoff*

Getrocknete Fasercellulose mit einer Faserlänge von 50 bis 250 µm und einem durchschnittlichen Durchmesser von 25 µm [4] (Anm.: der Verweis auf die Fußnote kann hier mißverstanden werden, besser wäre, die Fußnotennummern z.B. als „(4)" hochgestellt anzugeben) wird als brennbares Material verwendet. Sie wird in einer Schicht von nicht mehr als 25 mm Dicke bei 105 °C 4 Stunden lang bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und in einem Exsikkator mit Trocknungsmittel aufbewahrt, bis sie vollkommen abgekühlt ist und benötigt wird. Der Wassergehalt der getrockneten Cellulose sollte weniger als 0,5% der Trockenmasse[5] betragen. Gegebenenfalls sollte die Trocknungszeit verlängert werden.[6] Während des gesamten Tests ist Cellulose aus derselben Vorbereitungsprozedur zu verwenden.

1.6.1.2 *Apparatur*

1.6.1.2.1 *Druckgefäß*

Ein Druckgefäß ist erforderlich. Das Gefäß besteht aus einem zylindrischen Druckgefäß aus Stahl von einer Länge von 89 mm und einem Außendurchmesser von 60 mm (siehe Abbildung 1). Seitlich ist der Kolben an zwei gegenüberliegenden Seiten abgeflacht (wo sich der Durchmesser des Gefäßes auf 50 mm verringert), um die Handhabung bei der Einführung von Zündstopfen und Entlüftungsstopfen zu erleichtern. Das Gefäß, das eine Bohrung von 20 mm im Durchmesser hat, ist an einem Ende in einer Tiefe von 19 mm vergrößert und mit einem Gewinde versehen, so dass ein 1" British Standard Pipe (BSP) oder eine metrische Entsprechung eingeführt werden kann. Ein Druckablassarm wird in die nicht abgeflachte Seite des Druckgefäßes 35 mm von einem Ende und im Winkel von 90° zu den abgeflachten Seiten eingeschraubt. Dazu ist eine Bohrung von 12 mm Tiefe vorgesehen, die mit einem Gewinde versehen ist, in das das 1/2" BSP-Gewinde (oder metrische Entsprechung) am unteren Ende des Seitenarms eingeschraubt werden kann. Gegebenenfalls wird eine Dichtung aus inertem Material angebracht, um den Arm gasundurchlässig zu machen. Der Seitenarm ragt 55 mm aus dem Druckgefäß heraus und hat eine Bohrung von 6 mm. Das Ende des Seitenarms ist vergrößert und mit einem Gewinde versehen, so dass ein Membrandruckaufnehmer eingeschraubt werden kann. Jedes beliebige Druckmessgerät kann verwendet werden, sofern es gegen die heißen Gase oder Spaltprodukte beständig ist und auf eine Druckanstiegsgeschwindigkeit von 690-2070 kPa in höchstens 5 ms anspricht.

Das weiter vom Seitenarm entfernte Ende wird mit einem Zündstopfen verschlossen, an den zwei Elektroden angebracht sind. Die eine ist vom Stopfen isoliert, die andere ist über diesen geerdet . Das andere Ende des Druckgefäßes wird mit einer Berstscheibe (Berstdruck rund 2200 kPa) verschlossen, die von einem Stopfen mit einer Bohrung von 20 mm gehalten wird. Gegebenenfalls wird am Zündstopfen eine Dichtung aus inertem Material verwendet, um Gasunduchlässigkeit zu gewährleisten. Ein Ständer (Schaubild 2) hält die Vorrichtung beim Gebrauch in der richtigen Position. Er besteht in der Regel aus einer Weichstahl-Grundplatte mit der Abmessung 235 mm x 184 mm x 6 mm und einem 185 mm langen quadratischen Hohlkörper mit der Abmessung 70 mm x 70 mm x 4 mm.

Von zwei gegenüberliegenden Seiten des Hohlkörpers wird an einem Längsende jeweils ein Seitenteil abgeschnitten, so dass ein Gestell mit zwei flachwandigen Beinen und einem 86 mm langen ganzen Kasten darauf entsteht. Die Enden dieser flachwandigen Beine werden in einem Winkel von 60° zur Horizontalen abgeschnitten und an die Grundplatte angeschweißt. Ein 22 mm weiter und 46 mm tiefer Spalt wird in eine Seite am oberen Ende des Kastens geschnitten, so dass bei der Einführung der Druckgefäßvorrichtung mit dem Zündstopfen voran in den Kastenteil der Vorrichtung der Seitenarm in den Spalt passt. Ein Stahlstück von 30 mm Länge und 6 mm Dicke wird als Zwischenstück unten an der Innenseite des Kastens angeschweißt. Zwei Flügelschrauben von 7 mm sind an der gegenüberliegenden Seite eingeschraubt und halten das Druckgefäß. Zwei 12 mm breite Streifen von 6 mm dickem Stahl, die an die Seitenteile am Boden des Kastens angeschweißt sind, halten das Druckgefäß von unten.

[4] z.B. Cellulosestaub aus der Whatman-Säulen-Chromatographie CF 11, Katalognr. 4021 050

[5] was beispielsweise durch Karl-Fischer-Titration zu bestätigen ist

[6] Als Alternative kann der Wassergehalt beispielsweise auch durch Vakuumerhitzen auf 105 °C während 24 Stunden erreicht werden.

1.6.1.2.2 *Zündvorrichtung*

Die Zündvorrichtung besteht aus einem 25 cm langem Ni/Cr Draht mit einem Durchmesser von 0,6 mm und einem Widerstand von 3,85 ohm/m. Der Draht wird mit Hilfe eines Stabes von 5 mm Durchmesser zu einer Wendel gedreht und wird an den am Zündstopfen befindlichen Elektroden befestigt. Die Wendel sollte einer der Darstellungen in Abbildung 3 entsprechen. Die Unterseite der Zündwendel sollte 20 mm vom Boden des Gefäßes entfernt sein. Wenn die Elektroden nicht nachstellbar sind, sollten die Enden des Zünddrahtes zwischen der Wendel und dem Boden des Gefäßes mit einer Keramikumhüllung isoliert werden. Der Draht wird durch konstante Stromversorgung von mindestens 10 A erhitzt.

1.6.2 **Durchführung des Tests**[7]

Die Apparatur, die komplett mit Druckaufnehmer und Heizsystem montiert ist, bei der jedoch die Berstscheibe nicht eingeführt ist, wird mit dem Zündstopfen nach unten auf dem Ständer befestigt. 2,5 g der zu testenden Flüssigkeit wird mit 2,5 g getrockneter Cellulose in einem Becherglas mit einem Rührstab aus Glas gemischt[8]. Aus Sicherheitsgründen sollte der Mischvorgang mit einem Schutzschirm zwischen Experimentator und Gemisch durchgeführt werden. Entzündet sich das Gemisch beim Mischen oder beim Einfüllen, sind keine weiteren Tests erforderlich. Das Gemisch wird in kleinen Portionen mit leichtem Klopfen in das Druckgefäß gefüllt, wobei darauf geachtet werden muss, dass das Gemisch die Zündwendel ausreichend umhüllt und damit ein guter Kontakt gewährleistet ist. Es ist wichtig, dass sich die Wendel während des Füllens nicht verformt, da das zu falschen Ergebnissen führen kann[9]. Die Berstscheibe wird in die vorgesehene Druckgefäßöffnung eingelegt und mit dem Halterungsstopfen fest eingeschraubt. Das gefüllte Gefäß wird auf den Ständer montiert, wobei das Ende mit der Berstscheibe nach oben zeigt. Der Ständer sollte sich in einem geeigneten gepanzerten Abzugsschrank oder in einer Brennkammer befinden. Das Stromkabel ist an den äußeren Anschlusssteckern am Zündstopfen angeschlossen. Die Stromstärke beträgt 10 A. Zwischen dem Beginn des Mischens und dem Anschalten des Stroms sollten nicht mehr als 10 Minuten vergehen.

Das vom Druckaufnehmer erzeugte Signal wird durch ein geeignetes Messdatenerfassungssystem aufgezeichnet, das sowohl die Messung als auch die Aufzeichnung eines Zeit-Druck-Profils ermöglicht (z.B. ein Transientenrecorder in Verbindung mit einem grafischen Drucker). Das Gemisch wird mindestens 60 s lang oder so lange, bis die Berstscheibe aufreißt, erhitzt. Reißt die Scheibe nicht auf, so sollte man das Gemisch abkühlen lassen, bevor die Apparatur vorsichtig abgebaut werden kann, wobei Vorkehrungsmaßnahmen gegen einen eventuellen Druckaufbau getroffen werden sollten. Es werden fünf Prüfgänge mit dem Prüfstoff und dem/den Referenzstoff(en) durchgeführt. Es wird festgehalten, wieviel Zeit vergeht, bis der Druck von 690 kPa auf 2070 kPa über atmosphärischem Druck steigt. Die durchschnittliche Druckanstiegszeit wird berechnet.

In manchen Fällen können Stoffe einen (zu hohen oder zu niedrigen) Druckanstieg erzeugen, der nicht auf die brandfördernden Eigenschaften des Stoffes zurückzuführen ist. In diesen Fällen muss der Test gegebenenfalls mit einem inerten Stoff, z.B. Diatomit (Kieselgur), anstelle der Cellulose wiederholt werden, um die Art der Reaktion festzustellen.

[7] Gemische von Oxidationsmitteln und Cellulose sind als potenziell explosiv zu behandeln und mit Vorsicht zu handhaben

[8] Dazu kann auch ein Gemisch der zu testenden Flüssigkeit und der Cellulose im Verhältnis 1:1 in größerer Menge zubereitet werden, wovon dann 5 ± 0,1 g in das Druckgefäß gefüllt werden. Das Gemisch ist für jeden Prüfgang frisch zuzubereiten.

[9] Insbesondere muss vermieden werden, dass nebeneinander liegende Schleifen der Wendel miteinander in Kontakt kommen.

2 **DATEN**

Druckanstiegszeiten für die Testsubstanz und den/die Referenzstoff(e). Druckanstiegszeiten für die Tests mit einem inerten Stoff, soweit durchgeführt.

2.1 ERGEBNISVERARBEITUNG

Sowohl für die Testsubstanz als auch für den/die Referenzstoff(e) werden die durchschnittlichen Druckanstiegszeiten berechnet.

Die durchschnittliche Druckanstiegszeit wird für die Tests mit einem inerten Stoff berechnet (sofern durchgeführt).

In Tabelle 1 sind einige Ergebnisbeispiele aufgeführt.

Tabelle 1
Ergebnisbeispiele [d]

Stoff [c]	**Durchschnittliche Druckanstiegszeit für ein 1:1 Gemisch mit Cellulose (ms)**
Ammoniumdichromat, gesättigte wässerige Lösung	20800
Calciumnitrat, gesättigte wässerige Lösung	6700
Eisentrinitrat, gesättigte wässerige Lösung	4133
Lithiumperchlorat, gesättigte wässerige Lösung	1686
Magnesiumperchlorat, gesättigte wässerige Lösung	777
Nickelnitrat, gesättigte wässerige Lösung	6250
Salpetersäure, 65 %	4767 [a]
Perchlorsäure, 50 %	121 [a]
Perchlorsäure, 55 %	59
Kaliumnitrat, 30 % wässerige Lösung	26690
Silbernitrat, gesättigte wässerige Lösung	- [b]
Natriumchlorat, 40 % wässerige Lösung	2555 [a]
Natriumnitrat, 45 % wässerige Lösung	4133
Inerter Stoff	
Wasser:Cellulose	- [b]

a) Durchschnittswert aus Testreihen verschiedener Labors
b) Höchstdruck von 2070 kPa nicht erreicht
c) gesättigte Lösungen sollten bei 20 °C zubereitet werden
d) Siehe Bezugsdokument (1) zur Klassifizierung nach den Beförderungsbestimmungen der UN

3 BERICHT

3.1 PRÜFBERICHT

Der Prüfbericht sollte folgende Angaben enthalten:

— Art der Testsubstanz, ihre Zusammensetzung, ihre Reinheit usw.;
— Konzentration der Testsubstanz;
— das für die Cellulose verwendete Trocknungsverfahren;
— den Wassergehalt der verwendeten Cellulose;
— die Messergebnisse;
— gegebenenfalls die Ergebnisse der Tests mit einem inerten Stoff;
— die errechneten durchschnittlichen Druckanstiegszeiten;
— eventuelle Abweichungen von diesem Verfahren unter Angabe der Gründe;
— sämtliche zusätzlichen Informationen oder Bemerkungen, die für die Analyse der Ergebnisse relevant sind.

3.2 ANALYSE DER ERGEBNISSE[10]

Bei der Bewertung der Prüfergebnisse ist Folgendes zu beachten:

a) ob sich das Gemisch von Testsubstanz und Cellulose spontan entzündet; und

b) der Vergleich der durchschnittlichen Zeit, bis der Druck von 690 kPa auf 2070 kPa gestiegen ist, mit der Druckanstiegszeit des/der Referenzstoffe(s).

Ein flüssiger Stoff wird als brandfördernd beurteilt , wenn:

a) ein Gemisch des Stoffes und der Cellulose mit einem Massenverhältnis von 1:1 spontan in Brand gerät oder

b) ein Gemisch des Stoffes und der Cellulose mit einem Massenverhältnis von 1:1 eine durchschnittliche Druckanstiegszeit von höchstens der durchschnittlichen Druckanstiegszeit aufweist wie ein Gemisch 65%iger Salpetersäure (w/w) in wässeriger Lösung und Cellulose im Massenverhältnis von 1:1.

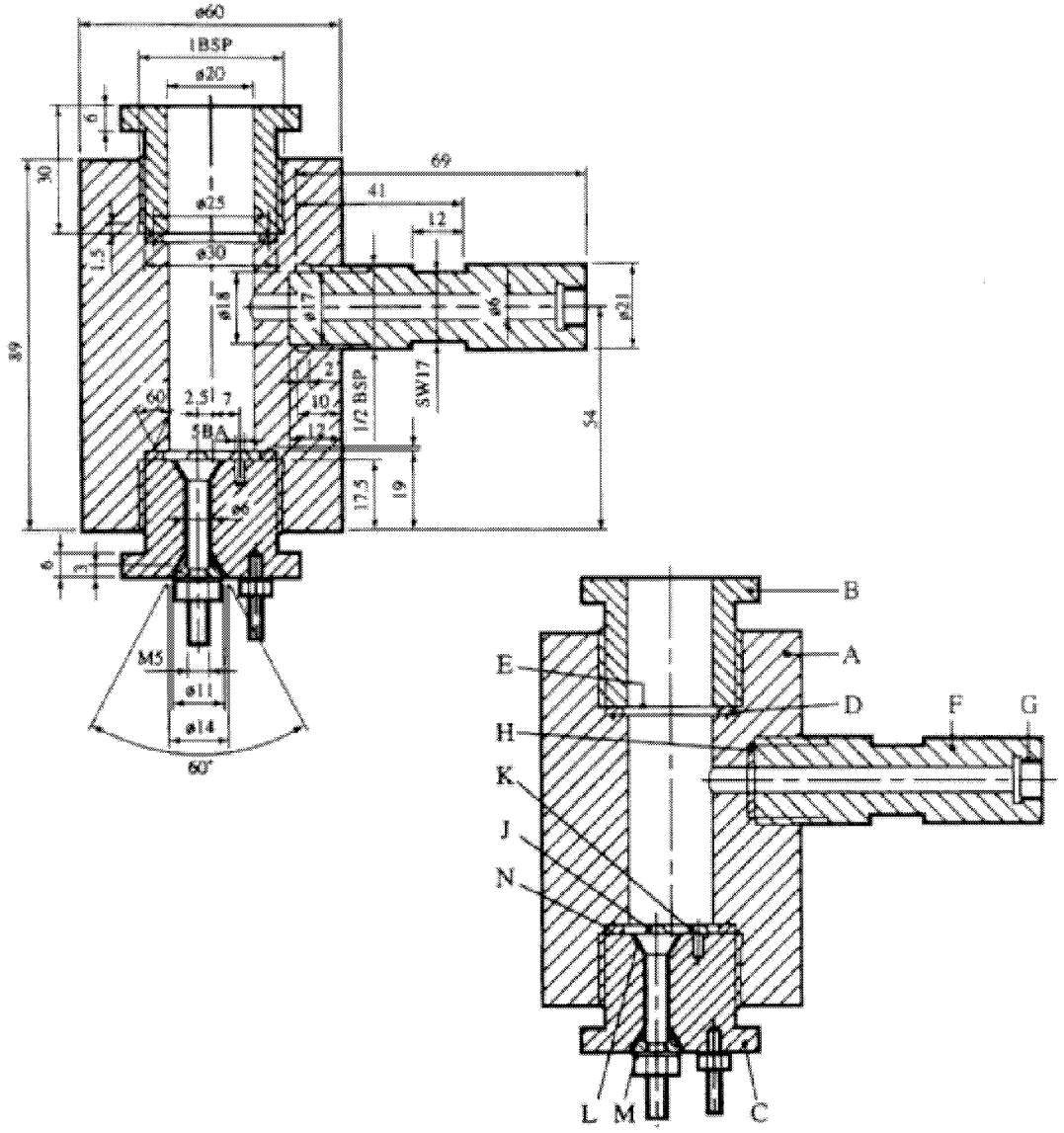
Um falsche positive Ergebnisse zu vermeiden, sollten die beim Test des Stoffes mit einem inerten Stoff erhaltenen Ergebnisse in die Analyse der Ergebnisse mit einbezogen werden.

4 BEZUGSDOKUMENTE

(1) UN-Empfehlungen für die Beförderung gefährlicher Güter, Test- und Kriterienhandbuch, 3. geänderte Ausgabe. UN-Veröffentlichungsnummer: ST/SG/AC.10/11/Rev. 3, 1999, Seite 342. Test O.2: auf oxidierende Eigenschaften für flüssige Stoffe.

[10] Siehe Bezugsdokument 1 zur Analyse der Ergebnisse nach den Beförderungsbestimmungen der UN bei Verwendung verschiedener Referenzstoffe.

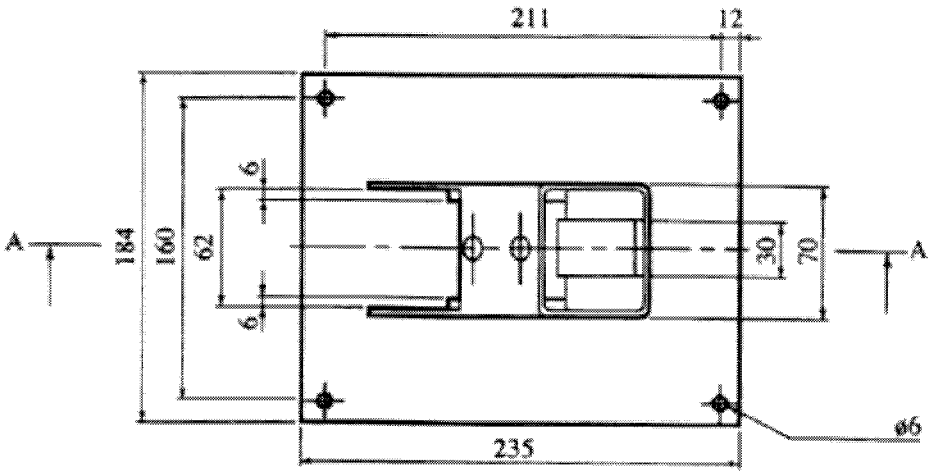
Abbildung 1
Druckgefäß



(A) Druckgefäßgehäuse (B) Berstscheibenhalterungsstopfen (C) Zündstopfen
(D) Dichtung aus inertem Material (z.B. Weichblei) (E) Berstscheibe (F) Seitenarm
(G) Druckübertragerkopf (H) Unterlegscheibe (J) Isolierte Elektrode
(K) geerdete Elektrode (L) Isolierung (M) Stahlconus
(N) Dichtungsfuge

Abbildung 2

Ständer



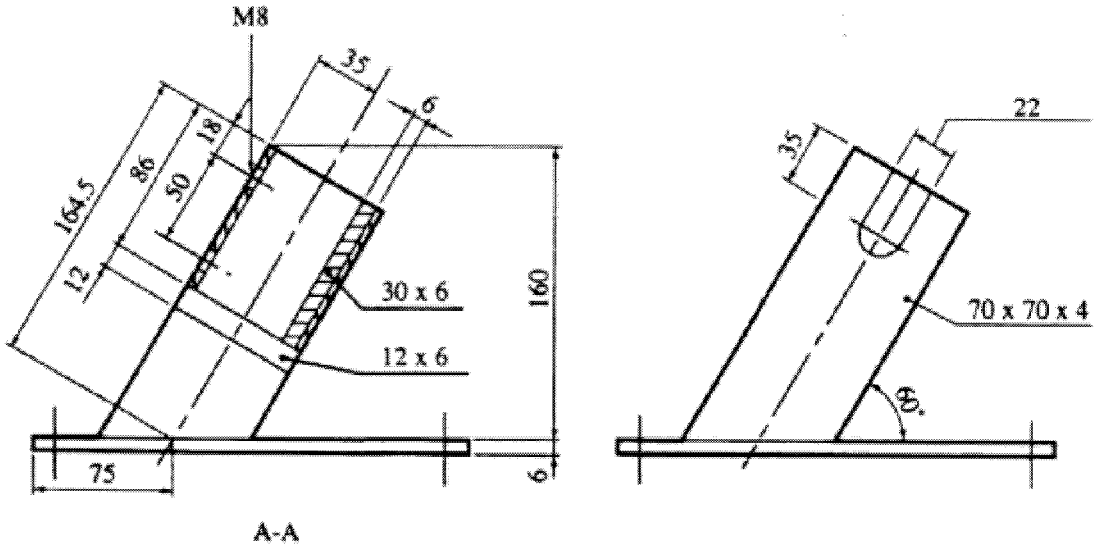
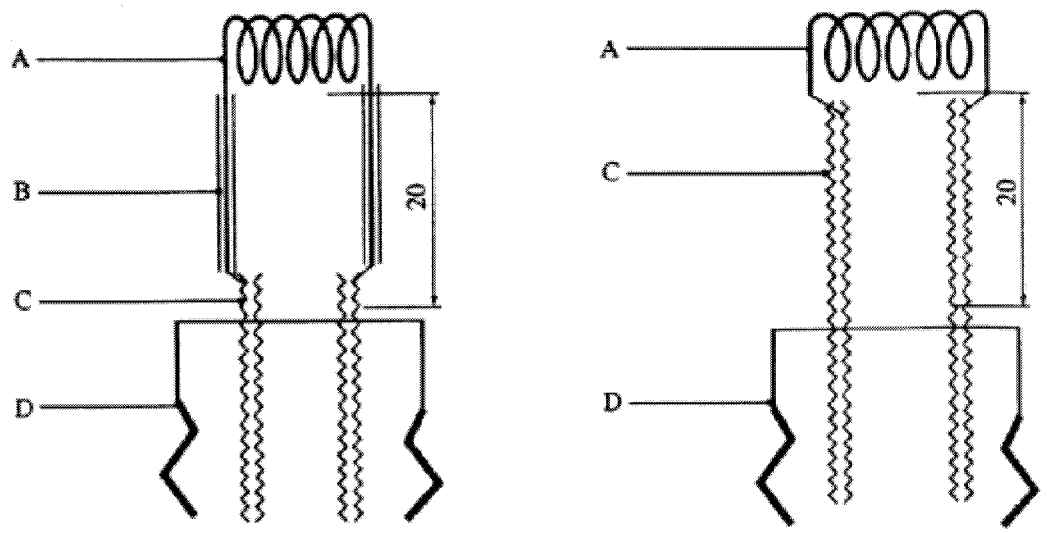


Abbildung 3

Zündvorrichtung



(A) Zündwendel (B) Isolierung (C) Elektroden (D) Zündstopfen

Anmerkung: Eines diesers Systeme kann verwendet werden

ANHANG 2B

B.1 bis - AKUTE ORALE TOXIZITÄT – FEST-DOSIS-METHODE

1. METHODE

Diese Prüfmethode entspricht der OECD TG 420 (2001).

1.1 EINLEITUNG

Herkömmliche Methoden zur Bewertung der akuten Toxizität verwenden den Tod der Versuchstiere als Endpunkt. 1984 hat die British Toxicology Society einen neuen Ansatz zur Bewertung der akuten Toxizität vorgeschlagen, der von der Verabreichung einer Serie fester Dosen ausging (1). Dieser Ansatz bezog sich nicht auf den Tod der Versuchstiere als Endpunkt, sondern stützte sich auf die Beobachtung deutlicher Toxizitätszeichen, die bei einer bestimmten Dosis aus einer Serie fester Dosierungen auftraten. Nach *In-vivo*-Validierungsstudien im Vereinigten Königreich (2) sowie in internationalem Rahmen (3) wurde im Jahre 1992 als Prüfmethode anerkannt. Später wurden die statistischen Eigenschaften der Fest-Dosis-Methode mit Hilfe mathematischer Modelle in einer Reihe von Studien berechnet (4)(5)(6). Mit *In-vivo*-Studien und anhand von Modellstudien konnte nachgewiesen werden, dass das Verfahren reproduzierbar ist, mit einer geringeren Anzahl an Versuchstieren auskommt und weniger Leiden verursacht als die herkömmlichen Methoden und eine ähnliche Bewertung der Substanzen ermöglicht wie die sonstigen Methoden zur Prüfung der akuten Toxizität.

Leitlinien für die Auswahl der geeignetsten Testmethode für einen bestimmten Zweck enthält das Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing (7). Dieser Leitfaden beinhaltet darüber hinaus weitere Informationen zur Durchführung und Auswertung der Prüfmethode B.1bis.

Eines der Prinzipien der Methode besteht darin, dass in der Hauptstudie nur mäßig toxische Dosen eingesetzt werden und dass die Verabreichung von voraussichtlich letalen Dosen vermieden werden sollte. Außerdem brauchen keine Dosierungen verabreicht zu werden, die aufgrund ätzender oder stark reizender Wirkungen bekanntermaßen starke Schmerzen und schweres Leiden verursachen. Moribunde Tiere oder Tiere, die offensichtlich unter Schmerzen leiden oder Anzeichen von schwerem und anhaltendem Leiden zeigen, sind auf humane Weise zu töten und werden bei der Auswertung der Testergebnisse auf die gleiche Weise gewertet wie während des Tests gestorbene Tiere. Kriterien für die Entscheidung, moribunde oder schwer leidende Tiere zu töten, sowie Hinweise zur Erkennung des absehbaren oder bevorstehenden Todes sind Gegenstand eines gesonderten Leitfadens (8).

Die Methode führt zu Informationen über die gefährlichen Eigenschaften und ermöglicht die Bewertung und Klassifizierung der Substanz gemäß dem Globalen Harmonisierten System (GHS) zur Klassifizierung chemischer Stoffe mit akut toxischer Wirkung (9).

Das Prüflabor soll vor der Durchführung der Studie sämtliche verfügbaren Informationen berücksichtigen. Zu diesen Informationen gehören die Identität und die chemische Struktur der zu testenden Substanzen, die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Substanzen, die Ergebnisse sonstiger *In-vivo*- oder *In-vitro*-Toxizitätstests in Verbindung mit den betreffenden Substanzen, toxikologische Daten über strukturverwandte Substanzen sowie die vorgesehene(n) Verwendung(en) der Substanzen. Diese Informationen werden benötigt, um die zuständigen Stellen zu überzeugen, dass der Test für den Schutz der menschlichen Gesundheit wichtig ist und bei der Wahl der geeigneten Startdosis hilft.

1.2 DEFINITIONEN

Akute orale Toxizität: Schädliche Wirkungen, die nach der oralen Verabreichung einer Einzeldosis oder mehrerer innerhalb von 24 Stunden verabreichter Dosen einer Substanz auftreten.

Verzögerter Tod: Das betreffende Tier stirbt zwar nicht binnen 48 Stunden und wirkt in diesem Zeitraum nicht moribund; der Tod tritt jedoch später während des 14-tägigen Beobachtungszeitraums ein.

Dosis: Verabreichte Menge der Testsubstanz; die Dosis wird als Gewicht der Testsubstanz pro Gewichtseinheit des Versuchstiers ausgedrückt (z. B. mg/kg).

Evidente Toxizität: Ein allgemeiner Begriff, der deutliche Anzeichen von Toxizität nach der Verabreichung einer Testsubstanz dahingehend beschreibt, dass bei der nächsthöheren festen Dosis entweder starke Schmerzen und anhaltende Anzeichen für schweres Leiden, ein moribunder Zustand (Kriterien siehe Humane Endpoints Guidance Document (8)) oder wahrscheinlich der Tod der meisten Versuchstiere zu erwarten sind (siehe z. B. (3)).

GHS: Globally Harmonised Classification System for Chemical Substances and Mixtures (Weltweit harmonisiertes Klassifizierungssystem für chemische Substanzen und Gemische); ein gemeinsames Projekt von OECD (Menschliche Gesundheit und Umwelt), UN-Expertenausschuss für den Transport von Gefahrgütern (physikalisch-chemische Eigenschaften) und ILO (Gefahrenanzeige) koordiniert im Rahmen des Interorganisation Programme for the Sound Management of Chemicals (IOMC).

Bevorstehender Tod: Der moribunde Zustand oder Tod ist vor dem nächsten vorgesehenen Beobachtungszeitpunkt zu erwarten. Anzeichen für diesen Zustand können bei Nagetieren Krämpfe, Seitenlage, liegende Stellung und Tremor sein (siehe Humane Endpoint Guidance Document (8)).

LD_{50} (mittlere Letaldosis): Statistisch ermittelte Einzeldosis einer Substanz, bei der davon ausgegangen werden kann, dass sie bei oraler Verabreichung den Tod von 50 % der Tiere verursacht; der LD_{50}-Wert wird als Gewicht der Testsubstanz pro Gewichtseinheit der Versuchstiere ausgedrückt (mg/kg).

Limit-Dosis: Dosis am oberen Grenzwert für den betreffenden Versuch (2.000 oder 5.000 mg/kg)

Moribunder Zustand: Zustand des Sterbens oder des Unvermögens, (selbst bei Behandlung) zu überleben (siehe Humane Endpoint Guidance Document (8))

Voraussagbarer Tod: Vorhandensein klinischer Zeichen, die auf den Eintritt des Todes zu einem bekannten Zeitpunkt in der Zukunft – vor dem planmäßigen Ende des Experiments – hinweisen, z. B. das Unvermögen, Wasser oder Nahrung aufzunehmen (siehe Humane Endpoint Guidance Document (8))

1.2 **PRINZIP DER-PRÜFMETHODE**

An Gruppen von Versuchstieren eines Geschlechts wird in einem schrittweisen Verfahren jeweils die feste Dosis 5, 50, 300 und 2.000 mg/kg verabreicht. (Im Ausnahmefall kann eine weitere feste Dosis von 5.000 mg/kg in Betracht gezogen werden (siehe Abschnitt 1.6.2)). Als Startdosis wird auf der Grundlage einer Vorstudie die Dosis gewählt, die voraussichtlich gewisse Toxizitätsanzeichen verursachen wird, ohne schwere toxische Wirkungen oder Mortalität hervorzurufen. Klinische Anzeichen und Zustände, die mit Schmerzen, Leiden und bevorstehendem Tod verbunden sind, werden in einem gesonderten OECD-Leitfaden (8) ausführlich beschrieben. Weiteren Versuchstiergruppen können höhere oder niedrigere feste Dosen in Abhängigkeit davon verabreicht werden, ob Anzeichen von Toxizität oder Mortalität zu erkennen sind. Diese Vorgehensweise wird fortgesetzt, bis die Dosis ermittelt ist, die offensichtlich toxisch wirkt oder den Tod maximal eines Versuchstieres verursacht hat, bzw. bis bei der höchsten Dosis keine Wirkungen zu erkennen sind oder bis bereits bei der niedrigsten Dosis der Tod von Versuchstieren eintritt.

1.2 BESCHREIBUNG DER PRÜFMETHODE

1.4.1 **Auswahl der Tierspezies**

Die bevorzugte Nagetierspezies ist die Ratte, es können aber auch andere Spezies verwendet werden. In der Regel werden weibliche Tiere verwendet (7). Weibliche Tiere werden bevorzugt, da die in der Literatur zitierten Untersuchungen zu konventionellen LD_{50}-Tests zwischen den Geschlechtern in der Regel nur geringfügige Unterschiede hinsichtlich der Empfindlichkeit belegen, in den Fällen, in denen Unterschiede beobachtet werden, jedoch zeigen, dass weibliche Tiere im Allgemeinen etwas empfindlicher sind (10). Wenn jedoch die vorhandenen Informationen über die toxikologischen oder toxikokinetischen Eigenschaften von strukturverwandten Chemikalien darauf hinweisen, dass vermutlich die männlichen Tiere empfindlicher sind, sollten männliche Tiere verwendet werden. Wird ein Versuch an männlichen Tieren durchgeführt, sollte dies hinreichend begründet werden.

Es sollen junge, gesunde, ausgewachsene Tiere aus üblicherweise eingesetzten Laborstämmen verwendet werden. Die weiblichen Tiere dürfen weder bereits geworfen haben noch momentan trächtig sein. Alle Tiere müssen zu Beginn der Verabreichung zwischen 8 und 12 Wochen alt sein; ihre Gewichtswerte müssen im Bereich von ± 20 % des mittleren Gewichts sämtlicher zuvor verwendeten Tiere liegen.

1.4.2 **Haltung und Fütterung**

Die Temperatur des Versuchstierraums soll 22 °C (± 3 °C) betragen. Die relative Luftfeuchtigkeit soll mindestens 30 % betragen und außer während der Reinigung vorzugsweise nicht über 70 % liegen; anzustreben ist ein Wert von 50–60 %. Der Raum soll künstlich beleuchtet sein, wobei die Beleuchtung im 12-Stunden-Rhythmus ein- und ausgeschaltet werden soll. An die Versuchstiere kann herkömmliches Laborfutter verfüttert werden, wobei eine unbegrenzte Trinkwasserversorgung zu gewährleisten ist. Die Tiere können in den Käfigen nach Verabreichungsdosen gruppiert werden, wobei aber die Anzahl der Tiere pro Käfig noch eine genaue Beobachtung der einzelnen Tiere ermöglichen muss.

1.4.3 **Vorbereitung der Versuchstiere**

Die Tiere werden nach Zufallskriterien ausgewählt, zwecks Identifizierung markiert und für die Dauer von mindestens 5 Tagen vor Versuchsbeginn in ihren Käfigen gehalten, damit sie sich an die Laborbedingungen gewöhnen können.

1.4.4 **Vorbereitung der Dosen**

Generell sollen die Testsubstanzen mit einem für den gesamten zu testenden Dosierungsbereich gleichbleibenden Volumen verabreicht werden, indem jeweils die Konzentration der Dosiszubereitung variiert wird. Wenn jedoch ein flüssiges Endprodukt oder Gemisch zu testen ist, kann die Anwendung der unverdünnten, d. h. mit gleichbleibender Konzentration verabreichten Testsubstanz für die anschließende Risikobewertung der betreffenden Substanz größere Relevanz haben und wird daher von verschiedenen Behörden vorgeschrieben. In jedem Fall darf das maximal zu verabreichende Dosisvolumen nicht überschritten werden. Welches Flüssigkeitsvolumen jeweils höchstens auf einmal verabreicht werden kann, hängt von der Größe des Versuchstiers ab. Bei Nagetieren soll das Volumen im Normalfall 1 ml pro 100 g Körpergewicht nicht überschreiten; bei wässrigen Lösungen können aber auch 2 ml pro 100 g Körpergewicht in Betracht gezogen werden. Bezüglich der Formulierung wird, wenn dies möglich ist, eine wässrige Lösung/Suspension/Emulsion empfohlen, danach in der Reihenfolge der Präferenz eine Lösung/Suspension/Emulsion in Öl (z. B. Maisöl) sowie an dritter Stelle eventuell eine Lösung in anderen Vehikeln. Bei anderen Vehikeln als Wasser sollen die toxikologischen Eigenschaften des jeweiligen Vehikels bekannt sein. Die Dosen dürfen erst kurz vor der Verabreichung zubereitet werden, sofern die Zubereitung über den Zeitraum, in dem sie angewandt werden soll, nicht bekanntermaßen eine annehmbare Stabilität aufweist.

1.5 VERFAHRENSWEISE

1.5.1 **Verabreichung der Dosen**

Die Testsubstanz wird als Einzeldosis mit einer Sonde über einen Magensonde oder über eine geeignete Intubationskanüle verabreicht. In dem seltenen Fall, dass die Verabreichung als Einzeldosis nicht möglich ist, kann die Dosis über einen Zeitraum von maximal 24 Stunden in kleineren Teilmengen verabreicht werden.

Die Versuchstiere sollten vor der Verabreichung nüchtern sein (z. B. sollte Ratten das Futter (nicht das Wasser) über Nacht vorenthalten werden; Mäusen sollte das Futter (nicht das Wasser) 3–4 Stunden zuvor vorenthalten werden). Nach diesem Futterentzug sollen die Tiere gewogen werden und die Testsubstanz verabreicht bekommen. Nach der Verabreichung der Substanz kann das Futter bei Ratten weitere 3–4 Stunden bzw. bei Mäusen weitere 1–2 Stunden zurückgehalten werden. Wenn die Dosis über einen bestimmten Zeitraum hinweg in Teilmengen verabreicht wird, kann es je nach Länge dieses Zeitraums erforderlich sein, die Tiere mit Futter und Wasser zu versorgen.

1.5.2 **Vorstudie**

Zweck der Sichtungsstudie ist die Ermittlung der zweckmäßigen Ausgangsdosis für die Hauptuntersuchung. Die Testsubstanz wird einzelnen Tieren in einem sequentiellen Verfahren gemäß den Flussdiagrammen in Anhang 1 verabreicht. Die Sichtungsstudie ist abgeschlossen, wenn eine Entscheidung über die Ausgangsdosis für die Hauptstudie getroffen werden kann (oder wenn bereits bei der niedrigsten festen Dosis der Tod eines Versuchstiers eintritt).

Als Ausgangsdosis für die Sichtungsstudie wird von den festen Dosierungen 5, 50, 300 und 2000 mg/kg die Dosis ausgewählt, die voraussichtlich eine evidente Toxizität bewirken wird, wobei nach Möglichkeit die Erkenntnisse aus *In-vivo-* und *In-vitro*-Daten für denselben chemischen Stoff sowie für strukturverwandte chemische Stoffe zugrunde liegen sollten. Wenn keine entsprechenden Informationen vorliegen, wird die Ausgangsdosis 300 mg/kg verwendet.

Zwischen den Versuchen an jedem einzelnen Tier liegt ein zeitlicher Abstand von mindestens 24 Stunden. Alle Tiere sollten mindestens 14 Tage lang beobachtet werden.

In Ausnahmefällen – und nur, wenn dies durch konkrete Vorschriften begründet ist – kann die Anwendung einer weiteren festen oberen Dosis von 5.000 mg pro kg Körpergewicht in Erwägung gezogen werden (siehe Anhang 3). Aus Tierschutzgründen wird von Tierversuchen im Bereich der GHS-Kategorie 5 (2000-5000 mg/kg) abgeraten; diese Versuche sollten nur dann in Betracht gezogen werden, wenn die Ergebnisse eines solchen Tests für den Schutz der Gesundheit von Menschen oder Tieren oder der Umwelt mit hoher Wahrscheinlichkeit direkt relevant sind.

Wenn ein Versuchstier, das mit der niedrigsten festen Dosis (5 mg/kg) getestet wird, bei der Sichtungsstudie stirbt, wird die Studie normalerweise beendet und die Substanz der GHS-Kategorie 1 zugewiesen (wie in Anhang 1 dargestellt). Ist jedoch eine weitere Bestätigung dieser Klassifizierung erforderlich, kann das folgende ergänzende Verfahren in Betracht gezogen werden: Ein zweites Versuchstier wird mit der Dosis 5 mg/kg getestet. Wenn dieses zweite Tier stirbt, wird die GHS-Kategorie 1 bestätigt und die Studie sofort beendet. Wenn das zweite Tier überlebt, wird maximal drei weiteren Tieren die Dosis 5 mg/kg verabreicht. Da ein hohes Mortalitätsrisiko besteht, sollten diese Tiere aus Tierschutzgründen nacheinander getestet werden. Der zeitliche Abstand zwischen den Versuchen an den einzelnen Tieren sollte groß genug sein, um die Überlebenswahrscheinlichkeit des vorherigen Tieres bestätigen zu können. Wenn ein zweites Tier stirbt, wird die Versuchsreihe sofort beendet, und es werden keine weiteren Tiere getestet. Da der Tod eines zweiten Tieres (unabhängig davon, wie viele Tiere bis zum Zeitpunkt der Beendigung getestet wurden) zu Ergebnis A zählt (2 oder mehr tote Tiere), wird nach der Klassifizierungsregel aus Anhang 2 für die feste Dosis 5 mg/kg vorgegangen (Kategorie 1 bei zwei oder mehr toten Versuchstieren bzw. Kategorie 2, wenn nur ein Tier stirbt). Zur Ergänzung wird in Anhang 4 die Klassifizierung im EU-System bis zur Einführung des neuen GHS erläutert.

1.5.3 **Hauptstudie**

1.5.3.1 *Anzahl der Versuchstiere und Dosierung*

Welche Maßnahmen nach dem Versuch mit der Anfangsdosierung durchgeführt werden sollen, ist den Flussdiagrammen in Anhang 2 zu entnehmen. In Betracht kommt jeweils eine von drei Maßnahmen: Versuch beenden und die entsprechende Gefahrenklassifikationsklasse zuweisen, mit einer höheren festen Dosis testen oder mit einer niedrigen festen Dosis testen. Aus Tierschutzgründen wird jedoch eine Dosierung, die in der Sichtungsstudie zum Tod geführt hat, in der Hauptstudie nicht wiederholt (siehe Anhang 2). Die bisher gemachten Erfahrungen lassen als wahrscheinlichstes Ergebnis bei der Ausgangsdosierung vermuten, dass die Substanz ohne weitere Tests klassifiziert werden kann.

Im Normalfall werden für jede untersuchte Dosierung insgesamt fünf Tiere gleichen Geschlechts verwendet. Zu diesen fünf Tiere gehören ein Tier aus der Sichtungsstudie, dem die gewählte Dosierung verabreicht wurde, sowie vier weitere Tiere (außer wenn im Ausnahmefall eine in der Hauptstudie verwendete Dosierung in der Sichtungsstudie nicht enthalten war).

Der Zeitabstand zwischen den Versuchen mit der jeweiligen Dosierung richtet sich nach dem Einsetzen, der Dauer und dem Schweregrad der Toxizitätsanzeichen. Die Behandlung der Versuchstiere mit der nächsten Dosis sollte hinausgezögert werden, bis angenommen werden kann, dass die zuvor verwendeten Tiere überlebt haben. Bei Bedarf wird ein Abstand von drei bis vier Tagen zwischen den Versuchen mit den einzelnen Dosierungen empfohlen, um die Feststellung einer zeitverzögerten Toxizität zu ermöglichen. Dieser Zeitabstand kann nach Bedarf angepasst werden, wenn z. B. die beobachteten Reaktionen keine Schlussfolgerungen zulassen.

Wenn eine obere feste Dosis von 5.000 mg/kg in Erwägung gezogen wird, sollte verfahren werden, wie in Anhang 3 beschrieben (siehe auch Abschnitt 1.6.2).

1.5.3.2 *Limit-Test*

Der Limit-Test wird hauptsächlich dann eingesetzt, wenn die Person, die den Test durchführt, nach ihr vorliegenden Informationen annehmen kann, dass das zu testende Material wahrscheinlich nicht toxisch ist, d.h. nur oberhalb der in Vorschriften festgelegten Grenzdosen toxisch wirkt. Informationen über die Toxizität des Testmaterials können aus Kenntnissen über ähnliche getestete Verbindungen, Gemische oder Produkte gewonnen werden, wobei Art und Prozentanteil der Komponenten zu berücksichtigen sind, deren toxikologische Relevanz bekannt ist. In den Fällen, in denen nur wenige oder keine Informationen über die Toxizität des Testmaterials vorliegen oder in denen von einer Toxizität des Testmaterials ausgegangen wird, sollte der Haupttest durchgeführt werden.

Bei der normalen Vorgehensweise wird für den Limit-Test im Rahmen dieses Leitfadens eine Ausgangsdosis von 2.000 mg/kg (bzw. im Ausnahmefall 5.000 mg/kg) für die Sichtungsstudie verwendet; anschließend werden vier weitere Tiere dieser Dosis ausgesetzt.

1.6 **BEOBACHTUNGEN**

Die Tiere werden nach der Verabreichung einzeln beobachtet: mindestens einmal während der ersten 30 Minuten, in regelmäßigen Abständen während der ersten 24 Stunden, wobei die ersten vier Stunden besonders zu beachten sind, sowie anschließend täglich während einer Gesamtdauer von 14 Tagen, sofern die Tiere nicht aus Tierschutzgründen aus dem Versuch genommen und auf humane Weise getötet werden müssen oder ihr Tod festgestellt wird. Die Beobachtungsdauer sollte nicht strikt festgelegt werden, sondern abhängig von den toxischen Reaktionen, vom Zeitpunkt des Einsetzens dieser Reaktionen und von der Länge der Erholungsdauer festgelegt werden und kann daher ausgedehnt werden, wenn dies erforderlich scheint. Der Zeitpunkt, zu dem die Anzeichen von Toxizität auftreten und wieder verschwinden, ist insbesondere dann von Bedeutung, wenn eine Tendenz zur zeitlichen Verzögerung der Toxizitätsanzeichen besteht (11). Sämtliche Beobachtungen werden für die Tiere systematisch jeweils in Einzelprotokollen dokumentiert.

Zusätzliche Beobachtungen sind erforderlich, wenn bei den Tieren weiterhin Anzeichen für Toxizität zu beobachten sind. Die Beobachtungen sollten Veränderungen an Haut und Fell, Augen und Schleimhäuten erfassen und auch die Atmung, den Kreislauf, das vegetative und zentrale Nervensystem sowie somatomotorische Aktivitäten und Verhaltensmuster berücksichtigen. Auf Symptome wie Tremores, Krämpfe, Speichelfluss, Durchfall, Lethargie, Schlaf und Koma sollte geachtet werden. Die im Humane Endpoints Guidance Document (8) zusammengefassten Prinzipien und Kriterien sind zu berücksichtigen. Tiere, bei denen ein moribunder Zustand festgestellt wird, sowie Tiere, die starke Schmerzen haben oder anhaltende Anzeichen von schwerem Leiden zeigen, sollten auf humane Weise getötet werden. Wenn Tiere aus humanen Gründen getötet werden oder ihr Tod festgestellt wird, sollte der Todeszeitpunkt so genau wie möglich registriert werden.

1.6.1 **Körpergewicht**

Das Gewicht der einzelnen Tiere soll kurz vor der Verabreichung der Testsubstanz sowie spätestens eine Woche danach ermittelt werden. Gewichtsveränderungen sollen berechnet und registriert werden. Am Ende des Tests werden die überlebenden Tiere gewogen und anschließend auf humane Weise getötet.

1.6.2 **Pathologie**

Alle Versuchstiere (einschließlich der Tiere, die während des Tests sterben oder aus Tierschutzgründen aus ~~von~~ der Studie genommen werden) sollen auf makrologische Veränderungen untersucht werden. Alle makrologischen Veränderungen sollen für jedes einzelne Tier registriert werden. Bei Tieren, die 24 oder mehr Stunden lang überlebt haben, kann auch eine mikroskopische Untersuchung von Organen mit makropathologischen Befunden in Erwägung gezogen werden, da sich hieraus eventuell nützliche Informationen gewinnen lassen.

2 **DATEN**

Es sollen Daten zu den einzelnen Tieren bereitgestellt werden. Darüber hinaus sollen sämtliche Daten in tabellarischer Form zusammengefasst werden, wobei für jede Testgruppe die folgenden Daten zu erfassen sind: Anzahl der verwendeten Tiere, Anzahl der Tiere mit Anzeichen für eine toxische Wirkung, Anzahl der Tiere, deren Tod während des Versuchs festgestellt wurde oder die aus humanen Gründen getötet wurden, Todeszeitpunkt der einzelnen Tiere, Beschreibung und Zeitverlauf der toxischen Wirkungen und ihrer Reversibilität sowie pathologische Befunde.

3 **BERICHTE**

3.1 **Testbericht**

Der Prüfbericht muss die folgenden Angaben enthalten (soweit angemessen):

Testsubstanz:

- physikalische Beschaffenheit, Reinheit und, sofern relevant, physikalisch-chemische Eigenschaften (einschließlich Isomerisierung),
- Identifizierungsdaten, einschließlich CAS-Nummer.

Vehikel (wenn verwendet):

- Begründung für die Auswahl des Vehikels (außer bei Wasser).

Versuchstiere:

- verwendete Spezies/Stamm,
- mikrobiologischer Zustand der Tiere, sofern bekannt,
- Anzahl, Alter und Geschlecht der Tiere (gegebenenfalls mit Begründung für den Einsatz von männlichen statt weiblichen Tieren),
- Bezugsquelle der Tiere, Haltungsbedingungen, Futter usw.

Testbedingungen:

- Angaben über die Zubereitung der Testsubstanz, einschließlich Angaben über die physikalische Beschaffenheit des verabreichten Stoffs,
- Angaben über die Verabreichung der Testsubstanz, einschließlich Applikationsvolumen und Zeitpunkt der Verabreichung,
- Angaben zur Futter- und Wasserqualität (einschließlich Art/Herkunft des Futters, Herkunft des Wassers);
- Begründung für die Wahl der Startdosis.

Ergebnisse:

- tabellarische Erfassung der erhobenen Daten und der Dosis für jedes einzelne Tier (d. h. Tiere, die Anzeichen für Toxizität zeigen, einschließlich Mortalität sowie Art, Schweregrad und Dauer der Wirkungen),
- tabellarische Erfassung des Körpergewichts und der Änderungen des Körpergewichts,
- Gewicht der einzelnen Tiere am Tag der Verabreichung, danach in wöchentlichem Abständen sowie am Tag des Todes bzw. der Tötung,
- Datum und Uhrzeit des Todes, sofern vor der planmäßigen Tötung eingetreten,
- zeitlicher Verlauf des Einsetzens von Toxizitätsanzeichen sowie Angabe, ob diese reversibel waren (für jedes Tier gesondert),
- Obduktionsergebnisse und histopathologische Ergebnisse für jedes einzelne Tier (wenn vorhanden).

Diskussion und Interpretation der Ergebnisse.

Schlussfolgerung.

4 LITERATUR

(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. and 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. and Walker, A.P. (1990). The international validation of a fixed-dose procedure as an alternative to the classical LD_{50} test. Fd. Chem. Toxicol. 28, 469-482.

(4) Whitehead, A. and Curnow, R.N. (1992). Statistical evaluation of the fixed-dose procedure. Fd. Chem. Toxicol., 30, 313-324.

(5) Stallard, N. and Whitehead, A. (1995). Reducing numbers in the fixed-dose procedure. Human Exptl. Toxicol. 14, 315-323. Human Exptl. Toxicol.

(6) Stallard, N., Whitehead, A. and 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

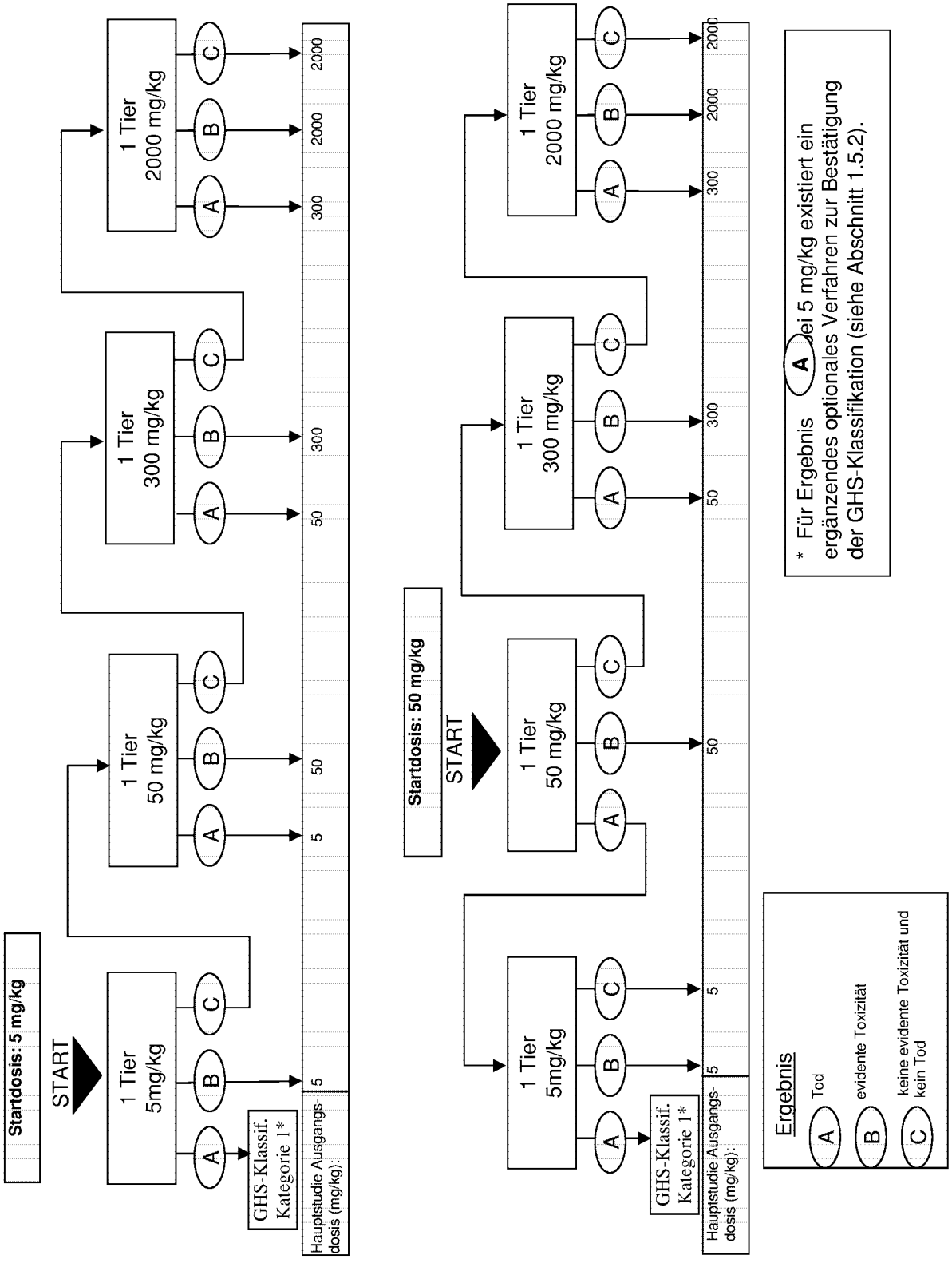
(8) OECD (2000). Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assesment N. 19.

(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, p.11 [http://webnet1.oecd.org/oecd/pages/home/displaygeneral/0,3380,EN-documents-521-14-no-24-no-0,FF.html].

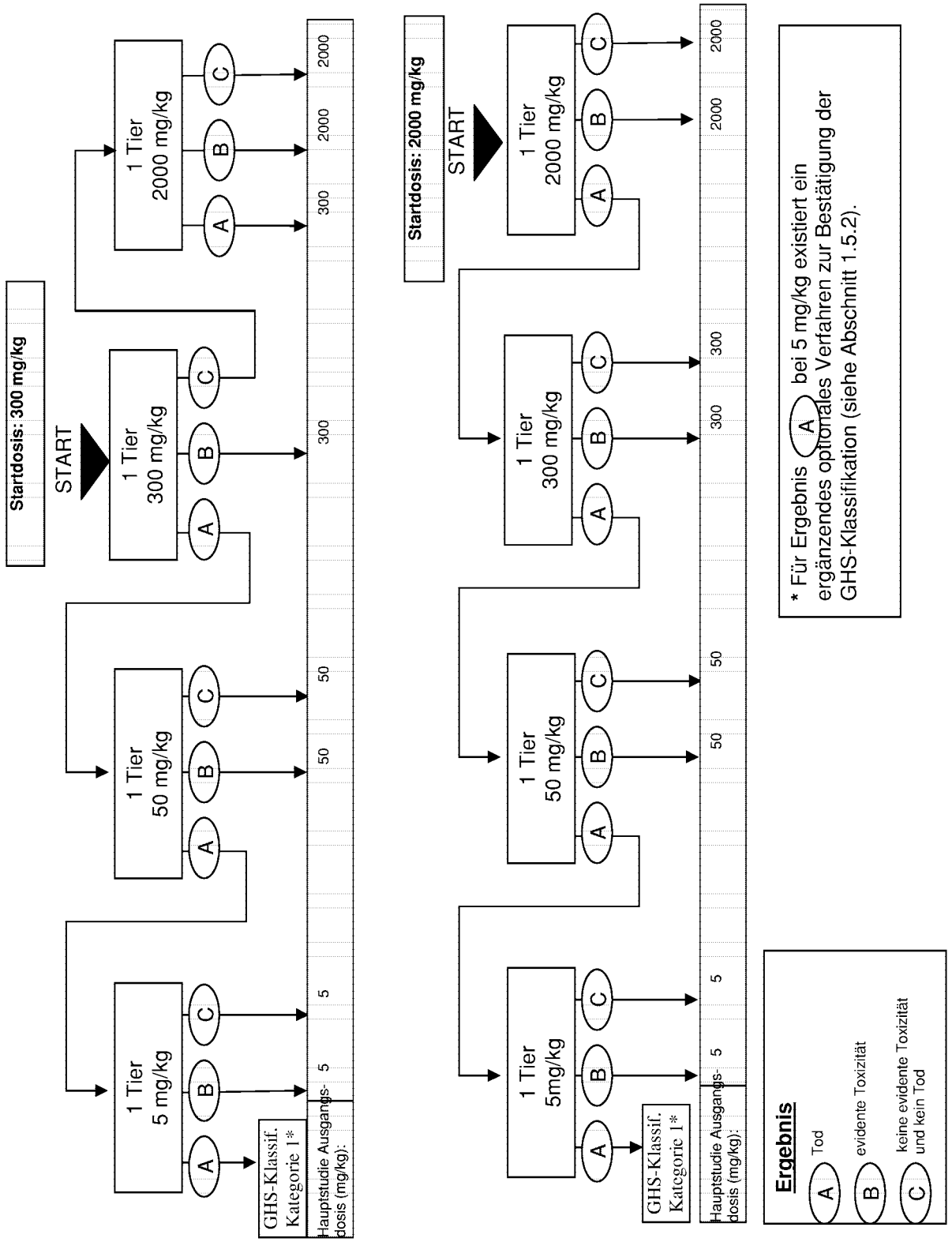
(10) Lipnick, R.L., Cotruvo, J.A., Hill, R.N., Bruce, R.D., Stitzel, K.A., Walker, A.P., Chu, I., Goddard, M., Segal, L., Springer, J.A. and Myers, R.C. (1995). Comparison of the Up-and-Down, Conventional LD_{50}, and Fixed-Dose Acute Toxicity Procedures. Fd. Chem. Toxicol. 33, 223-231.

(11) Chan P.K and A.W. Hayes (1994) Chapter 16 Acute Toxicity and Eye Irritation . In: Principles and Methods of Toxicology . 3 rd Edition. A.W. Hayes , Editor. Raven Press, Ltd. New York, USA.

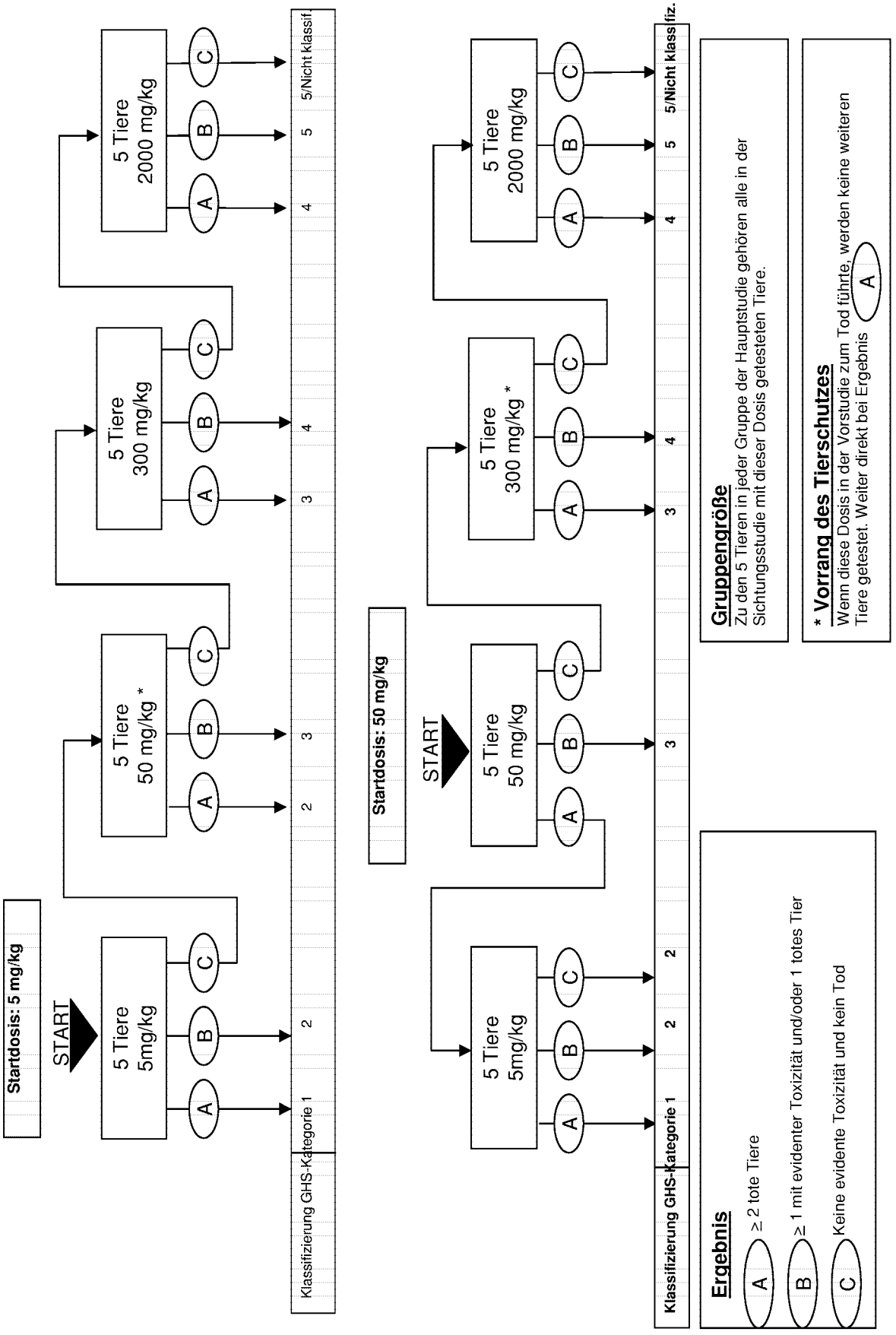
ANHANG 1: PRÜFVERFAHREN FÜR DIE VORSTUDIE



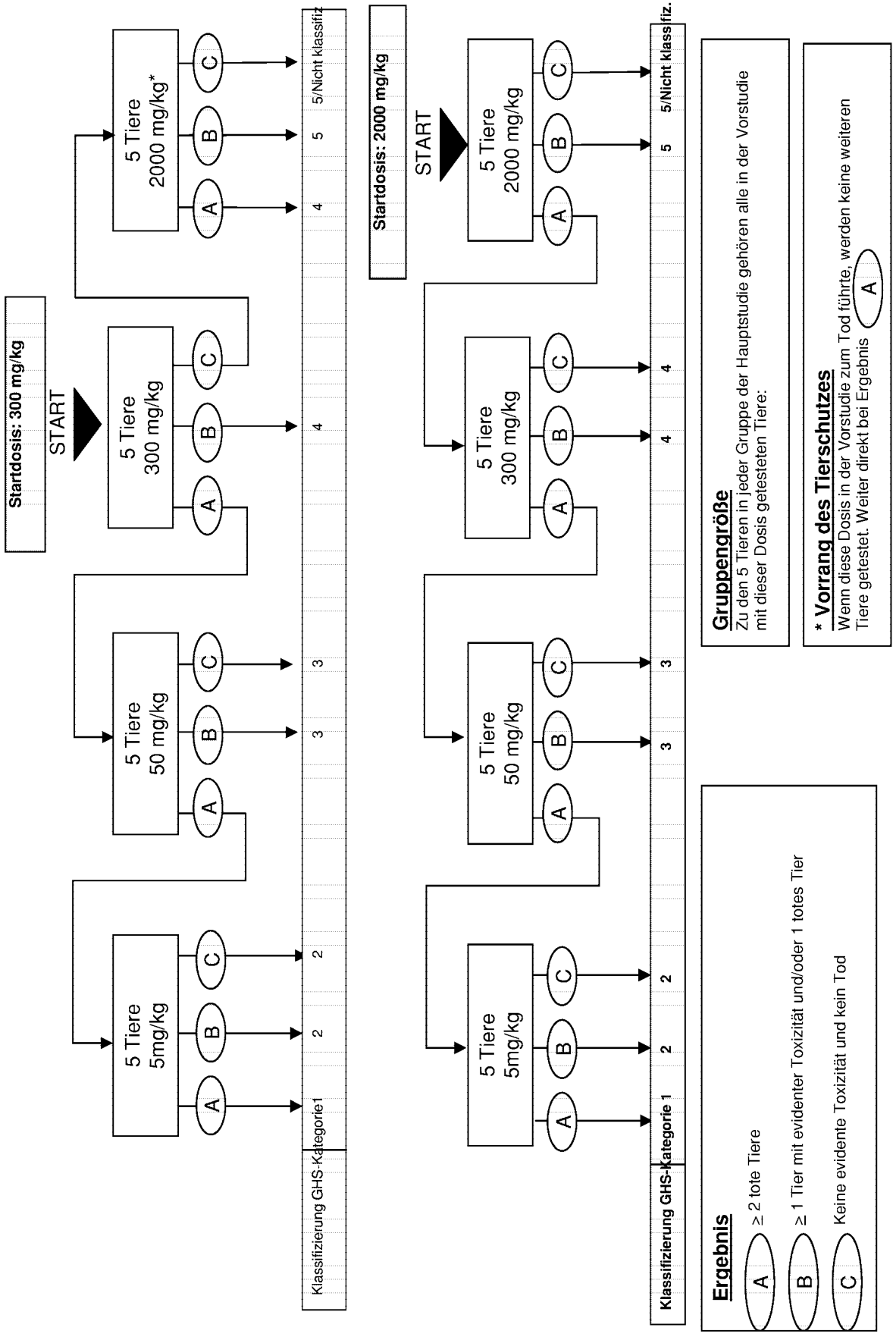
ANHANG 1: PRÜFVERFAHREN FÜR DIE VORSTUDIE



ANHANG 2: PRÜFVERFAHREN FÜR DIE HAUPTSTUDIE



ANHANG 2: PRÜFVERFAHREN FÜR DIE HAUPTSTUDIE



ANHANG 3

KRITERIEN FÜR DIE KLASSIFIZIERUNG VON TESTSUBSTANZEN MIT ERWARTETEN LD_{50}-WERTEN ÜBER 2.000 mg/kg OHNE ERFORDERLICHE TESTS

Die Kriterien für die Gefahrenkategorie 5 sollen die Identifikation von Testsubstanzen ermöglichen, die eine vergleichsweise geringe akute Toxizitätsgefahr aufweisen, aber unter bestimmten Umständen eine Gefahr für anfällige Bevölkerungsgruppen darstellen. Bei diesen Substanzen wird von einer oralen oder dermalen LD_{50} im Bereich 2.000–5.000 mg/kg bzw. von vergleichbaren Dosen für andere Verabreichungswege ausgegangen. Die Testsubstanzen sollte in den folgenden Fällen in die Gefahrenkategorie 2.000 mg/kg < LD_{50} < 5.000 mg/kg (GHS-Kategorie 5) eingestuft werden:

a) wenn eines der Prüfschemata aus Anhang 2 aufgrund von Mortalitätsfällen dieser Kategorie zuzuordnen ist;
b) wenn bereits zuverlässige Erkenntnisse dafür vorliegen, dass der LD_{50}-Wert im Bereich der Kategorie 5 liegt, oder wenn andere Tierversuche oder toxische Wirkungen auf Menschen akute Folgen für die menschlichen Gesundheit erwarten lassen;
c) wenn nach Extrapolierung, Schätzung oder Messung von Daten die Zuordnung zu einer höheren Gefahrenklasse nicht gerechtfertigt ist und

– zuverlässige Informationen vorliegen, die auf signifikante toxische Wirkungen beim Menschen hinweisen, oder
– Mortalitäten bei oraler Verabreichung in Versuchen mit Dosen bis zu der Kategorie 4 auftreten, oder
– eine fachkundige Beurteilung bei Versuchen mit Dosierungen bis zu den in Kategorie 4 genannten Werten signifikante klinische Toxizitätsanzeichen bestätigt (außer Durchfall, Haaraufrichtung oder zerzaustes Fell), oder
– eine fachkundige Beurteilung verlässliche Informationen bestätigt, die aus den anderen Tierversuchen ein Potenzial für signifikante akute Wirkungen erkennen lassen.

VERSUCHE MIT DOSEN ÜBER 2.000 mg/kg

In Ausnahmefällen – und nur, wenn dies durch konkrete Vorschriften begründet ist – kann die Anwendung einer weiteren festen oberen Dosis von 5.000 mg pro kg Körpergewicht in Erwägung gezogen werden. Aus Tierschutzgründen wird von Versuchen mit 5.000 mg/kg abgeraten; diese Versuche sollen nur dann in Erwägung gezogen werden, wenn die Ergebnisse eines solchen Versuchs für den Schutz der Gesundheit von Menschen oder Tieren oder der Umwelt mit hoher Wahrscheinlichkeit direkt relevant sind (9).

Vorstudie

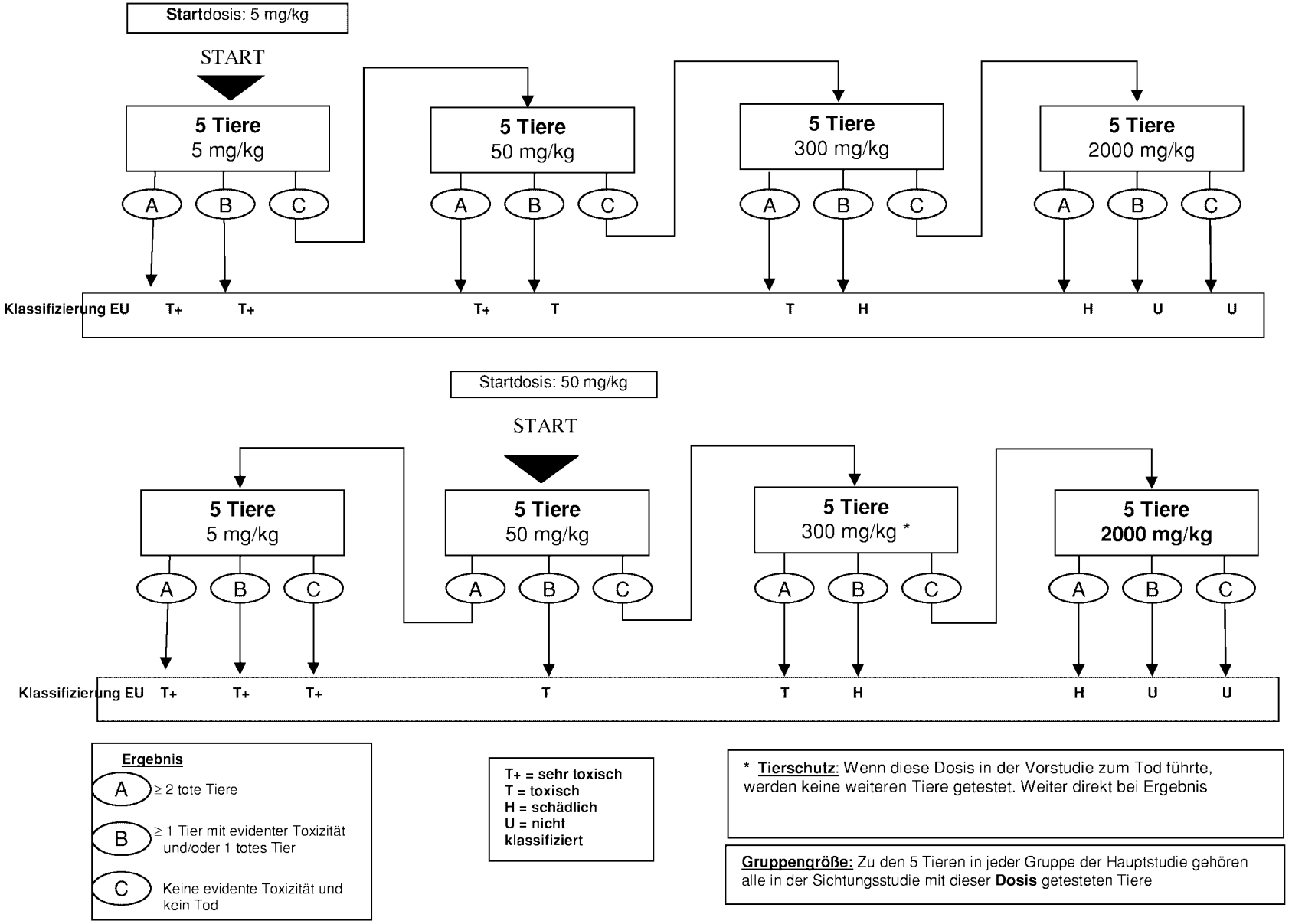
Die Entscheidungsgrundlagen für das in Anhang 1 vorgestellte sequenzielle Verfahren werden auf eine Dosis von 5.000 mg/kg erweitert: Wenn eine Startdosis von 5.000 mg/kg für die Vorstudie verwendet wird, bedingt Ergebnis A (Tod) den Test eines zweiten Tieres mit 2.000 mg/kg; die Ergebnisse B und C (evidente Toxizität oder keine Toxizität) führen zum Einsatz von 5.000 mg/kg als Startdosis für die Hauptstudie. Analog wird bei Verwendung einer anderen Startsdosis als 5.000 mg/kg der Versuch mit 5.000 mg/kg fortgesetzt, wenn bei 2.000 mg/kg Ergebnis B oder C eintritt; wenn anschließend bei 5.000 mg/kg Ergebnis A eintritt, bedingt dies eine Startdosis von 2.000 mg/kg bei der Hauptstudie, während die Ergebnisse B und C zu einer Startdosis von 5.000 mg/kg bei der Hauptstudie führen.

Hauptstudie

Die Entscheidungsgrundlagen für das in Anhang 2 vorgestellte sequenzielle Verfahren werden auf eine Dosierung von 5.000 mg/kg erweitert: Wenn in der Hauptstudie eine Startdosis von 5.000 mg/kg verwendet wird, ist bei Ergebnis A (≥2 tote Versuchstiere) eine zweiten Gruppe mit 2.000 mg/kg zu testen; die Ergebnisse B (evidente Toxizität und/oder ≤1 totes Versuchstier) oder C (keine Toxizität) führen dazu, dass die Substanz keine Klassifizierung gemäß GHS erhält. Analog wird bei Verwendung einer anderen Startdosis als 5.000 mg/kg der Versuch mit 5.000 mg/kg fortgesetzt, wenn bei 2.000 mg/kg Ergebnis C eintritt; führt eine Gabe von 5.000 mg/kg zu Ergebnis A, wird die Substanz GHS-Kategorie 5 zugewiesen; bei den Ergebnissen B und C wird die Substanz nicht klassifiziert.

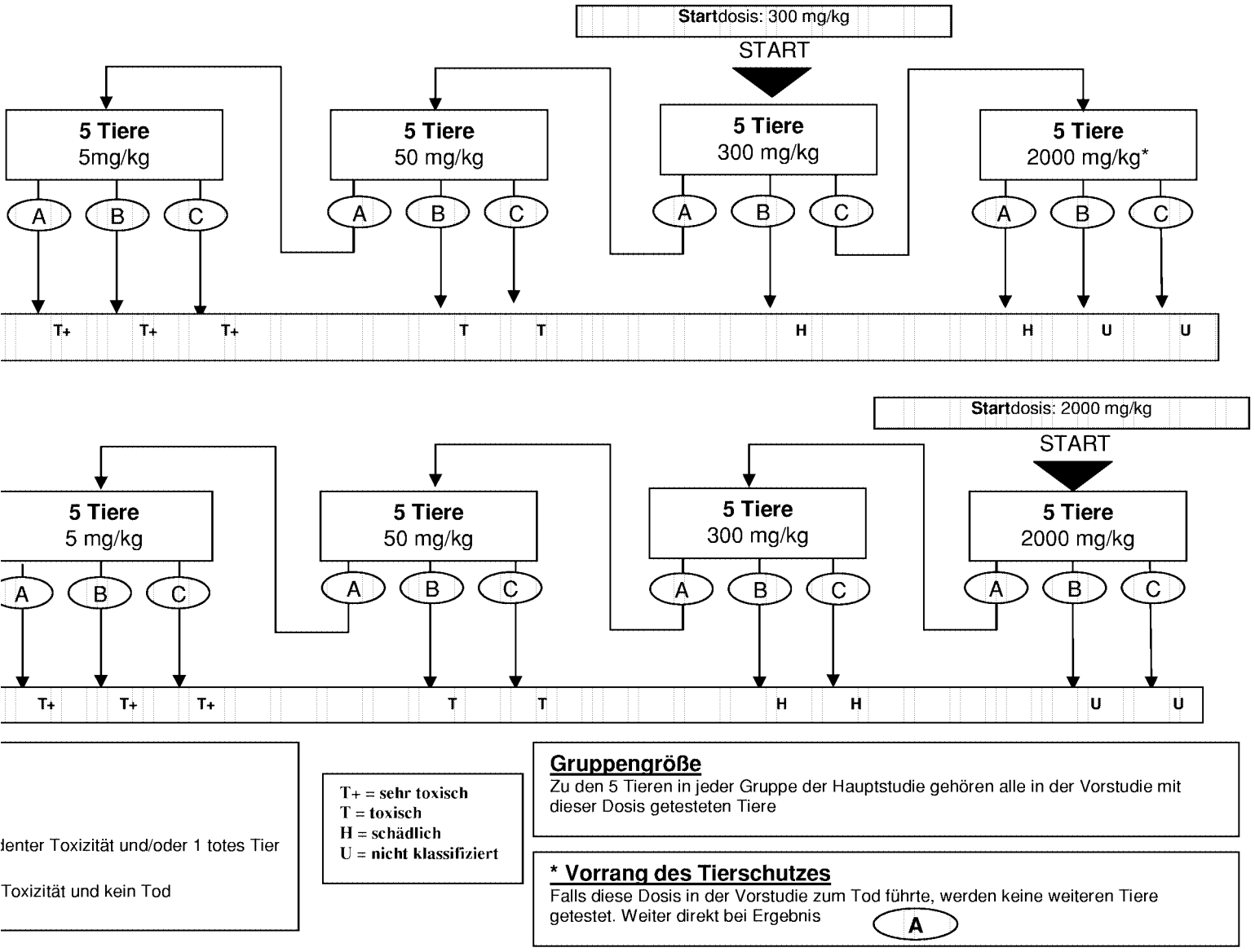
ANHANG 4:

PRÜFMETHODE B.1 bis – Anleitung für die Klassifizierung gemäß dem EU-System zur Überbrückung des Übergangszeitraums bis zur vollständigen Umsetzung des „Globalen Harmonisierten Systems" (GHS) (Auszug aus Literaturhinweis (8))



ANHANG 4:

IODE B.1 bis – Anleitung für die Klassifizierung gemäß dem EU-System zur Überbrückung des Übergangszeitraums bis zur vollständigen Umsetzung des „Globalen Harmonisierten Systems" (GHS) (Auszug aus Literaturhinweis (8))



denter Toxizität und/oder 1 totes Tier

Toxizität und kein Tod

T+ = sehr toxisch
T = toxisch
H = schädlich
U = nicht klassifiziert

Gruppengröße

Zu den 5 Tieren in jeder Gruppe der Hauptstudie gehören alle in der Vorstudie mit dieser Dosis getesteten Tiere

*** Vorrang des Tierschutzes**

Falls diese Dosis in der Vorstudie zum Tod führte, werden keine weiteren Tiere getestet. Weiter direkt bei Ergebnis A

ANHANG 2C

B.1 tris - AKUTE ORALE TOXIZITÄT – Akute-Toxische Klassenmethode

1. METHODE

Diese Prüfmethode entspricht der OECD TG 423 (2001).

1.1 EINLEITUNG

Die hier beschriebene Akute-Toxische Klassenmethode (1) besteht aus einem schrittweisen Verfahren, bei dem pro Einzelschritt jeweils drei Tiere des gleichen Geschlechts verwendet werden. Je nach Mortalität und/oder moribundem Zustand der Tiere können im Mittel zwei bis vier Schritte erforderlich sein, um eine Beurteilung der akuten Toxizität der Testsubstanz zu ermöglichen. Dieses Verfahren ist reproduzierbar, erfordert nur sehr wenige Tiere und ermöglicht eine gleichartige Bewertung der Substanzen wie andere Methoden zur Prüfung der akuten Toxizität. Die Akute-Toxische Klassenmethode basiert auf biometrischen Berechnungen (2)(3)(4)(5) mit festgesetzten ~~fester~~ Dosen, die sich hinreichend unterscheiden, um die Einordnung einer Substanz zu Klassifizierungszwecken und zur Bewertung des Gefährdungspotenzials zu ermöglichen. Die Methode, wie sie 1996 anerkannt wurde, wurde durch umfassende *In-vivo*-Versuche im Vergleich mit LD_{50}-Daten aus der Literatur sowohl auf nationaler (6) als auch auf internationaler (7) Ebene validiert.

Leitlinien für die Auswahl der geeignetsten Testmethode für einen bestimmten Zweck enthält das Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing (8). Dieser Leitfaden beinhaltet darüber hinaus weitere Informationen zur Durchführung und Auswertung der Prüfmethode B.1 tris.

Testsubstanzen sind nicht in Dosen zu verabreichen, wenn diese aufgrund ätzender oder stark reizender Wirkungen bekanntermaßen starke Schmerzen und schweres Leiden verursachen. Moribunde Tiere oder Tiere, die offensichtlich unter Schmerzen leiden oder Anzeichen von schwerem und anhaltendem Leiden zeigen, sind auf humane Weise zu töten und werden bei der Auswertung der Testergebnisse auf die gleiche Weise gewertet wie während des Tests gestorbene Tiere. Kriterien für die Entscheidung, moribunde oder schwer leidende Tiere zu töten, sowie Hinweise zur Erkennung des absehbaren oder bevorstehenden Todes sind Gegenstand eines gesonderten Leitfadens (9).

Die Methode beruht auf festgesetzten Dosen, und die Ergebnisse ermöglichen die Bewertung und Klassifizierung von Substanzen gemäß dem Globalen Harmonisierten System (GHS) zur Klassifizierung chemischer Stoffe mit akut-toxischen Wirkungen (10).

Vom Prinzip her ist die Methode nicht zur Berechnung eines exakten LD_{50}-Wertes geeignet, sondern zur Bestimmung definierter Expositionsbereiche, in denen eine Letalität auftreten kann, da der Tod eines Teils der Tiere noch immer den wichtigsten Endpunkt dieser Methode darstellt. Ein LD_{50}-Wert kann nur dann mit dieser Methode bestimmt werden, wenn mindestens zwei Dosen zu einer Mortalität von über 0 %, aber unter 100 % führen. Die Auswahl von festgesetzten Dosen unabhängig von der Testsubstanz zusammen mit der Koppelung an eine Anzahl von Tieren in unterschiedlichem Zustand an eine Klassifizierung verbessert die Konsistenz und die Reproduzierbarkeit zwischen den Laboratorien.

Das Prüflabor soll vor der Durchführung der Studie sämtliche verfügbaren Informationen berücksichtigen. Zu diesen Informationen gehören die Identität und die chemische Struktur der Substanz, ihre physikalisch-chemischen Eigenschaften, das Ergebnis anderer *In-vivo*- oder *In-vitro*-Toxizitätstests der betreffenden Substanz, toxikologische Daten über die strukturverwandten Substanzen sowie die vorgesehene(n) Verwendung(en) der Substanz. Diese Informationen werden benötigt, um die zuständigen Stellen zu überzeugen, dass der Test für den Schutz der menschlichen Gesundheit wichtig ist und bei der Wahl der geeigneten Startdosis hilft.

1.2 DEFINITIONEN

Akute orale Toxizität: Schädliche Wirkungen, die nach der oralen Verabreichung einer Einzeldosis oder mehrerer innerhalb von 24 Stunden verabreichter Dosen einer Substanz auftreten.

Verzögerter Tod: Das betreffende Tier stirbt zwar nicht binnen 48 Stunden und wirkt in diesem Zeitraum nicht moribund; der Tod tritt jedoch später während des 14-tägigen Beobachtungszeitraums ein.

Dosis: Verabreichte Menge der Testsubstanz; die Dosis wird als Gewicht der Testsubstanz pro Gewichtseinheit des Versuchstiers ausgedrückt (z.B. mg/kg).

GHS: Globally Harmonised Classification System for Chemical Substances and Mixtures (Weltweit harmonisiertes Klassifizierungssystem für chemische Substanzen und Gemische); ein gemeinsames Projekt von OECD (Menschliche Gesundheit und Umwelt), UN-Expertenausschuss für den Transport von Gefahrgütern (physikalisch-chemische Eigenschaften) und ILO (Gefahrenanzeige) koordiniert im Rahmen des Interorganisation Programme for the Sound Management of Chemicals (IOMC).

Bevorstehender Tod: Der moribunde Zustand oder Tod ist vor dem nächsten vorgesehenen Beobachtungszeitpunkt zu erwarten. Anzeichen für diesen Zustand können bei Nagetieren Krämpfe, Seitenlage, liegende Stellung und Tremor**es** sein (siehe Humane Endpoint Guidance Document (9)).

LD_{50} (mittlere orale Letaldosis): Eine statistisch ermittelte Einzeldosis einer Substanz, bei der davon ausgegangen werden kann, dass sie bei oraler Verabreichung den Tod von 50 % der Tiere verursacht; der LD_{50}-Wert wird als Gewicht der Testsubstanz pro Gewichtseinheit der Versuchstiere ausgedrückt (mg/kg).

Limit-Dosis: Dosis am oberen Grenzwert für den betreffenden Versuch (2.000 oder 5.000 mg/kg)

Moribunder Zustand: Zustand des Sterbens oder des Unvermögens, (selbst bei Behandlung) zu überleben (siehe Humane Endpoint Guidance Document (9))

Voraussagbarer Tod: Vorhandensein klinischer Zeichen, die auf den Eintritt des Todes zu einem bekannten Zeitpunkt in der Zukunft – vor dem planmäßigen Ende des Experiments – hinweisen, z.B. das Unvermögen, Wasser oder Nahrung aufzunehmen (siehe Humane Endpoint Guidance Document (9))

1.3 PRINZIP DER PRÜFMEHODE

Das Versuchsprinzip besteht darin, in einem schrittweisen Verfahren bei Verwendung einer minimalen Anzahl von Tieren pro Einzelschritt genügend Informationen über die akute Toxizität der Testsubstanz zu gewinnen, um ihre Klassifizierung zu ermöglichen. Die Substanz wird einer Gruppe von Versuchstieren oral mit einer der festgelegten Dosen verabreicht. Die Substanz wird in einem schrittweisen Verfahren getestet, wobei für jeden Schritt jeweils drei Tiere des gleichen Geschlechts (normalerweise weibliche Tiere) verwendet werden. Das Eintreten oder Nichteintreten von prüfsubstanzbedingten Todesfällen bei dem in einem Schritt behandelten Tieren bestimmt über den nächsten Schritt, d. h.:

— ob keine weiteren Tests erforderlich sind ,
— ob drei weitere Tiere mit der gleichen Dosis zu behandeln sind ,
— ob der nächste Schritt an drei weitere Tiere mit der nächsthöheren oder nächstniedrigeren Dosis durchzuführen ist..

In Anhang 1 ist die Testmethode im Einzelnen beschrieben. Die Methode ermöglicht die Beurteilung, eine Testsubstanz innerhalb einer Reihe von Toxizitätsklassen einzuordnen, die durch feste LD_{50}-Abgrenzungswerte definiert sind.

1.4 BESCHREIBUNG DER PRÜFMETHODE

1.4.1 **Auswahl der Tierspezies**

Die bevorzugte Nagetierspezies ist die Ratte, es können aber auch andere Spezies verwendet werden. In der Regel werden weibliche Tiere verwendet (9). Weibliche Tiere werden bevorzugt, da die in der Literatur zitierten Untersuchungen zu konventionellen LD_{50}-Tests zwischen den Geschlechtern in der Regel nur geringfügige Unterschiede hinsichtlich der Empfindlichkeit belegen, in den Fällen, in denen Unterschiede beobachtet werden, jedoch zeigen, dass weibliche Tiere im Allgemeinen etwas empfindlicher sind (11). Wenn jedoch die vorhandenen Informationen über die toxikologischen oder toxikokinetischen Eigenschaften von strukturverwandten Chemikalien darauf hinweisen, dass vermutlich die männlichen Tiere empfindlicher sind, sollten männliche Tiere verwendet werden. Wenn der Versuch an männlichen Tieren durchgeführt wird, sollte dies hinreichend begründet werden.

Es sollen junge, gesunde, ausgewachsene Tiere aus üblicherweise eingesetzten Laborstämmen verwendet werden. Die weiblichen Tiere dürfen weder bereits geworfen haben noch momentan trächtig sein. Alle Tiere müssen zu Beginn der Verabreichung zwischen 8 und 12 Wochen alt sein; ihre Gewichtswerte müssen im Bereich von ± 20 % des mittleren Gewichts sämtlicher zuvor verwendeten Tiere liegen.

1.4.2 **Haltung und Fütterung**

Die Temperatur im Versuchstierraum soll 22 °C (± 3 °C) betragen. Die Temperatur des Versuchstierraums soll 22 °C (±3°C) betragen. Die relative Luftfeuchtigkeit soll mindestens 30 % betragen und außer während der Reinigung vorzugsweise nicht über 70 % liegen; anzustreben ist ein Wert von 50–60 %. Der Raum soll künstlich beleuchtet sein, wobei die Beleuchtung im 12-Stunden-Rhythmus ein- und ausgeschaltet werden soll. An die Versuchstiere kann herkömmliches Laborfutter verfüttert werden, wobei eine unbegrenzte Trinkwasserversorgung zu gewährleisten ist. Die Tiere können in den Käfigen nach Verabreichungsdosen gruppiert werden, wobei aber die Anzahl der Tiere pro Käfig noch eine genaue Beobachtung der einzelnen Tiere ermöglichen muss.

1.4.3 **Vorbereitung der Versuchstiere**

Die Tiere werden nach Zufallskriterien ausgewählt, zwecks Identifizierung markiert und für die Dauer von mindestens 5 Tagen vor Versuchsbeginn in ihren Käfigen gehalten, damit sie sich an die Laborbedingungen gewöhnen können.

1.4.4 **Vorbereitung der Dosen**

Generell sollen die Testsubstanzen mit einem für den gesamten zu testenden Dosierungsbereich gleichbleibenden Volumen verabreicht werden, indem jeweils die Konzentration der Dosiszubereitung variiert wird. Wenn jedoch ein flüssiges Endprodukt oder Gemisch zu testen ist, kann die Anwendung der unverdünnten, d.h. mit gleichbleibender Konzentration verabreichten Testsubstanz für die anschließende Risikobewertung der betreffenden Substanz größere Relevanz haben und wird daher von verschiedenen Behörden vorgeschrieben. In jedem Fall darf das maximal zu verabreichende Dosisvolumen nicht überschritten werden. Welches Flüssigkeitsvolumen jeweils höchstens auf einmal verabreicht werden kann, hängt von der Größe des Versuchstiers ab. Bei Nagetieren soll das Volumen im Normalfall 1 ml pro 100 g Körpergewicht nicht überschreiten; bei wässrigen Lösungen können aber auch 2 ml pro 100 g Körpergewicht in Betracht gezogen werden. Bezüglich der Formulierung wird, wenn dies möglich ist, eine wässrige Lösung/Suspension/Emulsion empfohlen, danach in der Reihenfolge der Präferenz eine Lösung/Suspension/Emulsion in Öl (z.B. Maisöl) sowie an dritter Stelle eventuell eine Lösung in anderen Vehikeln. Bei anderen Vehikeln als Wasser sollen die toxikologischen Eigenschaften des jeweiligen Vehikels bekannt sein. Die Dosen dürfen erst kurz vor der Verabreichung zubereitet werden, sofern die Zubereitung über den Zeitraum, in dem sie angewandt werden soll, nicht bekanntermaßen eine annehmbare Stabilität aufweist.

1.5 VERFAHRENSWEISE

1.5.1 **Verabreichung der Dosen**

Die Testsubstanz wird als Einzeldosis mit einer Sonde über einen Magensonde oder über eine geeignete Intubationskanüle verabreicht. In dem seltenen Fall, dass die Verabreichung als Einzeldosis nicht möglich ist, kann die Dosis über einen Zeitraum von maximal 24 Stunden in kleineren Teilmengen verabreicht werden.

Die Versuchstiere sollten vor der Verabreichung nüchtern sein (z.B. sollte Ratten das Futter (nicht das Wasser) über Nacht vorenthalten werden; Mäusen sollte das Futter (nicht das Wasser) 3–4 Stunden zuvor vorenthalten werden). Nach diesem Futterentzug sollen die Tiere gewogen werden und die Testsubstanz verabreicht bekommen. Nach der Verabreichung der Substanz kann das Futter bei Ratten weitere 3–4 Stunden bzw. bei Mäusen weitere 1–2 Stunden zurückgehalten werden. Wenn die Dosis über einen bestimmten Zeitraum hinweg in Teilmengen verabreicht wird, kann es je nach Länge dieses Zeitraums erforderlich sein, die Tiere mit Futter und Wasser zu versorgen.

1.5.2 **Anzahl der Versuchstiere und Dosierung**

Für jeden Schritt werden drei Tiere verwendet. Die als Ausgangsdosis zu verwendende Dosis wird aus vier festen Dosiswerten gewählt: 5, 50, 300 und 2.000 mg pro kg Körpergewicht. Als Startdosis soll die Dosis gewählt werden, die mit der größten Wahrscheinlichkeit zur Mortalität einiger der behandelten Tiere führt. Die Prüfschemata in Anhang 1 beschreiben für jede dieser Ausgangsdosen die jeweils zu befolgende Vorgehensweise. Zur Ergänzung wird in Anhang 4 die Klassifizierung im EU-System bis zur Einführung des neuen GHS erläutert.

Wenn bereits verfügbare Informationen vermuten lassen, dass bei der höchsten Startdosis (2.000 mg pro kg Körpergewicht) keine Mortalität zu erwarten ist, soll ein Limit-Test durchgeführt werden. Wenn für eine zu testende Substanz keine Informationen zur Verfügung stehen, wird aus Tierschutzgründen empfohlen, als Ausgangsdosis 300 mg pro kg Körpergewicht zu verwenden.

Der Zeitabstand zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen richtet sich nach dem Einsetzen, der Dauer und dem Schweregrad der toxischen Zeichen. Die Behandlung der Versuchstiere mit der nächsten Dosis soll so lange abgewartet werden, bis angenommen werden kann, dass die zuvor behandelten Tiere überleben.

In Ausnahmefällen – und nur, wenn dies durch konkrete Vorschriften begründet ist – kann die Anwendung einer weiteren oberen Dosis von 5.000 mg pro kg Körpergewicht in Erwägung gezogen werden (siehe Anhang 2). Aus Tierschutzgründen wird von Tierversuchen im Bereich der GHS-Kategorie 5 (2.000–5.000 mg/kg) abgeraten; diese Versuche sollen nur dann in Betracht gezogen werden, wenn die Ergebnisse eines solchen Tests für den Schutz der Gesundheit von Menschen oder Tieren oder der Umwelt mit hoher Wahrscheinlichkeit direkt relevant wären.

1.5.3 **Limit-Test**

Der Limit-Test wird hauptsächlich dann eingesetzt, wenn die Person, die den Test durchführt, nach ihr vorliegenden Informationen davon ausgehen kann, dass das zu testende Material wahrscheinlich nicht toxisch ist, d.h. nur oberhalb der regulatorisch festgelegten Grenzdosen toxisch wirkt. Informationen über die Toxizität des Testmaterials können aus Kenntnissen über ähnliche getestete Verbindungen, Mischungen oder Produkte gewonnen werden, wobei Art und Prozentanteil der Komponenten zu berücksichtigen sind, deren toxikologische Relevanz bekannt ist. In den Fällen, in denen nur wenige oder keine Informationen über die Toxizität des Testmaterials vorliegen oder in denen von einer Toxizität des Testmaterials ausgegangen wird, sollte der Haupttest durchgeführt werden.

Ein Limit-Test mit einer Dosis von 2.000 mg pro kg Körpergewicht kann mit sechs Tieren durchgeführt werden (drei Tiere pro Schritt). In Ausnahmefällen kann ein Limit-Test mit einer Dosis von 5.000 mg/kg mit drei Tieren durchgeführt werden (siehe Anhang 2). Wenn eine mit der Testsubstanz in Zusammenhang stehende Mortalität ermittelt wird, müssen eventuell weitere Prüfungen mit der nächstniedrigeren Dosis durchgeführt werden.

1.6 BEOBACHTUNGEN

Die Tiere werden nach der Verabreichung einzeln beobachtet: mindestens einmal während der ersten 30 Minuten, in regelmäßigen Abständen während der ersten 24 Stunden, wobei die ersten vier Stunden besonders zu beachten sind, sowie anschließend täglich während einer Gesamtdauer von 14 Tagen, sofern die Tiere nicht aus Tierschutzgründen aus dem Versuch genommen und auf humane Weise getötet werden müssen oder ihr Tod festgestellt wird. Die Beobachtungsdauer sollte jedoch nicht strikt festgelegt werden; vielmehr sollte sie in Abhängigkeit von den toxischen Reaktionen, vom Zeitpunkt des Einsetzens dieser Reaktionen und von der Länge der Erholungsdauer festgelegt werden und kann daher ausgedehnt werden, wenn dies erforderlich scheint. Der Zeitpunkt, zu dem die Anzeichen von Toxizität auftreten und wieder verschwinden, ist von Bedeutung, und zwar insbesondere dann, wenn eine Tendenz zur zeitlichen Verzögerung der Toxizitätsanzeichen besteht (12). Sämtliche Beobachtungen werden für die Tiere systematisch jeweils in Einzelprotokollen dokumentiert.

Zusätzliche Beobachtungen sind erforderlich, wenn bei den Tieren weiterhin Anzeichen für Toxizität zu beobachten sind. Die Beobachtungen sollten Veränderungen an Haut und Fell, Augen und Schleimhäuten erfassen und auch die Atmung, den Kreislauf, das vegetative und zentrale Nervensystem sowie somatomotorische Aktivitäten und Verhaltensmuster berücksichtigen. Auf Beobachtungen wie Tremores, Krämpfe, Speichelfluss, Durchfall, Lethargie, Schlaf und Koma sollte geachtet werden. Die im Humane Endpoints Guidance Document (9) zusammengefassten Prinzipien und Kriterien sind zu berücksichtigen. Tiere, bei denen ein moribunder Zustand festgestellt wird, sowie Tiere, die starke Schmerzen haben oder anhaltende Anzeichen von schwerem Leiden zeigen, sollten auf humane Weise getötet werden. Wenn Tiere aus humanen Gründen getötet werden oder ihr Tod festgestellt wird, sollte der Todeszeitpunkt so genau wie möglich registriert werden.

1.6.1 **Körpergewicht**

Das Gewicht der einzelnen Tiere kurz vor der Verabreichung der Testsubstanz sowie spätestens eine Woche danach ermittelt werden. Gewichtsveränderungen sollen berechnet und registriert werden. Am Ende des Tests werden die überlebenden Tiere gewogen und auf humane Weise getötet.

1.6.2 **Pathologie**

Alle Versuchstiere (einschließlich der Tiere, die während des Tests sterben oder aus Tierschutzgründen aus der Studie genommen werden) sollen auf makroskopische Veränderungen untersucht werden. Alle makroskopischen Veränderungen sollen für jedes einzelne Tier registriert werden. Bei Tieren, die 24 oder mehr Stunden lang überlebt haben, kann auch eine mikroskopische Untersuchung von Organen mit makropathologischen Befunden in Erwägung gezogen werden, da sich hieraus eventuell nützliche Informationen gewinnen lassen.

2. **DATEN**

Es sollen Daten zu den einzelnen Tieren bereitgestellt werden. Darüber hinaus sollen sämtliche Daten in tabellarischer Form zusammengefasst werden, wobei für jede Testgruppe die folgenden Daten zu erfassen sind: Anzahl der verwendeten Tiere, Anzahl der Tiere mit Anzeichen für eine toxische Wirkung, Anzahl der Tiere, deren Tod während des Versuchs festgestellt wurde oder die aus humanen Gründen getötet wurden, Todeszeitpunkt der einzelnen Tiere, Beschreibung und Zeitverlauf der toxischen Wirkungen und ihrer Reversibilität sowie pathologische Befunde.

3. **BERICHT**

3.1 **Prüfbericht**

Der Prüfbericht muss die folgenden Angaben enthalten (soweit angemessen):

Testsubstanz:

- physikalische Beschaffenheit, Reinheit und, wenn maßgeblich, physikalisch-chemische Eigenschaften (einschließlich Isomerisierung),
- Identifizierungsdaten, einschließlich CAS-Nummer.

Vehikel (wenn verwendet):

- Begründung für die Auswahl des Vehikels (außer bei Wasser).

Versuchstiere:

- verwendete Spezies/Stamm,
- mikrobiologischer Zustand der Tiere (wenn bekannt),
- Anzahl, Alter und Geschlecht der Tiere (gegebenenfalls mit Begründung für den Einsatz von männlichen statt weiblichen Tieren),
- Bezugsquelle der Tiere, Haltungsbedingungen, Futter usw.

Testbedingungen:

– Angaben über die Zubereitung der Testsubstanz, einschließlich Angaben über die physikalische Beschaffenheit des verabreichten Stoffs,
– Angaben über die Verabreichung der Testsubstanz, einschließlich Applikationsvolumen und Zeitpunkt der Verabreichung,
– Angaben zur Futter- und Wasserqualität (einschließlich Art/Herkunft des Futters, Herkunft des Wassers),
– Begründung für die Wahl der Startdosis.

Ergebnisse:

– tabellarische Erfassung der erhobenen Daten und der Dosis für jedes einzelne Tier (d. h. Tiere, die Anzeichen für Toxizität zeigen, einschließlich Mortalität sowie Art, Schweregrad und Dauer der Wirkungen),
– tabellarische Erfassung des Körpergewichts und der Änderungen des Körpergewichts,
– Gewicht der einzelnen Tiere am Tag der Verabreichung, danach in wöchentlichem Abständen sowie am Tag des Todes bzw. der Tötung,
– Datum und Uhrzeit des Todes, sofern vor der planmäßigen Tötung eingetreten,
– zeitlicher Verlauf des Einsetzens von Toxizitätsanzeichen sowie Angabe, ob diese reversibel waren, für jedes einzelne Tier,
– Obduktionsergebnisse und histopathologische Ergebnisse für jedes einzelne Tier (wenn vorhanden).

Diskussion und Interpretation der Ergebnisse.

Schlussfolgerung.

4 LITERATURHINWEISE

(1) Roll R., Höfer-Bosse Th. And Kayser D. (1986). New Perspectives in Acute Toxicity Testing of Chemicals. Toxicol. Lett., Suppl. 31, 86

(2) Roll R., Riebschläger M., Mischke U. and 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. and 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. and 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., and Schlede E. (1999) Acute Toxicity Class Methods: Alterations to LD/LC_{50} Tests. ALTEX 16, 129-134

(6) Schlede E., Mischke U., Roll R. and Kayser D. (1992). A National Validation Study of the Acute-Toxic- Class Method – An Alternative to the LD_{50} Test. Arch. Toxicol. 66, 455-470.

(7) Schlede E., Mischke U., Diener W. and 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, p. 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 and Myers R C (1995) Comparison of the Up-and Down, Conventional LD_{50}, and Fixed Dose Acute Toxicity Procedures. Fd. Chem. Toxicol 33, 223-231.

(12) Chan P.K. and 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.

ANHANG 1

ZU BEACHTENDE VORGEHENSWEISE FÜR ALLE STARTDOSEN

ALLGEMEINE HINWEISE

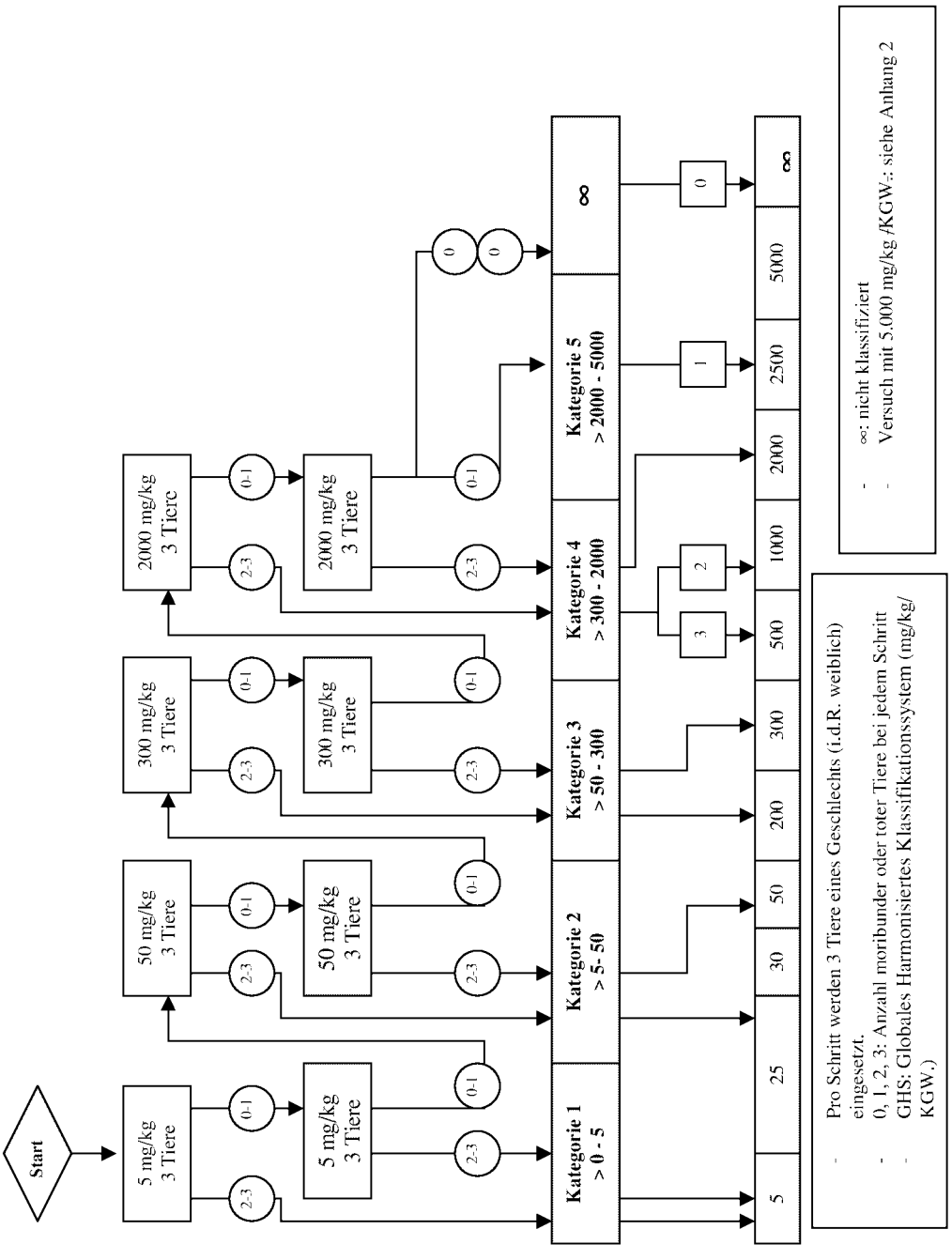
Die in diesem Anhang dargestellten Prüfschemata geben für jede Ausgangsdosis die jeweils zu beachtende Vorgehensweise an.

– Anhang 1a: Startdosis 5 mg pro kg Körpergewicht
– Anhang 1b: Startdosis 50 mg pro kg Körpergewicht
– Anhang 1c: Startdosis 300 mg pro kg Körpergewicht
– Anhang 1d: Startdosis 2000 mg pro kg Körpergewicht

Der Testverlauf folgt je nach Anzahl der auf humane Weise getöteten oder gestorbenen Versuchstiere den angegebenen Pfeilen.

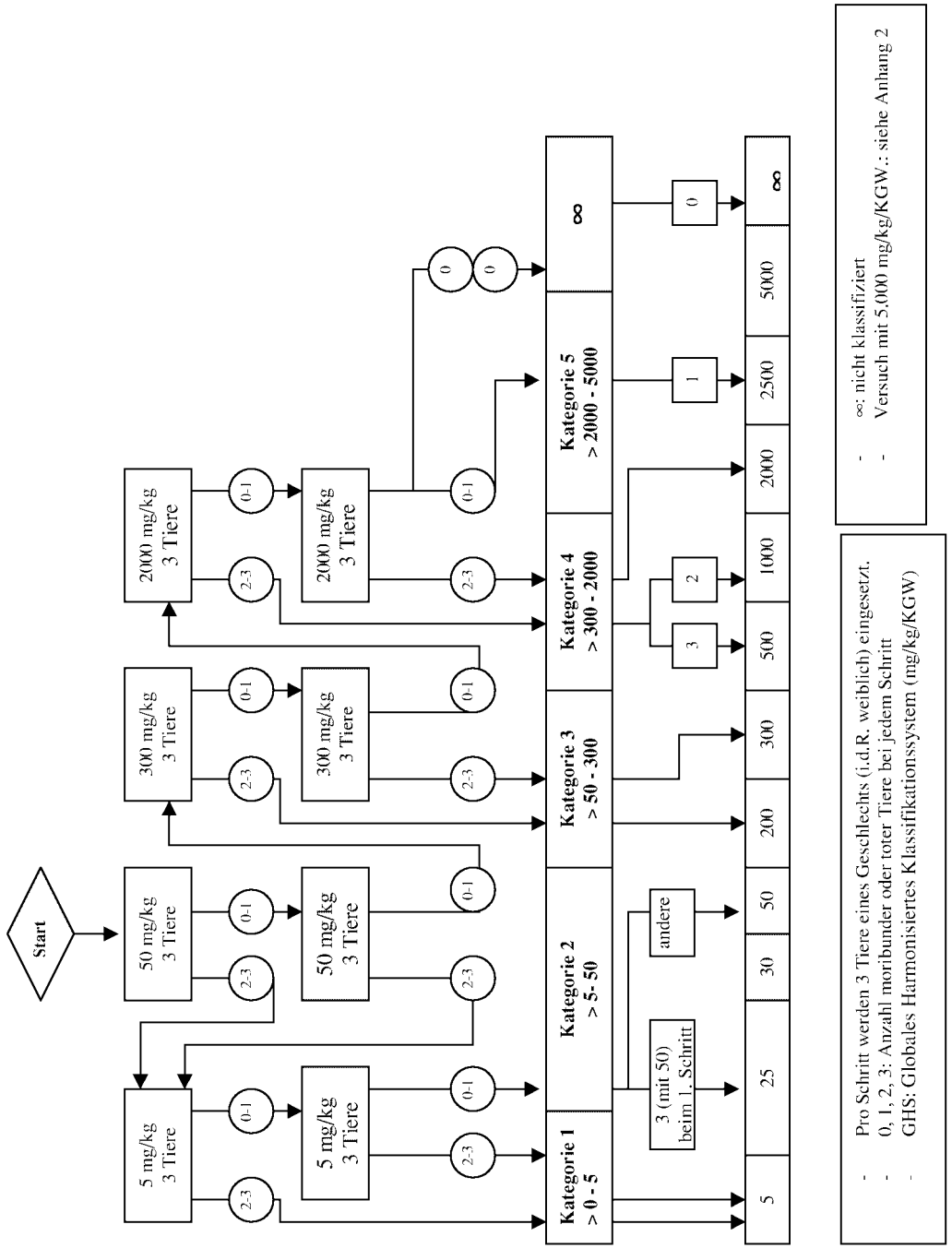
ANHANG 1 A

PRÜFVERFAHREN BEI EINER STARTDOSIS VON 5 mg PRO kg KÖRPERGEWICHT

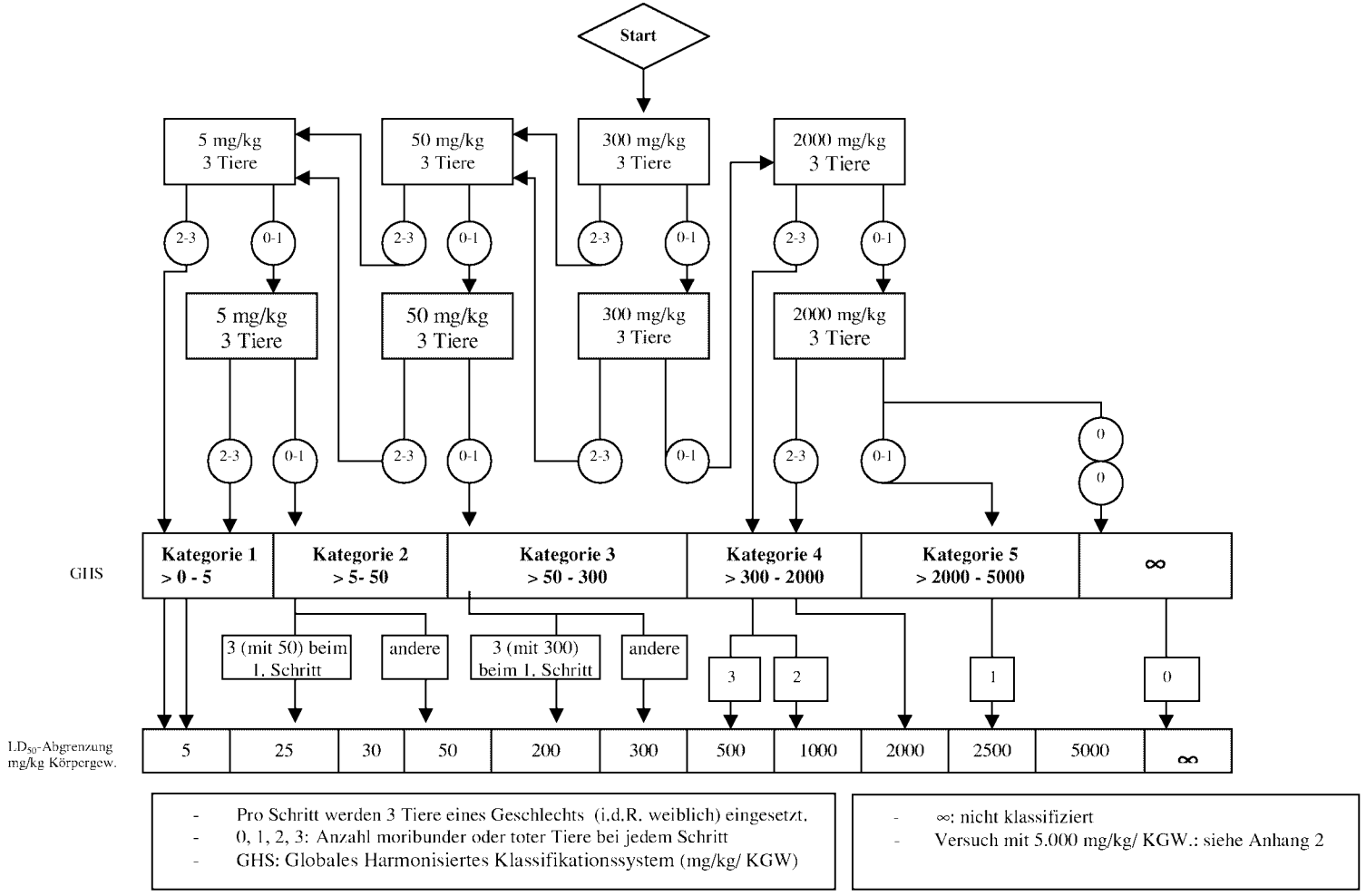


ANHANG 1 B

PRÜFVERFAHREN BEI EINER STARTDOSIS VON 50 mg PRO kg KÖRPERGEWICHT



ANHANG 1 C
PRÜFVERFAHREN BEI EINER STARTDOSIS VON 300 mg PRO kg KÖRPERGEWICHT

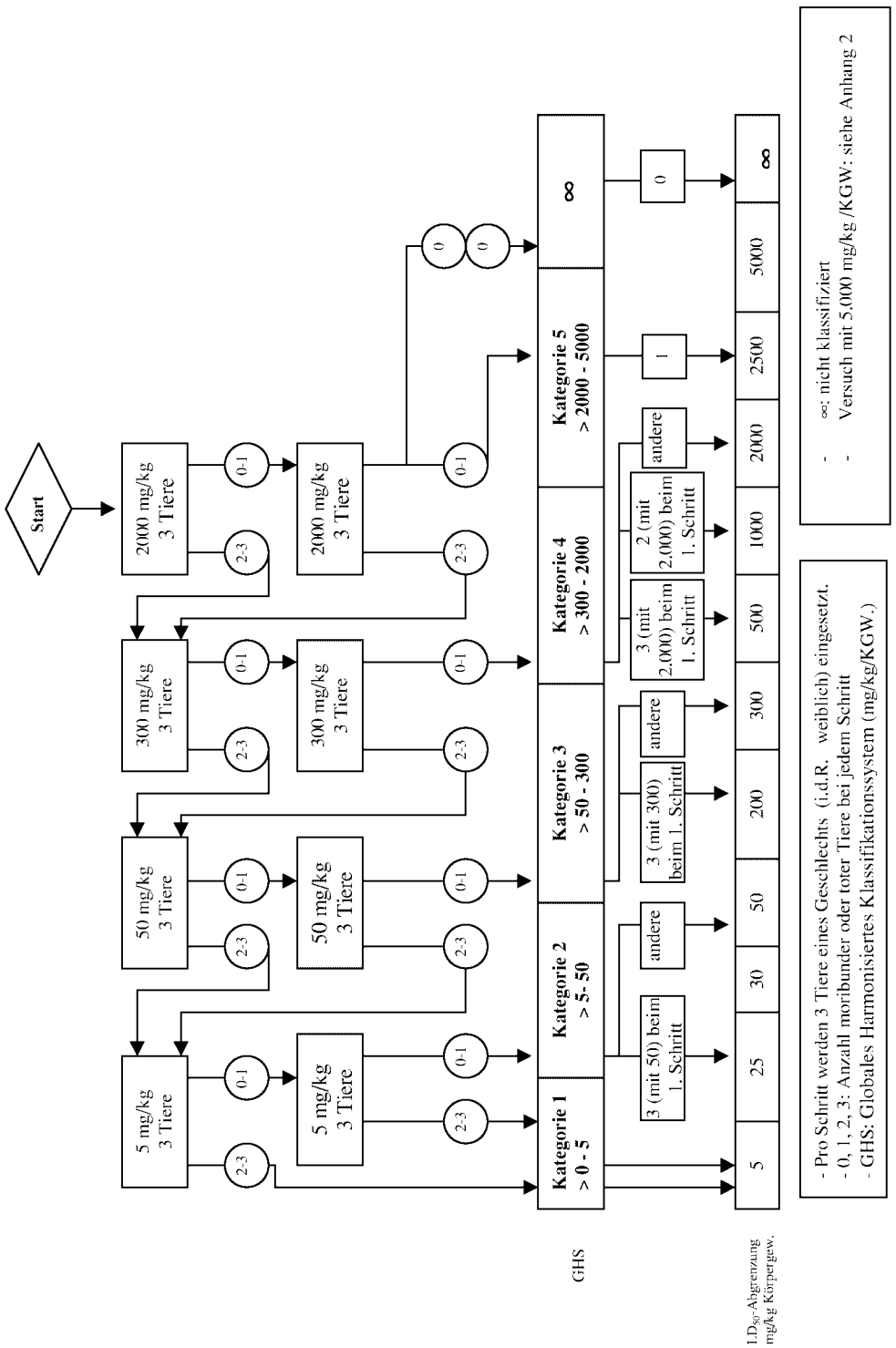


- Pro Schritt werden 3 Tiere eines Geschlechts (i.d.R. weiblich) eingesetzt.
- 0, 1, 2, 3: Anzahl moribunder oder toter Tiere bei jedem Schritt
- GHS: Globales Harmonisiertes Klassifikationssystem (mg/kg/ KGW)

- ∞: nicht klassifiziert
- Versuch mit 5.000 mg/kg/ KGW.: siehe Anhang 2

ANHANG 1 D

PRÜFVERFAHREN BEI EINER STARTDOSIS VON 2.000 mg PRO kg KÖRPERGEWICHT



ANHANG 2

KRITERIEN FÜR DIE KLASSIFIZIERUNG VON TESTSUBSTANZEN MIT ERWARTETEN LD_{50}-WERTEN ÜBER 2.000 mg/kg OHNE ERFORDERLICHE TESTS

Die Kriterien für die Gefahrenkategorie 5 sollen die Identifikation von Testsubstanzen ermöglichen, die eine vergleichsweise geringe akute Toxizitätsgefahr aufweisen, die aber unter bestimmten Umständen eine Gefahr für anfällige Bevölkerungsgruppen darstellen. Bei diesen Substanzen wird von einer oralen oder dermalen LD_{50} im Bereich 2.000–5.000 mg/kg bzw. von vergleichbaren Dosen für andere Verabreichungswege ausgegangen. Die Testsubstanz sollte in den folgenden Fällen in die Gefahrenkategorie 2.000 mg/kg < LD_{50} < 5.000 mg/kg (GHS-Kategorie 5) eingestuft werden:

a) wenn eines der Prüfschemata - aus Anhang 1a–1d aufgrund von Mortalitätsfällen zu dieser Kategorie führt;

b) wenn bereits zuverlässige Erkenntnisse dafür vorliegen, dass der LD_{50}-Wert im Bereich der Kategorie 5 liegt, oder wenn andere Tierversuche oder toxische Wirkungen auf Menschen akute Folgen für die menschlichen Gesundheit erwarten lassen;

c) wenn nach Extrapolierung, Schätzung oder Messung von Daten die Zuordnung zu einer höheren Gefahrenklasse nicht gerechtfertigt ist und

- zuverlässige Informationen vorliegen, die auf signifikante toxische Wirkungen bei Menschen hinweisen, oder
- Mortalitäten bei oraler Verabreichung in Versuchen mit Dosen bis zu der Kategorie 4 auftreten, oder
- eine fachkundige Beurteilung bei Versuchen mit Dosen bis zu den in Kategorie 4 genannten Werten signifikante klinische Toxizitätsanzeichen bestätigt (außer Durchfall, Haaraufrichtung oder zerzaustes Fell), oder
- eine fachkundige Beurteilung verlässliche Informationen bestätigt, die aus den anderen Tierversuchen ein Potenzial für signifikante akute Wirkungen erkennen lassen.

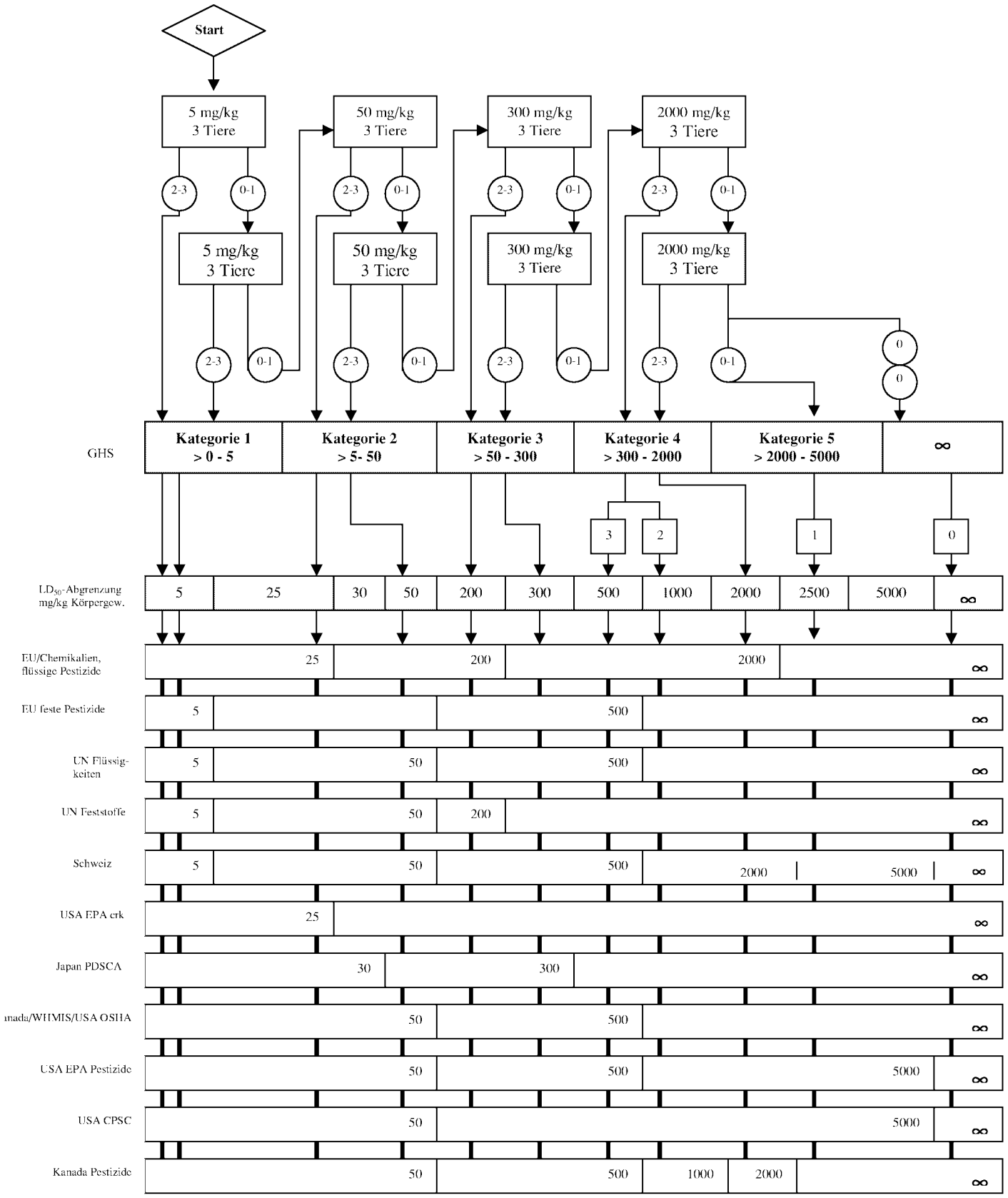
VERSUCHE MIT DOSEN ÜBER 2.000 mg/kg

Aus Tierschutzgründen wird von Tierversuchen im Bereich der Kategorie 5 (5.000 mg/kg) abgeraten; diese Versuche sollen nur dann in Erwägung gezogen werden, wenn die Ergebnisse eines solchen Versuchs für den Schutz der Gesundheit von Menschen oder Tieren oder der Umwelt mit hoher Wahrscheinlichkeit direkt relevant wären (10). Weitere Versuche mit noch höheren Dosierungen sollen nicht durchgeführt werden.

Wenn Versuche mit einer Dosis von 5.000 mg/kg notwendig sind, ist nur ein Schritt (d.h. drei Tiere) erforderlich. Wenn das erste Versuchstier stirbt, wird der Versuch mit einer Dosis von 2.000 mg/kg gemäß den Prüfschemata in Anhang 1 fortgesetzt. Wenn das erste Tier überlebt, wird die Substanz zwei weiteren Tieren verabreicht. Wenn nur eines der drei Tiere stirbt, wird ein LD_{50}-Wert von über 5.000 mg/kg angenommen. Wenn beide Tiere sterben, wird der Versuch mit der Dosis von 2.000 mg/kg fortgesetzt.

ANHANG 3

PRÜFVERFAHREN B.1 tris: Anleitung für die Klassifizierung gemäß dem EU-System zur Überbrückung des Übergangszeitraums bis zur vollständigen Umsetzung des „Globalen Harmonisierten Systems“ (GHS) (Auszug aus Literaturhinweis (8))

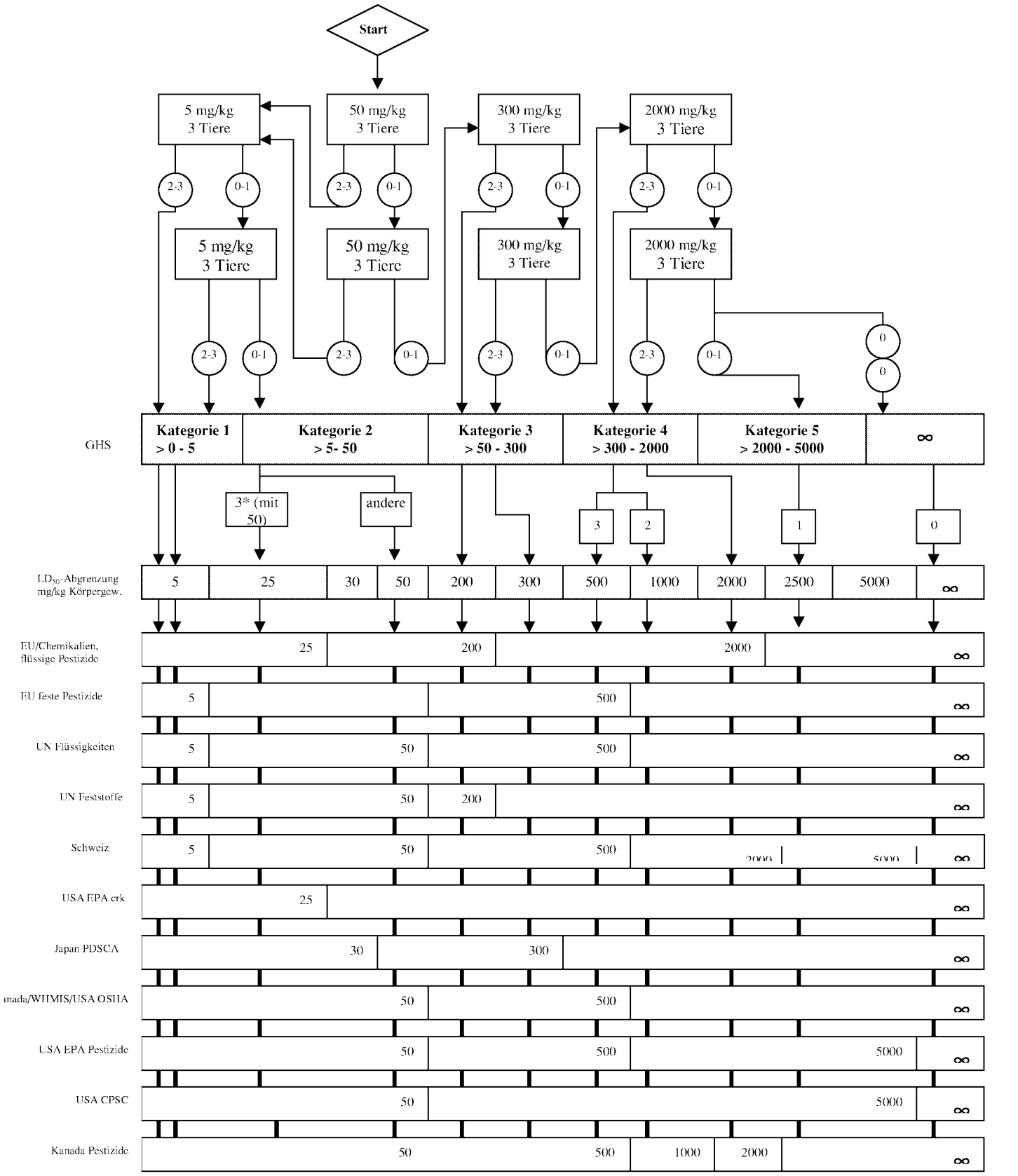


- Pro Schritt werden 3 Tiere eines Geschlechts (i.d.R. weiblich) verwendet.
- 0, 1, 2, 3: Anzahl der moribunden oder toten Tiere in jedem Schritt

- ∞: nicht klassifiziert
- GHS: Globales Harmonisiertes Klassifikationssystem (mg/kg /KGW.)

ANHANG 3 (FORTSETZUNG 1)

PRÜFVERFAHREN B.1 tris: Anleitung für die Klassifizierung gemäß dem EU-System zur Überbrückung des Übergangszeitraums bis zur vollständigen Umsetzung des „Globalen Harmonisierten Systems“ (GHS) (Auszug aus Literaturhinweis (8))



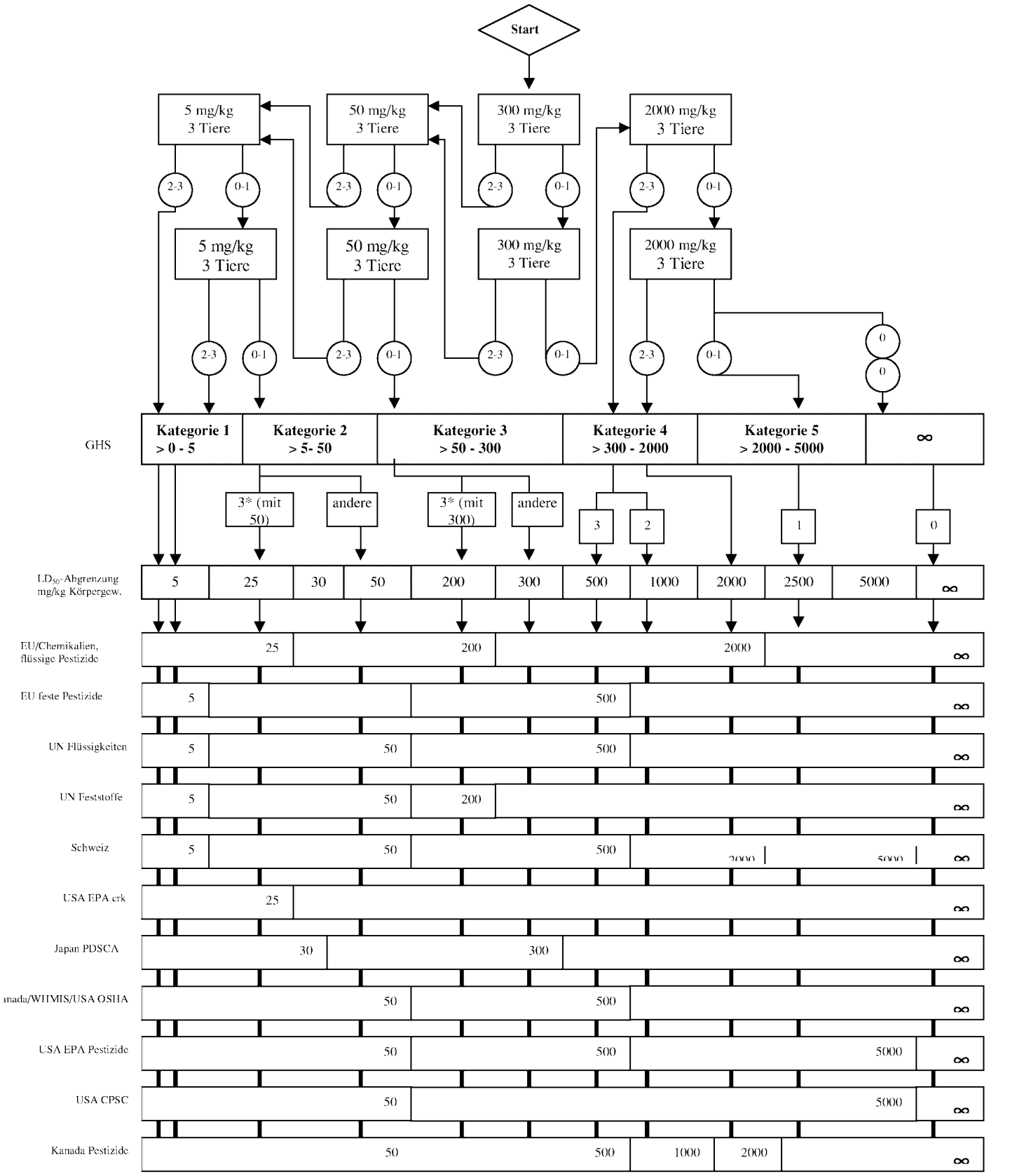
- Pro Schritt werden 3 Tiere eines Geschlechts (i.d.R. weiblich) verwendet.
- 0, 1, 2, 3: Anzahl der moribunden oder toten Tiere in jedem Schritt

- ∞: nicht klassifiziert
- *: im ersten Schritt
- GHS: Globales Harmonisiertes Klassifikationssystem (mg/kg /KGW.)

ANHANG 3 (FORTSETZUNG 2)

PRÜFVERFAHREN B.1 tris: Anleitung für die Klassifizierung gemäß dem EU-System zur Überbrückung des Übergangszeitraums bis zur vollständigen Umsetzung des „Globalen Harmonisierten Systems“ (GHS)

(Auszug aus Literaturhinweis (8))

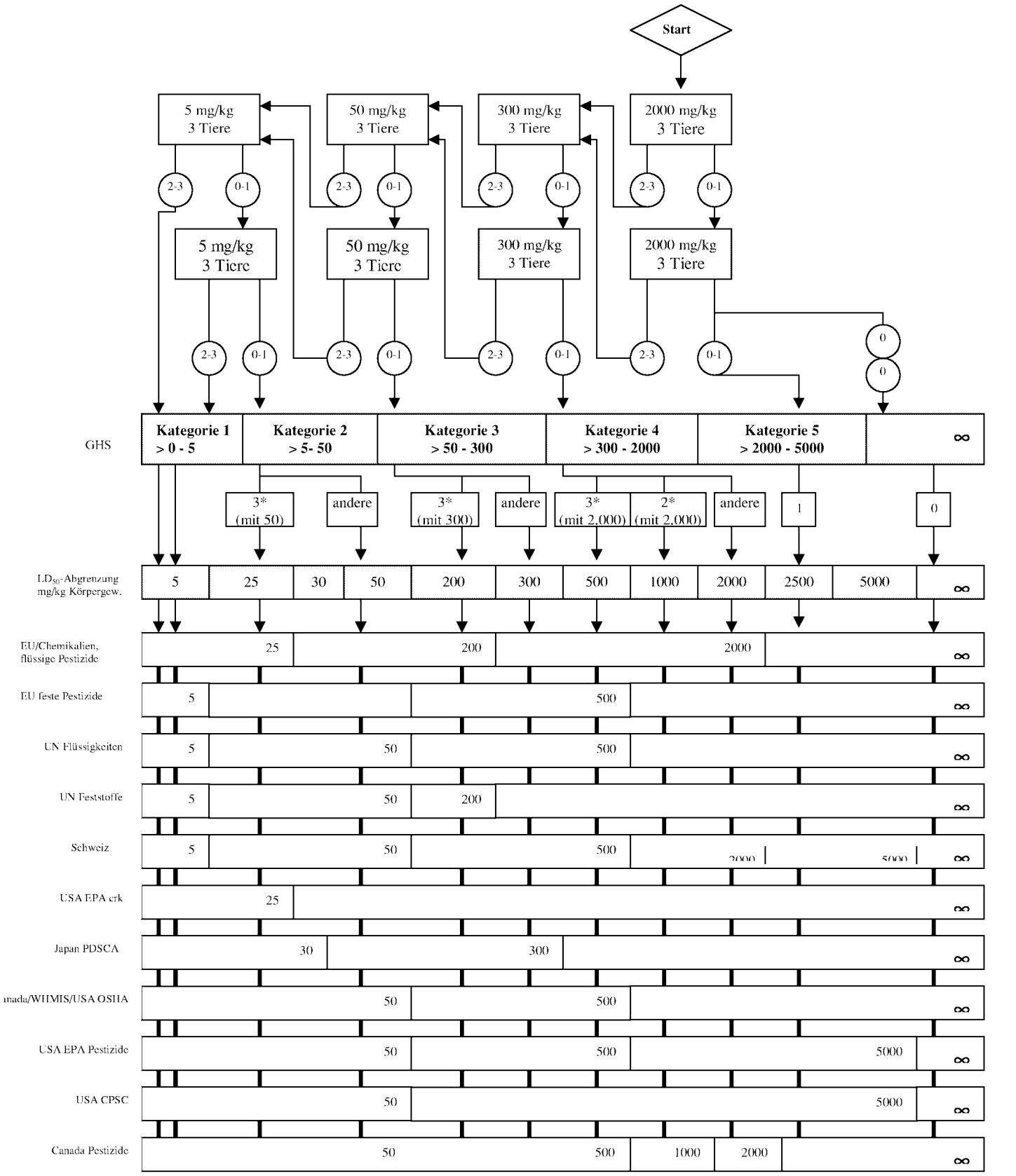


- Pro Schritt werden 3 Tiere eines Geschlechts (i.d.R. weiblich) verwendet.
- 0, 1, 2, 3: Anzahl der moribunden oder toten Tiere in jedem Schritt

- ∞: nicht klassifiziert
- *: im ersten Schritt
- GHS: Globales Harmonisiertes Klassifikationssystem (mg/kg /KGW.)

ANHANG 3 (FORTSETZUNG 3)

PRÜFVERFAHREN B.1 tris: Anleitung für die Klassifizierung gemäß dem EU-System zur Überbrückung des Übergangszeitraums bis zur vollständigen Umsetzung des „Globalen Harmonisierten Systems" (GHS) (Auszug aus Literaturhinweis (8))



- Pro Schritt werden 3 Tiere eines Geschlechts (i.d.R. weiblich) verwendet.
- 0, 1, 2, 3: Anzahl der moribunden oder toten Tiere in jedem Schritt

- ∞: nicht klassifiziert
- *: im ersten Schritt
- GHS: Globales Harmonisiertes Klassifikationssystem (mg/kg /KGW)

ANHANG 2D

B. 4. AKUTE TOXIZITÄT: HAUTREIZUNG/-VERÄTZUNG

1. METHODE

Diese Prüfmethode entspricht der OECD TG 404 (2002).

1.1 EINLEITUNG

Bei der Erarbeitung dieser aktualisierten Methode wurde besonderes Augenmerk auf mögliche Verbesserungen im Hinblick auf Belange des Tierschutzes und auf die Auswertung aller bereits vorhandenen Angaben über den Stoff gelegt, um unnötige Prüfungen an Labortieren zu vermeiden. Die vorliegende Methode beinhaltet die Empfehlung, vor der Durchführung des beschriebenen In-vivo-Tests zur Ermittlung des Verätzungs-/Reizungspotenzials des Stoffs eine kritische Analyse der vorhandenen einschlägigen Daten vorzunehmen. Sofern dazu nicht genügend Daten zur Verfügung stehen, können diese mit Hilfe sequenzieller Tests erzeugt werden (1). Die empfohlene Prüfstrategie enthält die Durchführung validierter und anerkannter In-vitro-Tests und wird im Anhang zu dieser Methode ausführlich dargestellt. Zudem wird empfohlen, beim In-vivo-Vorversuch nach Möglichkeit die drei Mullläppchen, mit denen die Prüfsubstanz aufgetragen wird, nacheinander und nicht gleichzeitig am Körper des Tiers zu fixieren.

Im Interesse wissenschaftlicher Verlässlichkeit und des Tierschutzes sollen In-vivo-Tests erst dann durchgeführt werden, wenn alle für das Hautverätzungs/-reizungspotenzial des Stoffs zur Verfügung stehenden einschlägigen Daten im Rahmen einer kritischen Analyse ausgewertet worden sind. Zu diesen Daten gehören unter anderem Erkenntnisse aus bereits durchgeführten Untersuchungen am Menschen und/oder an Labortieren; Hinweise auf Verätzungen/Reizungen durch strukturell verwandte Substanzen bzw. Gemische aus diesen Substanzen; Daten, die eine starke Azidität oder Alkalinität der Substanz belegen (2)(3), und die Ergebnisse validierter und anerkannter In-vitro- und Ex-vivo-Tests (4)(5)(5a). Diese Analyse soll dazu führen, dass weniger In-vivo-Untersuchungen zum Hautverätzungs-/-reizungspotenzial von Stoffen durchgeführt werden, wenn bereits andere Studien zu diesen beiden Endpunkten ausreichende Belege geliefert haben.

Im Anhang zu dieser Methode wird eine bevorzugte sequenzielle Prüfstrategie vorgestellt, welche die Durchführung validierter und anerkannter In-vitro- und Ex-vivo-Tests auf Verätzungs-/Reizungswirkungen einbezieht. Diese Strategie wurde während eines OECD-Workshops (6) entwickelt und von den Teilnehmern einmütig empfohlen. Sie wurde als empfohlene Prüfstrategie für das Globale Harmonisierte System der Einstufung und Kennzeichnung Chemischer Stoffe (Globally Harmonised System for the Classification of Chemical Substances = GHS) (7) angenommen. Es wird empfohlen, dass diese sequenzielle vor einem In-vivo-Test durchgeführt wird. Bei neuen Substanzen wird sie als stufenweiser Prüfansatz empfohlen, mit dessen Hilfe verlässliche wissenschaftliche Daten über die durch die Prüfsubstanz hervorgerufene Verätzung/Reizung erzielt werden können. Bei bereits bekannten Stoffen, für die nicht genügend Daten zum Hautvrätzungs-/reizungspotenzial vorliegen, soll die Strategie genutzt werden, um Datenlücken zu schließen. Der Einsatz einer anderen Prüfstrategie bzw. eines anderen Prüfverfahrens oder die Entscheidung gegen einen stufenweisen Prüfansatz sollgerechtfertigt werden.

Falls das Verätzungs-/Reizungspotenzial anhand einer gewichteten Analyse nicht ermittelt werden kann, die den Anforderungen der sequenziellen Prüfstrategie gerecht wird, soll ein In-vivo-Test ins Auge gefasst werden (siehe Anhang).

1.2 DEFINITIONEN

Hautreizung: ist das Auslösen einer reversiblen Hautschädigung nach Applikation einer Prüfsubstanz für die Dauer von bis zu 4 Stunden.

Hautverätzung: ist das Auslösen einer irreversiblen Hautschädigung, d. h. einer sichtbaren, bis in das Corium reichenden Nekrose der Epidermis nach Applikation einer Prüfsubstanz für die Dauer von bis zu 4 Stunden. Verätzungsreaktionen sind gekennzeichnet durch Geschwüre, Blutungen, blutige Verschorfungen und am Ende des Beobachtungszeitraums von 14 Tagen durch eine auf ein Ausbleichen der Haut zurückzuführende Verfärbung, komplett haarlose Bereiche und Narben. Bei unklaren Schädigungen sollen histopathologische Untersuchungen in Erwägung gezogen werden.

1.3 PRINZIP DER PRÜFMETHODE

Die Prüfsubstanz wird in einer einmaligen Dosierung auf die Haut eines Versuchstiers aufgetragen; nicht behandelte Hautareale dienen als Kontrolle. Der Grad der Reizung/Verätzung wird in zuvor festgelegten Zeitabständen bestimmt und bewertet und anschließend beschrieben, um eine umfassende Beurteilung der Wirkung vornehmen zu können. Die Beobachtungsdauer soll ausreichend sein, um die Reversibilität bzw. Irreversibilität der Wirkungen vollständig zu erfassen.

Tiere mit starken und anhaltenden Anzeichen von Leiden und/oder Schmerzen können jederzeit während des Versuchs human getötet werden, wobei die Substanz entsprechend einzustufen ist. Kriterien für die humane Tötung moribunder Tiere mit starken Anzeichen von Leiden sind dem Literaturhinweis (8) zu entnehmen.

1.4 BESCHREIBUNG DER PRÜFMETHODE

1.4.1 **Vorbereitung des In-vivo-Tests**

1.4.1.1 *Auswahl der Tierspezies*

Das bevorzugte Labortier ist das Albino-Kaninchen, wobei für den Test gesunde junge erwachsene Kaninchen verwendet werden. Die Verwendung anderer Spezies ist zu begründen.

1.4.1.2 *Vorbereitung der Versuchstiere*

Etwa 24 Stunden vor dem Versuch wird das Fell auf dem Rücken der Versuchstiere gründlich geschoren. Dabei ist darauf zu achten, dass die Haut nicht verletzt wird. Es sind nur Tiere mit einer gesunden, unverletzten Haut zu verwenden.

Einige Kaninchenrassen haben Stellen mit dichtem Fellbewuchs, die zu bestimmten Zeiten im Jahr deutlicher hervortreten. An diesen Stellen soll keine Prüfung durchgeführt werden.

1.4.1.3 *Haltungs- und Fütterungsbedingungen*

Die Tiere sollen einzeln gehalten werden. Die Temperatur im Versuchstierraum soll für Kaninchen 20°C (±3°C) betragen. Obwohl die relative Luftfeuchtigkeit mindestens 30% betragen und zu anderen Zeiten als während der Reinigung vorzugsweise nicht über 70% liegen sollte, ist ein Wert von 50-60% anzustreben. Der Raum soll künstlich beleuchtet sein, wobei die Beleuchtung im 12-Stunden-Rhythmus ein- und ausgeschaltet werden soll. An die Versuchstiere kann herkömmliches Laborfutter verfüttert werden, wobei eine unbegrenzte Trinkwasserversorgung zu gewährleisten ist.

1.4.2 **Prüfverfahren**

1.4.2.1 *Applikation der Prüfsubstanz*

Die Prüfsubstanz soll auf eine kleine Hautfläche (etwa 6 cm^2) aufgetragen und mit einem Mullläppchen abgedeckt werden, das mit einem nicht reizenden Pflaster fixiert wird. Sofern eine direkte Applikation nicht möglich ist (z. B. bei Flüssigkeiten oder bestimmten Pasten), soll die Prüfsubstanz zunächst auf das Mullläppchen gegeben werden, das anschließend auf der Haut fixiert wird. Für die Dauer der Exposition soll das Läppchen mit einem geeigneten Okklusiv- oder Semi-Okklusiv-Verband lose auf der Haut gehalten werden. Wird die Prüfsubstanz auf ein Läppchen aufgebracht, so ist dieses so auf der Haut zu fixieren, dass ein guter Hautkontakt und die gleichmäßige Verteilung der Substanz auf der Haut gewährleistet ist. Es ist zu vermeiden, dass das Tier an das Mullläppchen gelangt und die Prüfsubstanz oral aufnehmen bzw. inhalieren kann.

Flüssige Prüfsubstanzen werden im Allgemeinen unverdünnt angewendet. Wird der Versuch mit Feststoffen durchgeführt (die im Bedarfsfall pulverisiert werden können), dann soll die Prüfsubstanz mit gerade so viel Wasser (bzw. gegebenenfalls mit einem anderen geeigneten Vehikel) angefeuchtet werden, dass ein guter Kontakt mit der Haut sichergestellt ist. Bei Verwendung eines anderen Vehikels als Wasser soll dessen möglicher Einfluss auf eine Reizung der Haut minimal sein.

Nach Ablauf der Expositionszeit, die in der Regel 4 Stunden beträgt, wird die restliche Prüfsubstanz möglichst mit Wasser oder einem geeigneten Lösungsmittel entfernt, ohne dass die bestehende Reaktion oder die Integrität der Epidermis beeinträchtigt wird.

1.4.2.2 *Dosierungen*

Im Falle von Flüssigkeiten werden 0,5 ml und im Falle von Feststoffen oder Pasten 0,5 g auf die vorbereitete Hautstelle aufgetragen.

1.4.2.3 *Vorversuch (In-vivo-Test auf Hautreizung/-verätzung an einem Tier)*

Es empfiehlt sich dringend, den In-vivo-Test zunächst nur an einem Tier durchzuführen. Dies gilt insbesondere, wenn der Verdacht besteht, dass der Stoff ein Verätzungspotenzial hat. Damit wird den Anforderungen der sequenziellen Prüfstrategie entsprochen (siehe Anhang 1).

Sofern ein Stoff anhand einer kritischen Analyse vorhandener Daten als ätzend eingestuft wurde, brauchen keine weiteren Tierversuche durchgeführt zu werden. Bei den meisten Stoffen mit einer vermuteten Ätzungswirkung erübrigen sich in der Regel In-vivo-Tests. Allerdings können in den Fällen, in denen angesichts einer unzureichenden Datenlage die Ermittlung zusätzlicher Daten gerechtfertigt scheint, in begrenztem Umfang Tierversuche durchgeführt werden, wobei folgendermaßen vorzugehen ist: Bis zu drei Läppchen werden nacheinander appliziert. Das erste Läppchen wird nach drei Minuten entfernt. Wird keine schwere Hautreaktion festgestellt, erfolgt die Applikation eines zweiten Läppchens, das nach einer Stunde entfernt wird. Lassen die Beobachtungen zu diesem Zeitpunkt den Schluss zu, dass eine Exposition für die Dauer von vier Stunden ethisch verantwortbar ist, wird ein drittes Läppchen appliziert und nach vier Stunden entfernt. Anschließend wird die Reaktion bewertet.

Der Versuch wird sofort abgebrochen, falls nach einem der drei sequenziellen Expositionen eine ätzende Wirkung beobachtet wird. Ist nach der Entfernung des letzten Läppchens keine Verätzung feststellbar, wird das Tier 14 Tage lang beobachtet, sofern nicht vor Ablauf dieser Zeit Verätzungen auftreten.

Geht man davon aus, dass die Prüfsubstanz zwar keine ätzende Wirkung hat, aber Hautreizungen hervorrufen kann, sollte nur ein Tier verwendet werden, dem ein einziges Läppchen für die Dauer von vier Stunden appliziert wird.

1.4.2.4 *Bestätigungstest (In-vivo-Test auf hautreizende Wirkungen an zusätzlichen Tieren)*

Wird im Vorversuch keine ätzende Wirkung beobachtet, dann soll die Reizungsreaktion bzw. die negative Reaktion an bis zu zwei weiteren Tieren mit jeweils einem Läppchen bei einer Expositionsdauer von vier Stunden bestätigt werden. Ergibt der Vorversuch eine Reizungswirkung, kann der Bestätigungstest als sequenzieller Versuch bzw. durch gleichzeitige Exposition von zwei weiteren Tieren durchgeführt werden. Findet ausnahmsweise kein Vorversuch statt, können zwei bzw. drei Tiere mit einem Läppchen behandelt werden, das nach vier Stunden entfernt wird. Bei Verwendung von zwei Versuchstieren, die beide die gleiche Reaktion zeigen, erübrigen sich weitere Untersuchungen. Andernfalls wird auch das dritte Tier getestet. Unklare Reaktionen könnten möglicherweise bewertet werden, indem Versuche mit weiteren Tieren durchgeführt werden.

1.4.2.5 *Beobachtungszeitraum*

Die Beobachtungszeit soll so bemessen sein, dass die Reversibilität der festgestellten Wirkungen vollständig bewertet werden kann. Allerdings sollte der Versuch abgebrochen werden, sobald das Tier starke und anhaltende Anzeichen von Leiden und Schmerzen zeigt. Um feststellen zu können, ob die Wirkungen reversibel sind, sollen die Tiere für die Dauer von bis zu 14 Tagen nach Entfernung der Läppchen beobachtet werden. Bilden sich die Schäden vor Ablauf dieser 14 Tage zurück, soll der Versuch zu dem betreffenden Zeitpunkt beendet werden.

1.4.2.6 *Klinische Beobachtungen und Bewertung von Hautreaktionen*

Die Tiere sind auf Anzeichen von Hautrötungen und Ödemen zu untersuchen, wobei die Reaktion 60 Minuten sowie 24, 48 und 72 Stunden nach Entfernen des Läppchens bewertet wird. Beim Vorversuch an einem Tier wird die behandelte Stelle auch unmittelbar nach Entfernen des Läppchens untersucht. Die Hautreaktionen werden bewertet und anhand der Punkteskala in der unten stehenden Tabelle dokumentiert. Im Falle von Hautschädigungen, die nach 72 Stunden weder als Reizung noch als Verätzung eingestuft werden können, ist unter Umständen die Beobachtung bis zum 14. Tag erforderlich, um Aussagen zur Reversibilität der Wirkungen treffen zu können. Neben Hautreizungen sollen alle örtlich begrenzten toxischen Wirkungen (z. B. Entfettung der Haut), und alle negativen systemischen Wirkungen (z. B. klinische Anzeichen für Toxizität und Veränderungen des Körpergewichts) vollständig beschrieben und dokumentiert werden. Unklare Reaktionen sollen gegebenenfalls durch eine histopathologische Untersuchung abgeklärt werden.

Die Bewertung von Hautreaktionen ist zwangsläufig subjektiv. Um die Einstufung von Hautreaktionen stärker zu vereinheitlichen und den Prüflabors und allen an den Versuchen und an der Interpretation der Versuchsergebnisse Beteiligten die Arbeit zu erleichtern, müssen die Prüfer im Umgang mit der Bewertungsskala (siehe unten stehende Tabelle) entsprechend geschult werden. Dabei könnte sich ein Leitfaden mit Abbildungen zur Bewertung von Hautreizungen und anderen Schädigungen als hilfreich erweisen (9).

2. **DATEN**

2.1 ERGEBNISDARSTELLUNG

Die Untersuchungsergebnisse sollen im Abschlussbericht in Tabellenform dargestellt werden und alle in Abschnitt 3.1 genannten Punkte umfassen.

2.2 ERGEBNISBEWERTUNG

Die Bewertung der Hautreizung soll anhand der Art und des Schweregrads der Schädigung und deren Reversibilität bzw. Irreversibilität vorgenommen werden. Die einzelnen ermittelten Schweregrade stellen keinen allein gültigen Maßstab für die hautreizenden Eigenschaften eines Stoffs dar, denn es werden auch andere Effekte der Prüfsubstanz beurteilt. Vielmehr sollten diese einzelnen Graduierungswerte als Referenzwerte betrachtet werden, die zusammen mit allen anderen Ergebnissen der Studie zu beurteilen sind.

Bei der Bewertung von hautreizenden Reaktionen spielt auch die Reversibilität der Hautschädigung eine Rolle. Bestehen Reaktionen wie (begrenzter) Haarausfall, Hyperkeratose, Hyperplasie und Schuppung bis zum Ende des 14-tägigen Beobachtungszeitraums, soll die Prüfsubstanz als hautreizender Stoff betrachtet werden.

3. BERICHTERSTATTUNG

3.1 PRÜFBERICHT

Der Prüfbericht muss folgende Angaben enthalten:

Begründung für den In-vivo-Test: Kritische Analyse von Daten aus früheren Versuchen unter Einbeziehung von Ergebnissen aus der sequenziellen Prüfstrategie:

- Beschreibung aller einschlägigen Daten aus früheren Versuchen;
- Daten, die in den einzelnen Stufen der Prüfstrategie erhoben wurden;
- Beschreibung der durchgeführten In-vitro-Tests mit Einzelheiten zu angewandten Verfahren sowie zu den Ergebnissen für Prüf-/Referenzsubstanzen;
- Gewichtungsanalyse als Grundlage für die Durchführung einer In-vivo-Studie.

Prüfsubstanz:

- Angaben zur Identität (z. B. CAS-Nummer, Bezugsquelle, Reinheit, bekannte Verunreinigungen; Chargennummer);
- physikalische Beschaffenheit und physikalisch-chemische Eigenschaften (z. B. pH-Wert, Flüchtigkeit, Löslichkeit, Stabilität);
- bei Gemischen Zusammensetzung und relative Anteile der Bestandteile in Prozent.

Vehikel:

- Angaben zur Identität, (gegebenenfalls) Konzentration; Einsatzvolumen;
- Begründung der Auswahl des Vehikels.

Versuchstiere:

- verwendete Spezies/Rasse, Begründung für den Verzicht auf die Verwendung von Albino-Kaninchen und die Nutzung anderer Tiere;
- Anzahl der Versuchstiere pro Geschlecht;
- Gewicht der einzelnen Tiere bei Versuchsbeginn und -ende;
- Alter der Tiere bei Beginn der Studie;
- Herkunft der Tiere, Haltungsbedingungen, Futter usw.

Prüfbedingungen:

- Methode der Vorbereitung des Hautareals, auf das die Mullläppchen appliziert werden;
- Angaben zu dem für die Läppchen verwendeten Material und zur Abdeckmethode;
- Angaben zur Herstellung, Applikation und Entfernung der Prüfsubstanz.

Ergebnisse:

- tabellarische Erfassung der Bewertung des Schweregrades von Hautreizungs-/-verätzungsreaktionen zu allen Messzeitpunkten für jedes einzelne Versuchstier;
- Beschreibung aller beobachteten Schädigungen;
- ausführliche Beschreibung von Art und Schwere der festgestellten Hautreizung bzw. -verätzung sowie Angaben zu eventuellen histopathologischen Befunden;
- Beschreibung anderer örtlich begrenzter negativer (z. B. Entfettung der Haut) und systemischer Wirkungen neben den Hautreizungen bzw. -verätzungen.

Diskussion der Ergebnisse

4. **LITERATURHINWEISE**

(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.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 Substances 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) Monographie Nr. 15, „Skin Irritation" (Hautreizung), Umwelt- und Technologiezentrum der Europäischen Chemischen Industrie, Brüssel.

(5) Fentem, J.H., Archer, G.E.B., Balls, M., Botham, P.A., Curren, R.D., Earl, L.K., , Esdaile, D.J., Holzhutter, H.G., und 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, S. 483 – 524.

(5a) Prüfmethode B.40: Hautverätzung.

(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, Schweden, 22. - 24. Januar 1996 (http://www1.oecd.org/ehs/test/background.htm).

(7) OECD (1998) Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, bestätigt auf der 28. Gemeinsamen Tagung des Chemikalien-Ausschusses und der Arbeitsgruppe Chemikalien, November 1998 (http://www1.oecd.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://www1.oecd.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.
[auf Anfrage beim OECD-Sekretariat erhältlich].

TABELLE I: BEWERTUNG VON HAUTREAKTIONEN

Bildung von Erythemen und Schorf

Kein Erythem	0
Sehr leichtes Erythem (kaum wahrnehmbar)	1
Klar abgegrenztes Erythem	2
Mäßiges bis ausgeprägtes Erythem	3
Ausgeprägtes Erythem (dunkelrot) bis hin zur Schorfbildung, so dass eine Bewertung nicht möglich ist	4

Höchstmögliche Punktzahl: 4

Bildung von Ödemen

Kein Ödem	0
Sehr leichtes Ödem (kaum wahrnehmbar)	1
Leichtes Ödem (Ränder des betroffenen Areals durch deutliche Schwellung klar abgegrenzt)	2
Mäßiges Ödem (Schwellung etwa 1 mm)	3
Ausgeprägtes Ödem (Schwellung mehr als 1 mm und über den Expositionsbereich hinaus)	4

Höchstmögliche Punktzahl: 4

Zur Klärung unklarer Reaktionen kann eine histopathologische Untersuchung erfolgen.

ANHANG

Sequenzielle Prüfstrategie für Hautreizungen und -verätzungen

ALLGEMEINE ÜBERLEGUNGEN

Im Interesse wissenschaftlicher Verlässlichkeit und des Tierschutzes muss die unnötige Verwendung von Versuchstieren verhindert und die Durchführung von Versuchen, die bei den Tieren wahrscheinlich schwere Reaktionen hervorrufen, auf ein Mindestmaß beschränkt werden. Bevor ein In-vivo-Test ins Auge gefasst wird, sollen zunächst alle einschlägigen Informationen über die potenziell hautätzenden/-reizenden Wirkungen eines Stoffs bewertet werden. Möglicherweise liegen bereits genügend Kriterien für die Einstufung einer Prüfsubstanz anhand ihres Hautätzungs-/-reizungspotenzials vor, so dass sich Versuche an Labortieren erübrigen. Folglich schränkt die Durchführung einer kritischen Analyse bereits vorliegender Daten und die Anwendung einer sequenziellen Prüfstrategie die Notwendigkeit von In-vivo-Tests deutlich ein. Dies gilt umso mehr, wenn davon auszugehen ist, dass der Stoff schwere Reaktionen hervorruft.

Zur Beurteilung bereits vorhandener Informationen über die hautreizenden/-ätzenden Wirkungen von Substanzen soll das Instrument der Gewichtungsanalyse herangezogen werden. Ausgehend davon ist zu entscheiden, ob zusätzliche Studien, bei denen es sich nicht um In-vivo-Hautuntersuchungen handelt, als Beitrag zur Charakterisierung dieses Potenzials erfolgen sollen. Sofern weitere Studien durchgeführt werden müssen, empfiehlt es sich, zur Erzeugung der sachdienlichen Versuchsdaten die sequenzielle Prüfstrategie zu nutzen. Bei noch nicht geprüften Stoffen soll die sequenzielle Prüfstrategie herangezogen werden, um die Datensätze zu erzeugen, die für die Beurteilung des hautätzenden/-reizenden Potenzials benötigt werden. Die in diesem Anhang beschriebene Prüfstrategie wurde während eines OECD-Workshops (1) entwickelt Sie wurde im Rahmen des „Harmonised Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances" bestätigt und weiter ausgebaut, das im November 1998 von den Teilnehmern der 28. Gemeinsamen Tagung des Chemikalien-Ausschusses und der Arbeitsgruppe Chemikalien gebilligt wurde (2).

Diese sequenzielle Prüfstrategie gehört zwar nicht zu den integralen Bestandteilen von Prüfmethode B.4, sie stellt aber den empfohlenen Ansatz zur Ermittlung von hautreizenden/-ätzenden Merkmalen dar. In diesem Ansatz spiegelt sich zum einen die beste Praxis wider. Zum anderen ist er ein ethischer Richtwert für In-vivo-Tests auf hautreizende/-ätzende Wirkungen. Die Prüfmethode bietet nicht nur eine Anleitung zur Durchführung des In-vivo-Tests, sondern auch eine Übersicht über die Faktoren, die vor der Durchführung eines solchen Versuchs überprüft werden sollen. Die Strategie liefert einen Ansatz für die Bewertung bereits vorhandener Daten über die hautreizenden/-ätzenden Eigenschaften von Prüfsubstanzen und einen stufenweisen Ansatz für die Erzeugung sachdienlicher Daten über Stoffe, die im Rahmen zusätzlicher Studien untersucht werden müssen bzw. noch gar nicht untersucht wurden. Zudem wird empfohlen, in bestimmten Fällen validierte und anerkannte In-vitro- und Ex-vivo-Tests auf hautreizende/-ätzende Wirkungen durchzuführen.

BESCHREIBUNG DER BEWERTUNGS- UND PRÜFSTRATEGIE

Vor der Durchführung von Versuchen im Rahmen der sequenziellen Prüfstrategie (Fließbild) sollen sämtliche vorhandenen Informationen ausgewertet werden, um die Notwendigkeit von In-vivo-Hauttests zu klären. Auch wenn wichtige Informationen aus der Beurteilung einzelner Parameter (z. B. extreme pH-Werte) gewonnen werden können, sollten die bereits vorliegenden Angaben in ihrer Gesamtheit betrachtet werden. Alle relevanten Daten über die Wirkungen des betreffenden Stoffs oder seiner Analoge sollen mit Hilfe einer Gewichtungsanalyse bewertet werden, und diese Entscheidung soll begründet werden. Dabei sollten bereits vorliegende Angaben zur Wirkung der Substanz auf Mensch und Tier im Vordergrund stehen, gefolgt von den Ergebnissen von In-vitro- und Ex-vivo-Tests. In-vivo-Studien mit hautätzenden Substanzen sollten nach Möglichkeit immer vermieden werden. Folgende Faktoren werden in der Prüfstrategie erörtert:

Beurteilung bereits vorliegender Angaben zur Wirkung der Substanz auf Mensch und Tier (Stufe 1). Zunächst sollen bereits vorhandene Informationen über die Wirkung auf den Menschen, z. B. klinische Studien oder Studien zur Exposition am Arbeitsplatz, sowie Fallberichte und/oder Ergebnisse von Tierversuchen, beispielsweise von Untersuchungen zur Toxizität nach einmaliger oder mehrmaliger Hautexposition, bewertet werden, denn sie liefern Hinweise, die unmittelbar die Hautwirkungen betreffen. Bei Stoffen mit bekannter hautätzender/-reizender Wirkung und Substanzen, die nachweislich weder Hautreizungen noch -verätzungen hervorrufen, brauchen keine In-vivo-Studien durchgeführt zu werden.

Analyse der Zusammenhänge zwischen Struktur und Aktivität (SAR) (Stufe 2). Die gegebenenfalls vorhandenen Ergebnisse von Untersuchungen an strukturell verwandten Substanzen sollen berücksichtigt werden. Liegen genügend Daten über das hautätzende/-reizende Potenzial von strukturell verwandten Substanzen oder Gemischen aus diesen Substanzen bei Mensch und/oder Tier vor, kann davon ausgegangen werden, dass die zu beurteilende Prüfsubstanz die gleichen Reaktionen hervorrufen wird. In diesen Fällen braucht die Prüfsubstanz möglicherweise nicht getestet zu werden. Für die Zwecke der sequenziellen Prüfstrategie reichen negative Daten aus Untersuchungen an strukturell verwandten Substanzen oder Gemischen als Nachweis für ein Nichtvorhandensein hautätzender/-reizender Wirkungen nicht aus. Zur Ermittlung des hautätzenden und -reizenden Potenzials sollen validierte und anerkannte SAR-Verfahren herangezogen werden

.

Physikalisch-chemische Eigenschaften und chemische Reaktivität (Stufe 3). Stoffe mit extremen pH-Werten (≤2,0 bzw. ≥11,5) können starke lokale Reaktionen induzieren. Gilt ein extremer pH-Wert als Anhaltspunkt für die ätzende Wirkung eines Stoffs, so kann dessen Potenzial zur Veränderung der Azidität/Alkalinität (bzw. das Pufferungsvermögen) ebenfalls berücksichtigt werden (3)(4). Lässt das Pufferungsvermögen darauf schließen, dass eine Substanz möglicherweise keine hautätzende Wirkung hat, sollen weitere Prüfungen zur Bestätigung dieser Vermutung durchgeführt worden. Dafür sollten wenn möglich validierte und anerkannte In-vitro- oder Ex-vivo-Tests genutzt werden (siehe Stufen 5 und 6).

Dermale Toxizität (Stufe 4). Hat sich ein chemischer Stoff als sehr giftig bei Hautkontakt erwiesen, ist eine In-vivo-Studie zur Hautreizung/-verätzung unter Umständen nicht angezeigt, weil bei Applikation der Prüfsubstanz in der üblichen Menge die sehr toxische Dosis überschritten wird, was letztlich dazu führt, dass die Tiere sterben oder ihnen schwere Leiden zugefügt werden. Wenn darüber hinaus bereits Studien zur dermalen Toxizität mit Dosierungen von bis zu 2000 mg/kg Körpergewicht oder darüber an Albino-Kaninchen durchgeführt wurden, ohne dass Hautreizungen oder -verätzungen feststellbar waren, sind zusätzliche Prüfungen auf hautreizende/-ätzende Wirkungen möglicherweise nicht vonnöten. In die Bewertung der akuten dermalen Toxizität anhand der Ergebnisse früherer Studien sollen mehrere Überlegungen einbezogen werden. So können die Angaben über Hautschädigungen unvollständig sein. Die Prüfungen und Beobachtungen können an anderen Tierarten erfolgt sein, und die Reaktionen der verschiedenen Arten weisen eventuell große Unterschiede auf. Überdies war die applizierte Prüfsubstanz für eine Bewertung der Hautreizung/-verätzung unter Umständen nicht geeignet (z. B. Verdünnung der Substanzen zur Untersuchung der dermalen Toxizität) (5). Wurden jedoch sorgfältig geplante Studien zur dermalen Toxizität an Kaninchen durchgeführt, die negative Ergebnisse erbrachten, reicht dies gegebenenfalls als Nachweis für das Nichtvorhandensein eines hautreizenden/-ätzenden Potenzials aus.

Ergebnisse von In-vitro- und Ex-vivo-Tests (Stufen 5 und 6). Substanzen, deren ätzende oder schwer hautreizende Eigenschaften in validierten und anerkannten, auf die Ermittlung dieser bestimmten Wirkungen ausgerichteten In-vitro- oder Ex-vivo-Tests (6)(7) nachgewiesen wurden, brauchen nicht an Tieren geprüft zu werden. Man kann davon ausgehen, dass diese Substanzen in vivo vergleichbare schwere Wirkungen hervorrufen.

In-vivo-Tests an Kaninchen (Stufen 7 und 8). Beruht die Entscheidung, einen In-vivo-Test durchzuführen, auf einer Gewichtungsanalyse, sollte zunächst ein Vorversuch an nur einem Tier stattfinden. Es sollen keine weiteren Tests erfolgen, wenn der Vorversuch ergibt, dass die Substanz ätzend auf die Haut wirkt. Liefert der Vorversuch keine Anhaltspunkte für eine ätzende Wirkung, soll die reizende oder negative Reaktion durch Tests an bis zu zwei weiteren Tieren bei einer Expositionsdauer von vier Stunden bestätigt werden. Wenn im Vorversuch eine hautreizende Wirkung beobachtet wird, kann der Bestätigungstest entweder sequenziell oder durch gleichzeitige Exposition von zwei weiteren Tieren erfolgen.

LITERATURHINWEISE

(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, Schweden, 22.–24. Januar 1996 (http://www1.oecd.org/ehs/tests/background.htm).

(2) OECD (1998). Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, bestätigt auf der 28. Gemeinsamen Tagung des Chemikalien-Ausschusses und der Arbeitsgruppe Chemikalien, 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) S. 19-26.

(5) Patil, S.M., Patrick, E., Maibach, H.I. (1996) Animal, Human, and In Vitro Test Methods for Predicting Skin Irritation, in: Francis N. Marzulli und Howard I. Maibach (Herausgeber): Dermatotoxicology. 5. Auflage, ISBN 1-56032-356-6, Kapitel 31, 411-436.

(6) Prüfmethode 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., und 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, S. 483 – 524.

FLIESSBILD

PRÜF- UND BEWERTUNGSSTRATEGIE: HAUTREIZUNG/-VERÄTZUNG

	Stufe	Ergebnis	Schlussfolgerung
1	bereits vorliegende Daten aus Untersuchungen am Menschen und/oder an Tieren belegen Wirkungen auf die Haut bzw. auf die Schleimhäute	Ätzend	Apikaler Endpunkt; gilt als ätzend. Keine Prüfung erforderlich.
		Reizend	Apikaler Endpunkt; gilt als hautreizend. Keine Prüfung erforderlich.
		Nicht ätzend/nicht reizend	Apikaler Endpunkt; gilt als nicht ätzend oder hautreizend. Keine Prüfung erforderlich.
	↓		
	Keine Informationen vorhanden bzw. vorhandene Informationen sind nicht schlüssig		
	↓		
2	Durchführung einer SAR-Analyse auf hautreizende/-ätzende Wirkung	Vorhersage schwere Hautschädigung	Gilt als ätzend. Keine Prüfung erforderlich.
		Vorhersage Hautreizung	Gilt als reizend. Keine Prüfung erforderlich
	↓		
	Vorhersage nicht möglich bzw. Vorhersagen nicht schlüssig oder negativ		
	↓		
3	Messung pH-Wert (ggfs. unter Berücksichtigung des Pufferungsvermögens)	pH ≤ 2 bzw. ≥ 11,5 (ggfs. mit hohem Pufferungsvermögen)	Vermutlich ätzend. Keine Prüfung erforderlich.
	↓		
	2 < pH < 11,5 oder ggfs. pH ≤2,0 oder ≥11,5 mit geringem/ohne Pufferungsvermögen		
	↓		
4	Bewertung der Daten zur systemischen Toxizität nach Applikation auf die Haut[1]	Sehr toxisch	Keine weitere Prüfung erforderlich.
		Bis zu Dosen von 2000 mg/kg Körpergewicht oder darüber bei Kaninchen nicht ätzend oder reizend	Vermutlich nicht ätzend oder reizend. Keine weitere Prüfung erforderlich.
	↓		
	Entsprechende Informationen stehen nicht zur Verfügung oder sind nicht schlüssig		
	↓		
5	Durchführung validierter und anerkannter In-vitro- oder Ex-vivo-Tests auf hautätzende Wirkungen	Verätzung	In vivo vermutlich ätzend. Keine weitere Prüfung erforderlich.
	↓		
	Substanz ist nicht ätzend		
	↓		
6	Durchführung validierter und anerkannter In-vitro- oder Ex-vivo-Tests auf hautreizende Wirkungen	Reizung	In vivo vermutlich reizend. Keine weitere Prüfung erforderlich.
	↓		

[1] Kann vor den Stufen 2 und 3 erfolgen.

Validierte In-vitro oder Ex-vivo-Verfahren zur Prüfung auf Hautreizungen stehen noch nicht zur Verfügung oder die Substanz wirkt nicht hautreizend

↓

7	Durchführung des In-vivo-Vorversuchs an einem Tier	Schwere Hautschädigung	Gilt als ätzend. Keine weitere Prüfung erforderlich.

↓

Keine schweren Schädigungen

↓

8	Durchführung des Bestätigungstests an ein oder zwei weiteren Tieren	Ätzend oder reizend	Gilt als ätzend oder reizend. Keine weitere Prüfung erforderlich
		Nicht ätzend oder reizend	Gilt als nicht ätzend oder reizend. Keine weitere Prüfung erforderlich

ANHANG 2E

B. 5. AKUTE TOXIZITÄT: AUGENREIZUNG/-VERÄTZUNG

1. METHODE

Diese Prüfmethode entspricht der OECD TG 405 (2002).

1.1 EINLEITUNG

Bei der Erarbeitung dieser aktualisierten Methode wurde besonderes Augenmerk auf mögliche Verbesserungen durch die Auswertung aller bereits vorhandenen Angaben über den Stoff gelegt, um unnötige Prüfungen an Labortieren zu vermeiden und somit auch Belange des Tierschutzes zu berücksichtigen. Die vorliegende Methode beinhaltet die Empfehlung, vor der Durchführung des beschriebenen In-vivo-Tests zur Ermittlung der akuten Reiz-/Ätzwirkung des Stoffs für die Augen eine kritische Analyse (1) der bereits vorhandenen einschlägigen Daten vorzunehmen. Sofern nicht genügend Daten zur Verfügung stehen, können diese mit Hilfe sequenzieller Tests erzielt werden (2)(3). Die empfohlene Prüfstrategie, die im Anhang zur Prüfmethode dargelegt wird, enthält die Durchführung validierter und anerkannter In-vitro-Tests. Zudem wird empfohlen, einen In-vivo-Test auf Hautreizung/-verätzung durchzuführen, ehe die Möglichkeit eines In-vivo-Augentests in Betracht gezogen wird.

Im Interesse wissenschaftlicher Verlässlichkeit und des Tierschutzes sollen In-vivo-Tests erst dann in Erwägung gezogen werden, wenn alle für das Augenverätzungs/-reizungspotenzial des Stoffs zur Verfügung stehenden einschlägigen Daten im Rahmen einer kritischen Analyse ausgewertet worden sind. Zu diesen Daten gehören unter anderem Erkenntnisse aus bereits durchgeführten Untersuchungen am Menschen und/oder an Labortieren; Hinweise auf Verätzungen/Reizungen durch eine oder mehrere strukturell verwandte Substanzen bzw. Gemische aus diesen Substanzen; Daten, die eine starke Azidität oder Alkalinität der Substanz belegen (4)(5), und Ergebnisse validierter und anerkannter In-vitro- und Ex-vivo-Tests auf Hautverätzungen und -reizungen (6)(6a). Diese Studien können sowohl bereits vorgelegen haben als auch auf Grund einer kritischen Anaalyse der vorhandenen Daten erstellt worden sein.

Im Hinblick auf bestimmte Substanzen ergibt eine solche Analyse möglicherweise, dass deren Augenverätzungs-/-reizungspotenzial im Rahmen von In-vivo-Studien untersucht werden muss. In all diesen Fällen sollen vorzugsweise zunächst die dermalen Wirkungen der Substanz in einem In-vivo-Test untersucht und in Übereinstimmung mit der Prüfmethode B.4 (7) bewertet werden, bevor ein In-vivo-Augentest in Erwägung gezogen wird. Die kritische Analyse und die sequenzielle Prüfstrategie sollen dazu führen, dass weniger In-vivo-Untersuchungen zum Augenverätzungs-/-reizungspotenzial von Stoffen durchgeführt werden, wenn bereits andere Studien ausreichende Belege geliefert haben. Kann die augenätzende oder -reizende Wirkung auch nach einer In-vivo-Studie der Hautverätzung und -reizung nicht mit Hilfe der sequenziellen Prüfstrategie ermittelt werden, besteht die Möglichkeit, einen In-vivo-Test auf Augenverätzung/-reizung durchzuführen.

Im Anhang zu dieser Methode wird eine bevorzugte sequenzielle Prüfstrategie vorgestellt, welche die Durchführung validierter und anerkannter In-vitro- und Ex-vivo-Tests auf Verätzungs-/Reizungswirkungen einbezieht. Diese Strategie wurde während eines OECD-Workshops (8) entwickelt und von den Teilnehmern einmütig empfohlen. Sie wurde als empfohlene Prüfstrategie für das Globale HarmonisierteSystem der Einstufung und Kennzeichnung Chemischer Stoffe (Globally Harmonised System for the Classification of Chemical Substances = GHS) (9) angenommen. Es wird empfohlen, dass diese sequenzielle Prüfstrategie vor einem In-vivo-Test durchgeführt wird. Bei neuen Substanzen wird sie als stufenweiser Prüfansatz empfohlen, mit dessen Hilfe verlässliche wissenschaftliche Daten über die durch die Prüfsubstanz hervorgerufene Verätzung/Reizung erzielt werden können. Bei bereits bekannten Stoffen, für die nicht genügend Daten zum Hautverätzungs-/-reizungspotenzial bzw. Augenverätzungs-/-reizungspotenzial vorliegen, soll die Strategie genutzt werden, um Datenlücken zu schließen. Der Einsatz einer anderen Prüfstrategie bzw. eines anderen Prüfverfahrens oder die Entscheidung gegen einen stufenweisen Prüfansatz soll gerechtfertigt werden.

1.2 DEFINITIONEN

Augenreizung: ist das Auslösen von Veränderungen am Auge nach Applikation einer Prüfsubstanz auf die Oberfläche des Auges, die innerhalb von 21 Tagen nach der Applikation vollständig reversibel sind.

Augenverätzung: ist das Auslösen einer irreversiblen Gewebeschädigung im Auge oder einer massiven Verschlechterung des Sehvermögens nach Applikation einer Prüfsubstanz auf die Oberfläche des Auges, die innerhalb von 21 Tagen nach Applikation nicht vollständig reversibel sind.

1.3 PRINZIP DER PRÜFMETHODE

Die Prüfsubstanz wird in einer einmaligen Dosierung in ein Auge jedes Versuchstiers eingebracht; das unbehandelte Auge dient als Kontrolle. Der Grad der Reizung/Verätzung wird bestimmt, indem in zuvor festgelegten Zeitabständen Schädigungen der Bindehaut, der Hornhaut und der Iris anhand einer Punkteskala bewertet werden. Darüber hinaus werden auch andere Reaktionen des Auges und systemische Schäden beschrieben, um die Wirkungen vollständig beurteilen zu können. Die Beobachtungsdauer soll ausreichend sein, um die Reversibilität bzw. Irreversibilität der Wirkungen vollständig zu erfassen.

Tiere mit starken und anhaltenden Anzeichen von Leiden und/oder Schmerzen können jederzeit während des Versuchs human getötet werden, wobei die Substanz entsprechend einzustufen ist. Kriterien für die humane Tötung moribunder Tiere mit starken Anzeichen von Leiden sind dem Literaturhinweis (10) zu entnehmen.

1.4 BESCHREIBUNG DER PRÜFMETHODE

1.4.1 **Vorbereitung des In-vivo-Tests**

1.4.1.1 *Auswahl der Tierspezies*

Das bevorzugte Labortier ist das Albino-Kaninchen, wobei für den Test gesunde junge erwachsene Kaninchen verwendet werden. Die Verwendung anderer Rassen oder Spezies soll begründet werden.

1.4.1.2 *Vorbereitung der Versuchstiere*

24 Stunden vor dem Versuch werden bei jedem der ausgewählten Versuchstiere beide Augen untersucht. Tiere, bei denen bereits eine Augenreizung, okulare Defekte oder eine Schädigung der Cornea vorliegen, sollen nicht verwendet werden.

1.4.1.3 *Haltungs- und Fütterungsbedingungen*

Die Tiere sollen einzeln gehalten werden. Die Temperatur im Versuchstierraum soll 20°C (±3°C) betragen. Obwohl die relative Luftfeuchtigkeit mindestens 30% betragen und zu anderen Zeiten als während der Reinigung vorzugsweise nicht über 70% liegen sollte, ist ein Wert von 50-60% anzustreben. Der Raum soll künstlich beleuchtet sein, wobei die Beleuchtung im 12-Stunden-Rhythmus ein- und ausgeschaltet werden soll. An die Versuchstiere kann herkömmliches Laborfutter verfüttert werden, wobei eine unbegrenzte Trinkwasserversorgung zu gewährleisten ist.

1.4.2 **Prüfverfahren**

1.4.2.1 *Applikation der Prüfsubstanz*

Die Prüfsubstanz wird bei jedem Tier in den Bindehautsack eines Auges appliziert, indem man das untere Lid leicht vom Augapfel wegzieht. Die Lider werden dann etwa eine Sekunde lang leicht zusammengedrückt, damit keine Substanz verloren geht. Das andere, unbehandelte Auge dient als Kontrolle.

1.4.2.2 *Ausspülen*

Die Augen der Versuchstiere sollen frühestens 24 Stunden nach Applikation der Prüfsubstanz ausgewaschen werden; Ausnahmen gelten für Feststoffe (siehe Abschnitt 1.4.2.3.2) und bei sofortigem Eintritt von ätzenden oder reizenden Wirkungen. Nach 24 Stunden kann gegebenenfalls eine Augenspülung erfolgen.

Der Einsatz einer zusätzlichen Versuchstiergruppe, an der der Einfluss des Ausspülens untersucht wird, wird nicht empfohlen außer in wissenschaftlich begründeten Fällen. Sollte eine zusätzliche Versuchstiergruppe tatsächlich benötigt werden, so sollen zwei Kaninchen verwendet werden. Die Bedingungen, unter denen die Augenspülung erfolgte, sollen sorgfältig dokumentiert werden, z. B. Zeitpunkt, Zusammensetzung und Temperatur der Spüllösung, Dauer, Volumen und Geschwindigkeit der Applikation.

1.4.2.3 *Dosierungen*

1.4.2.3.1 *Prüfung von Flüssigkeiten*

Bei der Prüfung von Flüssigkeiten wird eine Dosis von 0,1 ml verwendet. Liegt die Prüfsubstanz in Form eines Pumpsprays vor, solle sie nicht direkt ins Auge eingebracht werden, sondern mittels Sprühstoß entnommen und in einem Behälter aufgefangen werden. Anschließend werden 0,1 ml in das Auge eingebracht.

1.4.2.3.2 *Prüfung von Feststoffen*

Bei Feststoffen, Pasten und partikelförmigen Substanzen soll die Prüfmenge ein Volumen von 0,1 ml oder ein Gewicht von höchstens 100 mg haben. Das Prüfmaterial soll zu einem feinem Pulver zermahlen werden. Das Volumen von Feststoffen soll erst nach vorsichtigem Kompaktieren, z. B. durch Klopfen des Messbehälters, bestimmt werden. Ist die in Form eines Feststoffs vorliegende Prüfsubstanz bis zum ersten Beobachtungszeitpunkt, d. h. 1 Stunde nach der Applikation, nicht aufgrund physiologischer Vorgänge aus dem Auge entfernt worden, kann das Auge mit Kochsalzlösung oder destilliertem Wasser ausgespült werden.

1.4.2.3.3 *Prüfung von Aerosolen*

Es wird empfohlen, alle als Pumpspray oder Aerosol vorliegenden Prüfsubstanzen mittels Sprühstoß zu entnehmen, in einem Behälter aufzufangen und anschließend zu applizieren. Die einzige Ausnahme sind Substanzen in Aerosol-Druckbehältern, die aufgrund der Vaporisierung nicht aufgefangen werden können. In diesen Fällen soll das Auge offen gehalten werden und die Prüfsubstanz mit einem einzigen Sprühstoß etwa eine Sekunde lang aus 10 cm Entfernung vom Auge verabreicht werden. In Abhängigkeit vom Druck und vom Behälterinhalt kann dieser Abstand variieren. Es ist darauf zu achten, dass das Auge durch den Sprühdruck nicht verletzt wird. Unter Umständen muss das Risiko „mechanischer" Augenschäden, die auf den Sprühdruck zurückzuführen sind, beurteilt werden.

Bei Aerosolen kann die Dosis anhand einer Schätzung ermittelt werden, indem der Test folgendermaßen simuliert wird: Die Substanz wird durch eine Öffnung in der Größe eines Kaninchenauges auf Wägepapier gesprüht, wobei sich die Öffnung unmittelbar vor dem Papier befindet. Anhand des Gewichtsanstiegs des Papiers wird ein Näherungswert für die ins Auge gesprühte Menge ermittelt. Bei flüchtigen Stoffen kann ein Schätzwert für die Dosierung ermittelt werden, indem man einen Auffangbehälter vor und nach Entnahme des Prüfmaterials wiegt.

1.4.2.4 *Vorversuch (In-vivo-Test auf Augenreizung/-verätzung an einem Tier)*

Es empfiehlt sich dringend, den In-vivo-Test zunächst nur an einem Tier durchzuführen. Dies entspricht den Anforderungen der sequenziellen Prüfstrategie (siehe Anhang 1).

Sofern das beschriebene Verfahren ergibt, dass der Stoff ätzend auf das Auge wirkt oder schwere Augenreizungen auslöst, sollen keine weiteren Prüfungen auf Augenreizung durchgeführt werden.

1.4.2.5 *Lokale Anästhetika*

Im Einzelfall können lokale Anästhetika eingesetzt werden. Ergibt die kritische Analyse aller bereits vorliegenden Daten, dass die Substanz Schmerzen auslösen kann, oder zeigt der Vorversuch, dass eine Schmerzreaktion auftreten wird, kann vor dem Einträufeln der Prüfsubstanz ein lokales Anästhetikum verabreicht werden. Die Entscheidung über Art, Konzentration und Dosis des lokalen Anästhetikums soll sorgfältig abgewogen werden, um zu gewährleisten, dass keine Abweichungen in der Reaktion auf die Prüfsubstanz auftreten. Das als Kontrolle dienende Auge soll ebenfalls mit dem Anästhetikum behandelt werden.

1.4.2.6 *Bestätigungstest (In-vivo-Test auf augenreizende Wirkungen an zusätzlichen Tieren)*

Wird im Vorversuch keine ätzende Wirkung beobachtet, soll die Reizungsreaktion bzw. die negative Reaktion an bis zu zwei weiteren Tieren bestätigt werden. Ergibt der Vorversuch eine schwere Reizungswirkung, was auf eine möglicherweise schwere (irreversible) Wirkung im Bestätigungstest schließen lässt, soll der Bestätigungstest nach Möglichkeit als sequenzieller Versuch an jeweils einem Tier zu einem bestimmten Zeitpunkt und nicht durch gleichzeitige Exposition der zwei weiteren Tiere erfolgen. Der Test ist abzubrechen, wenn beim zweiten Tier Anzeichen einer Verätzung oder einer schweren Reizung festgestellt werden. Zur Bestätigung schwacher oder mäßiger Reizungsreaktionen werden unter Umständen zusätzliche Tiere gebraucht.

1.4.2.7 *Beobachtungszeitraum*

Die Beobachtungszeit soll so bemessen sein, dass das Ausmaß und die Reversibilität der festgestellten Wirkungen vollständig bewertet werden kann. Allerdings soll der Versuch abgebrochen werden, sobald das Tier starke und anhaltende Anzeichen von Leiden und Schmerzen zeigt (9). Um feststellen zu können, ob die Wirkungen reversibel sind, sollen die Tiere in der Regel für die Dauer von 21 Tagen nach Applikation der Prüfsubstanz beobachtet werden. Bilden sich die Schäden vor Ablauf dieser 21 Tage zurück, soll der Versuch zu dem betreffenden Zeitpunkt beendet werden.

1.4.2.7.1 *Klinische Beobachtungen und Bewertung von Augenreaktionen*

Die Augen sollen 1, 24, 48 und 72 Stunden nach Aufbringen der Prüfsubstanz untersucht werden. Sobald aussagekräftige Informationen gewonnen worden sind, soll der Versuch nicht länger als nötig fortgesetzt werden. Tiere mit starken und anhaltenden Anzeichen von Schmerzen oder Leiden sollen unverzüglich human getötet werden, wobei die Substanz entsprechend einzustufen ist. Bei Tieren mit folgenden Augenschädigungen nach Applikation der Prüfsubstanz ist eine humane Tötung angezeigt: Hornhautperforation oder signifikante Hornhautulzeration mit Staphylom; Blut in der vorderen Augenkammer; Hornhauttrübung Grad 4, die 48 Stunden bestehen bleibt; fehlender Pupillenreflex (Irisreaktion Grad 2) für die Dauer von 72 Stunden; Ulzeration der Bindehaut; Nekrose der Bindehaut oder der Nickhaut; oder Gewebsdemarkierung. Diese Schäden sind im Allgemeinen irreversibel.

Tiere, bei denen keine Augenschädigungen auftreten, dürfen frühestens 3 Tage nach der Behandlung getötet werden. Bei leichten bis mäßigen Schädigungen sollen die Tiere bis zum Abklingen bzw. für die Dauer von 21 Tagen beobachtet werden. Danach wird die Studie abgeschlossen. Untersuchungen sollen am 7., 14. und 21. Tag erfolgen, um den Status der Schädigungen zu ermitteln und um zu klären, ob sie reversibel oder irreversibel sind.

Der jeweilige Grad der Augenreaktion (Bindehaut, Hornhaut und Iris) soll bei jeder Untersuchung dokumentiert werden (Tabelle I). Auch alle anderen Augenschädigungen (z. B. Pannus, Verfärbungen) oder systemischen Folgen sollen protokolliert werden.

Als Hilfsmittel können bei den Untersuchungen Binokularlupen, Handspaltlampen, Biomikroskope und andere geeignete Geräte benutzt werden. Nach Aufzeichnung der Beobachtungen nach 24 Stunden können die Augen einiger bzw. aller Kaninchen außerdem mit Fluorescein untersucht werden.

Die Bewertung von Augenreaktionen ist zwangsläufig subjektiv. Um die Einstufung von Augenreaktionen stärker zu vereinheitlichen und den Prüflabors und allen an den Versuchen und an der Interpretation der Versuchsergebnisse Beteiligten die Arbeit zu erleichtern, müssen die Prüfer im Umgang mit der Bewertungsskala entsprechend geschult werden.

2. **DATEN**

2.2 ERGEBISBEWERTUNG

Die Bewertung der Augenreizung sollte anhand der Art und des Schweregrads der Schädigung und deren Reversibilität bzw. Irreversibilität vorgenommen werden. Die einzelnen ermittelten Schweregrade stellen keinen allein gültigen Maßstab für die reizenden Eigenschaften eines Stoffs dar, denn es werden auch andere Effekte der Prüfsubstanz beurteilt. Vielmehr sollten die einzelnen Graduierungswerte als Referenzwerte betrachtet werden, die nur dann sinnvoll sind, wenn sämtliche Beobachtungen vollständig beschrieben und beurteilt werden.

3. BERICHTERSTATTUNG

3.1 PRÜFBERICHT

Der Prüfbericht muss folgende Angaben enthalten:

Begründung für den In-vivo-Test: Kritische Analyse von Daten aus früheren Versuchen unter Einbeziehung von Ergebnissen aus der sequenziellen Prüfstrategie

- Beschreibung aller einschlägigen Daten aus früheren Versuchen;
- Daten, die in den einzelnen Stufen der Prüfstrategie erhoben wurden;
- Beschreibung der durchgeführten In-vitro-Tests mit Einzelheiten zu den angewendeten Verfahren sowie zu den Ergebnissen für Prüf-/Referenzsubstanzen;
- Beschreibung der durchgeführten In-vivo-Tests auf Hautreizung/-verätzung mit Einzelheiten zu den Ergebnissen;
- Gewichtungsanalyse als Grundlage für die Durchführung einer In-vivo-Studie

Prüfsubstanz:

- Angaben zur Identität (z. B. CAS-Nummer, Bezugsquelle, Reinheit, bekannte Verunreinigungen; Chargennummer);
- physikalische Beschaffenheit und physikalisch-chemische Eigenschaften (z. B. pH-Wert, Flüchtigkeit, Löslichkeit, Stabilität, Reaktionsvermögen mit Wasser);
- bei Gemischen Zusammensetzung und relative Anteile der Bestandteile in Prozent;
- bei lokalen Anästhetika Identität, Reinheit, Art, Dosis und potenzielle Interaktion mit der Prüfsubstanz.

Vehikel:

- Angaben zur Identität, (gegebenenfalls) Konzentration; Einsatzvolumen;
- Begründung der Auswahl des Vehikels.

Versuchstiere:

- verwendete Spezies/Rasse, Begründung für den Verzicht auf die Verwendung von Albino-Kaninchen und die Nutzung anderer Tiere;
- Alter der Tiere bei Beginn der Studie;
- Anzahl der Versuchstiere pro Geschlecht in den Prüf- und Kontrollgruppen (falls erforderlich);
- Gewicht der einzelnen Tiere bei Versuchsbeginn und -ende;
- Herkunft der Tiere, Haltungsbedingungen, Futter usw.

Ergebnisse:

- Beschreibung der Methode zur Bewertung von Reizungen zu den jeweiligen Beobachtungszeiten (z.B. Handspaltlampe, Biomikroskop, Fluorescein);
- tabellarische Erfassung der Bewertung von Reizungs-/Verätzungsreaktionen zu allen Messzeitpunkten für jedes einzelne Versuchstier bis hin zum Ausscheiden des Tiers aus dem Versuch;
- ausführliche Beschreibung von Art und Schweregrad der festgestellten Reizung bzw. Verätzung;
- Beschreibung aller anderen im Auge festgestellten Schädigungen (z.B. Vaskularisierung, Pannus, Verklebungen, Verfärbungen);
- Beschreibung sonstiger lokaler und systemischer Folgen außerhalb des Auges und ggfs. vorliegender histopathologischer Befunde.

Diskussion der Ergebnisse

3.2 INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Eine Extrapolation der Ergebnisse von Untersuchungen zur Augenreizung an Labortieren auf den Menschen ist nur bedingt möglich. Oftmals reagiert das Albino-Kaninchen empfindlicher als der Mensch auf Stoffe mit augenreizenden oder -verätzenden Eigenschaften.

Bei der Interpretation von Daten ist darauf zu achten, dass Reizungen aufgrund einer sekundären Infektion nicht berücksichtigt werden.

4. LITERATURHINWEISE

(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.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., und 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 Substances 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., Esdaile, D.J., Holzhutter, H.G., und 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, S. 483 – 524.

(6a) Prüfmethode B.40 Hautverätzung.

(7) Prüfmethode B.4. Akute Toxizität: Hautreizung/-verätzung.

(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, Schweden, 22. - 24. Januar 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, bestätigt auf der 28. Gemeinsamen Tagung des Chemikalien-Ausschusses und der Arbeitsgruppe Chemikalien, 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).

TABELLE I: BEWERTUNG VON AUGENSCHÄDIGUNGEN

Cornea

Trübung: Trübungsgrad (für die Auswertung wird der am stärksten betroffene Bereich genommen)*

Keine Ulzeration oder Trübung	0
Punktförmige oder diffuse Trübungsbereiche (ohne leichte Trübung des normalen Glanzes); Einzelheiten der Iris deutlich erkennbar	1
Leicht erkennbarer durchlässiger Bereich, Einzelheiten der Iris etwas verschattet	2
Perlmuttartige Bereiche, keine Einzelheiten der Iris sichtbar, Größe der Pupille kaum erkennbar	3
Trübe Hornhaut; Iris aufgrund der Trübung nicht erkennbar	4

Höchstmögliche Punktzahl: 4

* Die Größe des von der Hornhauttrübung betroffenen Areals solle dokumentiert werden.

Iris

Normal	0
Deutlich vertiefte Rugae, Kongestion, Schwellung, mäßige circumcorneale Hyperämie oder Injektion; Iris reagiert auf Licht (träge Reaktion ist positiv)	1
Blutungen, großflächige Zerstörung, keine Reaktion auf Licht	2

Höchstmögliche Punktzahl: 2

Conjunctivae

Rötung (der Augenlidbindehaut und der Augapfelbindehaut; ohne Hornhaut und Iris) norma l.	0
Einige Blutgefäße zeigen Hyperämie (Injektion)	1
Diffuse karmesinrote Farbe; einzelne Gefäße nur schwer erkennbar	2
Diffuse dunkelrote Verfärbung	3

..

Höchstmögliche Punktzahl: 3

Chemosis

Schwellung (der Augenlider und/oder Nickhäute)

Normal	0
Über dem Normalen liegende Schwellung	1
Deutliche Schwellung mit partieller Auswärtskehrung der Lider	2
Schwellung mit etwa halbgeschlossenen Lidern	3
Schwellung mit mehr als halbgeschlossenen Lidern	4

Höchstmögliche Punktzahl: 4

ANHANG

Sequenzielle Prüfstrategie für Augenreizungen und -verätzungen

ALLGEMEINE ÜBERLEGUNGEN

Im Interesse wissenschaftlicher Verlässlichkeit und des Tierschutzes muss die unnötige Verwendung von Versuchstieren verhindert und die Durchführung von Versuchen, die bei den Tieren wahrscheinlich schwere Reaktionen hervorrufen, auf ein Mindestmaß beschränkt werden. Bevor ein In-vivo-Test ins Auge gefasst wird, sollen zunächst alle einschlägigen Informationen über die potenziell augenreizenden/-verätzenden Wirkungen eines Stoffs ausgewertet werden. Möglicherweise liegen bereits genügend Kriterien für die Einstufung einer Prüfsubstanz anhand ihres Augenreizungs-/-verätzungspotenzials vor, so dass sich Versuche an Labortieren erübrigen. Folglich schränkt die Durchführung einer kritischen Analyse bereits vorliegender Daten und die Anwendung einer sequenziellen Prüfstrategie die Notwendigkeit von In-vivo-Tests deutlich ein. Dies gilt umso mehr, wenn davon auszugehen ist, dass der Stoff schwere Reaktionen hervorruft.

Zur Beurteilung bereits vorhandener Informationen über die augenreizenden/-verätzenden Wirkungen von Substanzen soll das Instrument der Gewichtungsanalyse herangezogen werden. Ausgehend davon ist zu entscheiden, ob zusätzliche Studien, bei denen es sich nicht um In-vivo-Augenuntersuchungen handelt, als Beitrag zur Beurteilung dieses Potenzials erfolgen sollen. Sofern weitere Studien durchgeführt werden müssen, empfiehlt es sich, zur Erzeugung der sachdienlichen Versuchsdaten die sequenzielle Prüfstrategie zu nutzen. Bei noch nicht geprüften Stoffen soll die sequenzielle Prüfstrategie herangezogen werden, um die Daten zu erzeugen, die für die Beurteilung des augenverätzenden/-reizenden Potenzials benötigt werden. Die in diesem Anhang beschriebene Prüfstrategie wurde während eines OECD-Workshops (1) entwickelt Sie wurde im Rahmen des „Harmonised Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances" bestätigt und weiter ausgebaut, das im November 1998 von den Teilnehmern der 28. Gemeinsamen Tagung des Chemikalien-Ausschusses und der Arbeitsgruppe Chemikalien gebilligt wurde (2).

Diese sequenzielle Prüfstrategie gehört zwar nicht zu den integralen Bestandteilen von Prüfmethode B.5, stellt aber gleichwohl den empfohlenen Ansatz zur Ermittlung von augenreizenden/-verätzenden Merkmalen dar. In diesem Ansatz spiegelt sich zum einen die beste Praxis wider. Zum anderen ist er ein ethischer Richtwert für In-vivo-Tests auf augenreizende/-verätzende Wirkungen. Die Prüfmethode bietet nicht nur eine Anleitung zur Durchführung des In-vivo-Tests, sondern auch eine Übersicht über die Faktoren, die vor der Durchführung eines solchen Versuchs überprüft werden sollen. Die sequenzielle Prüfstrategie liefert einen auf einer Gewichtungsanalyse basierenden Ansatz für die Bewertung bereits vorhandener Daten über die augenreizenden/-verätzenden Eigenschaften von Prüfsubstanzen und einen stufenweisen Ansatz für die Erzeugung sachdienlicher Daten über Stoffe, die im Rahmen zusätzlicher Studien untersucht werden müssen bzw. noch gar nicht untersucht wurden. Die Strategie umfasst die Durchführung validierter und anerkannter In-vitro- und Ex-vivo-Tests, in bestimmten Fällen gefolgt von Untersuchungen zur hautreizenden/-verätzenden Wirkung von Stoffen nach Prüfmethode B.4 (Hautreizung/-verätzung) (3)(4).

BESCHREIBUNG DER STUFENWEISEN PRÜFSTRATEGIE

Sämtliche vorhandenen Informationen sollen vor der Durchführung von Versuchen im Rahmen der sequenziellen Prüfstrategie (Fließbild) wertet werden, um die Notwendigkeit von In-vivo-Augentests zu klären. Auch wenn wichtige Informationen aus der Beurteilung einzelner Parameter (z. B. extreme pH-Werte) gewonnen werden können, sollen die bereits vorliegenden Angaben in ihrer Gesamtheit betrachtet werden. Alle relevanten Daten über die Wirkungen des betreffenden Stoffs und struktur verwandter Verbindungen sollen mit Hilfe einer Gewichtungsanalyse bewertet werden, und die Entscheidung soll begründet werden. Dabei sollen bereits vorliegende Angaben zur Wirkung der Substanz auf Mensch und Tier im Vordergrund stehen, gefolgt von den Ergebnissen von In-vitro- und Ex-vivo-Tests. In-vivo-Untersuchungen mit Stoffen mit ätzenden Eigenschaften sollten nach Möglichkeit immer vermieden werden. Folgende Faktoren werden in der Prüfstrategie erörtert:

Beurteilung bereits vorliegender Angaben zur Wirkung der Substanz auf Mensch und Tier (Stufe 1). Zunächst sollen vorhandene Informationen über die Wirkung auf den Menschen, z. B. klinische Studien oder Studien zur Exposition am Arbeitsplatz sowie Fallberichte und/oder Ergebnisse von Tierversuchen (Untersuchungen am Auge) bewertet werden, denn sie liefern Hinweise, die unmittelbar die Wirkungen auf das Auge betreffen. Danach sollen vorhandene Daten aus Untersuchungen an Menschen und/oder Tieren zu Hautverätzungen/-reizungen bewertet werden. Stoffe mit bekannter augenätzender oder schwer augenreizender Wirkung sollen nicht in die Augen von Tieren geträufelt werden. Dies gilt ebenso für Substanzen, die Hautreizungen oder -verätzungen hervorrufen. Alle diese Substanzen sollen auch als augenverätzende und/oder -reizende Stoffe betrachtet werden. Auch mit Substanzen, von denen in früheren Augenuntersuchungen hinreichend nachgewiesen wurde, dass sie weder Verätzungen noch Reizungen hervorrufen, sollen keine In-vivo-Studien durchgeführt zu werden.

Analyse der Zusammenhänge zwischen Struktur und Aktivität (SAR) (Stufe 2). Die gegebenenfalls vorhandenen Ergebnisse von Untersuchungen an strukturell verwandten Substanzen sollen berücksichtigt werden. Liegen genügend Daten über das augenverätzende/-reizende Potenzial von strukturell verwandten Substanzen oder Gemischen aus diesen Substanzen aus Untersuchungen an Menschen und/oder Tieren vor, kann davon ausgegangen werden, dass die zu beurteilende Prüfsubstanz die gleichen Reaktionen hervorrufen wird. In diesen Fällen braucht die Prüfsubstanz nicht getestet zu werden. Für die Zwecke der sequenziellen Prüfstrategie reichen negative Daten aus Untersuchungen an strukturell verwandten Substanzen oder Gemischen als Nachweis für ein Nichtvorhandensein augenverätzender/-reizender Wirkungen nicht aus. Zur Ermittlung des Verätzungs- und Reizungspotenzials in Bezug auf die Haut und die Augen sollten validierte und anerkannte SAR-Verfahren herangezogen werden.

Physikalisch-chemische Eigenschaften und chemische Reaktivität (Stufe 3). Stoffe mit extremen pH-Werten (≤2,0 bzw. ≥11,5) können starke lokale Reaktionen induzieren. Gilt ein extremer pH-Wert als Anhaltspunkt für die augenverätzende oder -reizende Wirkung eines Stoffs, so kann dessen Potenzial zur Veränderung der Azidität/Alkalinität (bzw. das Pufferungsvermögen) ebenfalls berücksichtigt werden (5)(6). Lässt das Pufferungsvermögen darauf schließen, dass eine Substanz möglicherweise keine augenverätzende Wirkung hat, sollen weitere Prüfungen zur Bestätigung dieser Vermutung durchgeführt worden. Dafür sollen validierte und anerkannte In-vitro- oder Ex-vivo-Tests genutzt werden (siehe Stufen 5 und 6).

Einbeziehung weiterer wichtiger Informationen (Stufe 4). In dieser Phase sollen alle verfügbaren Informationen über die systemische Toxizität bei Applikation auf die Haut bewertet werden. Die akute dermale Toxizität der Prüfsubstanz soll ebenfalls beurteilt werden. Hat sich die Prüfsubstanz als sehr giftig bei Hautkontakt erwiesen, braucht sie nicht am Auge getestet zu werden. Auch wenn nicht unbedingt ein Zusammenhang zwischen akuter dermaler Toxizität und Augenreizung/-verätzung bestehts, kann man davon ausgehen, dass ein Stoff, der bei Hautapplikation sehr giftig ist, auch beim Einträufeln in das Auge eine starke Toxizität aufweist. Diese Daten können auch zwischen den Stufen 2 und 3 bewertet werden.

Ergebnisse von In-vitro- und Ex-vivo-Tests (Stufen 5 und 6). Substanzen, deren ätzende oder stark reizende Eigenschaften in validierten und anerkannten, auf die Ermittlung der Augen- oder Hautverätzung/-reizung ausgerichteten In-vitro- oder Ex-vivo-Tests (7)(8) nachgewiesen wurden, brauchen nicht an Tieren geprüft zu werden. Man kann davon ausgehen, dass diese Substanzen in vivo vergleichbare schwere Wirkungen hervorrufen. Stehen validierte und anerkannte In-vitro-/Ex-vivo-Tests nicht zur Verfügung, können die Stufen 5 und 6 übersprungen und die Auswertungen direkt auf Stufe 7 fortgesetzt werden.

Bewertung der hautreizenden oder -verätzenden Wirkung der Substanz in vivo (Stufe 7). Reichen die aus den vorstehend genannten Studien gewonnenen Erkenntnisse nicht aus, um eine schlüssige Gewichtungsanalyse des Augenreizungs-/-verätzungpotenzials eines Stoffs vornehmen zu können, solle zunächst das In-vivo-Hautreizungs/-verätzungspotenzial anhand von Prüfmethode B.4 (4) und des dazugehörigen Anhangs (9) bewertet werden. Wird der Nachweis erbracht, dass die Substanz Verätzungen oder schwere Hautreizungen verursacht, solle sie solange als Stoff mit augenverätzenden/-reizenden Eigenschaften betrachtet werden, bis weitere Erkenntnisse einen anderen Schluss zulassen. Folglich braucht ein In-vivo-Augentest nicht durchgeführt zu werden. Verursacht die Substanz keine Verätzung oder starke Reizung der Haut, soll ein In-vivo-Augentest erfolgen.

In-vivo-Test an Kaninchen (Stufen 8 und 9). Vor dem eigentlichen In-vivo-Augentest soll zunächst ein Vorversuch an nur einem Tier stattfinden. Es sollen keine weiteren Tests erfolgen, wenn der Vorversuch ergibt, dass die Substanz schwere Augenreizungen oder -verätzungen hervorruft. Liefert der Vorversuch keine Anhaltspunkte für eine ätzende Wirkung oder schwere Reizungen, wird ein Bestätigungstest an zwei weiteren Tieren durchgeführt.

LITERATURHINWEISE

(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, Schweden, 22.-24. Januar 1996 (http://www.oecd.org/ehs/test/background.htm).

(2) OECD (1998) Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, bestätigt auf der 28. Gemeinsamen Tagung des Chemikalien-Ausschusses und der Arbeitsgruppe Chemikalien, November 1998 (http://www.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm).

(3) Worth, A.P., und Fentem, J.H. (1999). A General Approach for Evaluating Stepwise Testing Strategies. ATLA 27, 161-177.

(4) Prüfmethode B.4. Akute Toxizität: Hautreizung/-verätzung.

(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 Substances 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., Esdaile, D.J., Holzhutter, H.G., und 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, S. 483 – 524.

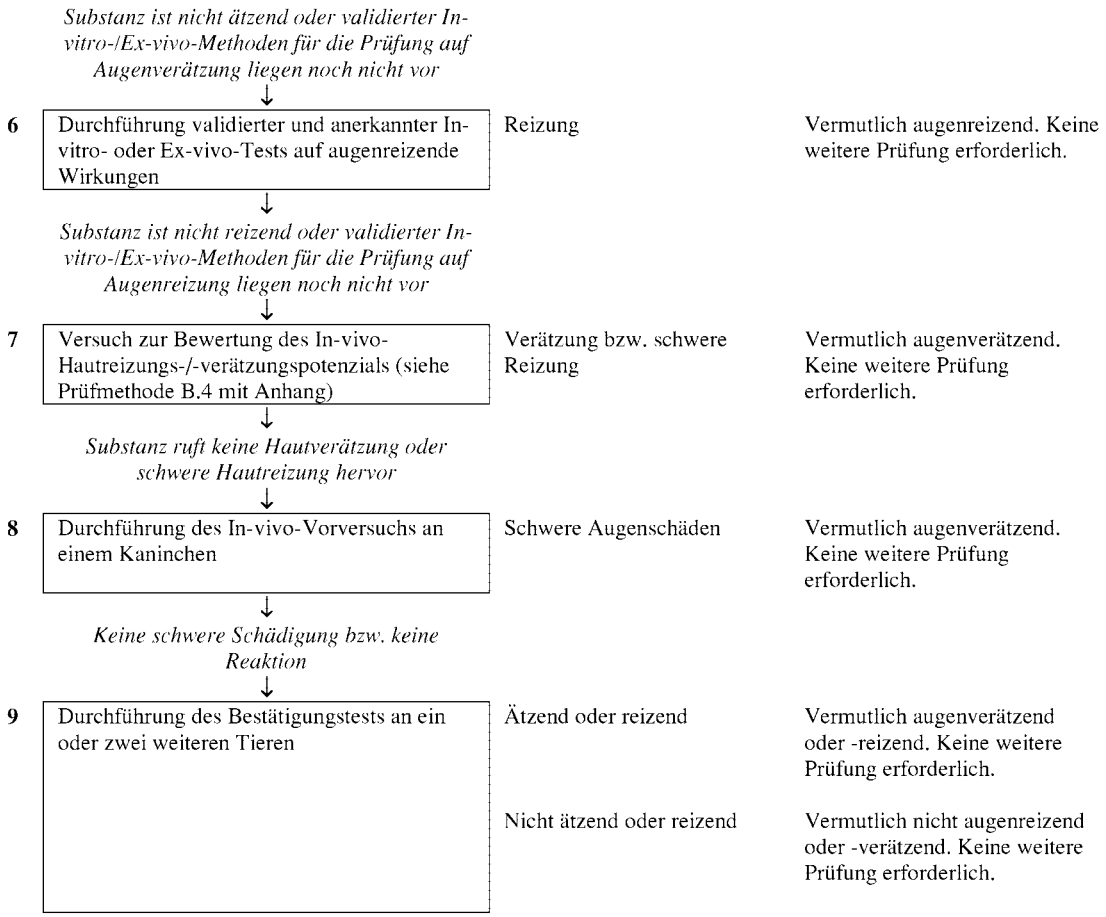
(8) Prüfmethode B.40 Hautverätzung.

(9) Anhang zur Prüfmethode B.4: Sequenzielle Prüfstrategie für Hautreizungen und -verätzungen.

FLIESSBILD

PRÜF- UND BEWERTUNGSSTRATEGIE: AUGENREIZUNG/-VERÄTZUNG

	Stufe	Ergebnis	Schlussfolgerung
1	Bereits vorliegende Daten aus Untersuchungen am Menschen und/oder an Tieren belegen Wirkungen auf das Auge	Schwere Augenschäden	Apikaler Endpunkt; gilt als ätzend. Keine Prüfung erforderlich.
		Augenreizend	Apikaler Endpunkt; gilt als reizend. Keine Prüfung erforderlich.
		Nicht augenverätzend/nicht augenreizend	Apikaler Endpunkt; gilt als nicht ätzend oder reizend. Keine Prüfung erforderlich.
	Bereits vorliegende Daten aus Untersuchungen am Menschen und/oder an Tieren belegen ätzende Wirkungen auf die Haut	Hautverätzend	Vermutlich augenverätzend. Keine Prüfung erforderlich.
	Bereits vorliegende Daten aus Untersuchungen am Menschen und/oder an Tieren belegen schwere hautreizende Wirkungen	Stark hautreizend	Vermutlich augenreizend. Keine Prüfung erforderlich.
	↓		
	Keine Informationen vorhanden bzw. vorhandene Informationen sind nicht schlüssig		
	↓		
2	Durchführung einer SAR-Analyse auf augenverätzende/-reizende Wirkung	Vorhersage schwere Augenschädigung	Vermutlich augenverätzend. Keine Prüfung erforderlich.
		Vorhersage Augenreizung	Vermutlich augenreizend. Keine Prüfung erforderlich.
	Durchführung einer SAR-Analyse auf hautätzende Wirkung	Vorhersage Hautverätzung	Vermutlich augenverätzend. Keine Prüfung erforderlich.
	↓		
	Vorhersagen nicht möglich bzw. Vorhersagen nicht schlüssig oder negativ		
	↓		
3	Messung pH-Wert (ggfs. unter Berücksichtigung des Pufferungsvermögens)	pH ≤ 2 bzw. ≥ 11,5 (ggfs. mit hohem Pufferungsvermögen)	Vermutlich augenverätzend. Keine Prüfung erforderlich.
	↓		
	2 < pH < 11,5 oder ggfs pH ≤2,0 oder ≥11,5 mit geringem/ohne Pufferungsvermögen		
	↓		
4	Bewertung der systemischen Toxizität nach Applikation auf die Haut	Sehr toxisch bei Konzentrationen, die für Augentests genutzt werden.	Kein Test, weil Substanz zu giftig. Keine Prüfung erforderlich.
	↓		
	Keine entsprechenden Angaben vorhanden bzw. Substanz ist nicht sehr giftig		
	↓		
5	Durchführung validierter und anerkannter In-vitro- oder Ex-vivo-Tests auf augenverätzende Wirkungen	Verätzung	Vermutlich augenverätzend. Keine weitere Prüfung erforderlich.
	↓		


Substanz ist nicht ätzend oder validierter In-vitro-/Ex-vivo-Methoden für die Prüfung auf Augenverätzung liegen noch nicht vor
6
Durchführung validierter und anerkannter In-vitro- oder Ex-vivo-Tests auf augenreizende Wirkungen
Reizung
Vermutlich augenreizend. Keine weitere Prüfung erforderlich.
Substanz ist nicht reizend oder validierter In-vitro-/Ex-vivo-Methoden für die Prüfung auf Augenreizung liegen noch nicht vor
7
Versuch zur Bewertung des In-vivo-Hautreizungs-/-verätzungspotenzials (siehe Prüfmethode B.4 mit Anhang)
Verätzung bzw. schwere Reizung
Vermutlich augenverätzend. Keine weitere Prüfung erforderlich.
Substanz ruft keine Hautverätzung oder schwere Hautreizung hervor
8
Durchführung des In-vivo-Vorversuchs an einem Kaninchen
Schwere Augenschäden
Vermutlich augenverätzend. Keine weitere Prüfung erforderlich.
Keine schwere Schädigung bzw. keine Reaktion
9
Durchführung des Bestätigungstests an ein oder zwei weiteren Tieren
Ätzend oder reizend
Vermutlich augenverätzend oder -reizend. Keine weitere Prüfung erforderlich.
Nicht ätzend oder reizend
Vermutlich nicht augenreizend oder -verätzend. Keine weitere Prüfung erforderlich.

ANHANG 2F

B.31. STUDIE ZUR PRÜFUNG AUF PRÄNATALE ENTWICKLUNGSTOXIZITÄT

1. METHODE

Diese Methode entspricht der OECD TG 414 (2001).

1.1 EINLEITUNG

Die vorliegende Methode zur Prüfung auf Entwicklungstoxizität ist darauf ausgerichtet, allgemeine Informationen über die Auswirkungen einer pränatalen Exposition auf das trächtige Versuchstier und den sich im Uterus entwickelnden Organismus zu liefern; dabei können sowohl Auswirkungen auf das Muttertier als auch Tod, strukturelle Abnormitäten oder Wachstumsstörungen im Fetus untersucht werden. Die Erfassung funktioneller Defizite ist kein integraler Bestandteil dieser Prüfmethode, auch wenn funktionelle Aspekte einen wichtigen Teil der Entwicklung darstellen. Diese können in einer gesonderten Studie untersucht oder als Ergänzung zu der vorliegenden Studie behandelt werden unter Einsatz der Methode zur Prüfung auf Entwicklungsneurotoxizität. Zur Information über die Prüfung auf Funktionsmängel und andere postnatale Auswirkungen ist gegebenenfalls die Methode zur Prüfung der Reproduktion über zwei Generationen sowie die Studie über die Entwicklungsneurotoxizität heranzuziehen.

In Einzelfällen bei Vorliegen spezieller Kenntnisse, z. B. über physikalisch-chemische oder toxikologische Eigenschaften der Prüfsubstanz können bei dieser Prüfmethode besondere Anpassungen erforderlich sein. Eine solche Anpassung ist dann akzeptabel, wenn überzeugende wissenschaftliche Anhaltspunkte dafür sprechen, dass die Prüfung durch die Anpassung aussagekräftiger wird. Diese wissenschaftlichen Anhaltspunkte sind in einem solchen Fall im Prüfbericht sorgfältig zu dokumentieren.

1.2 BEGRIFFSBESTIMMUNGEN

Entwicklungstoxikologie: ist die Untersuchung schädigender Wirkungen auf den sich entwickelnden Organismus, die aus einer Einwirkung vor der Empfängnis, während der pränatalen Entwicklung oder postnatal bis zur Geschlechtsreife auftreten können. Entwicklungstoxizität äußert sich in der Hauptsache durch 1) den Tod des Organismus, 2) strukturelle Abnormitäten, 3) Wachstumsstörungen und 4) Funktionsdefizite. Entwicklungstoxikologie wurde früher häufig als Teratologie bezeichnet.

Schädigende Wirkung: behandlungsbedingte Veränderung gegenüber dem Normalzustand, bei der die Fähigkeit eines Organismus zu überleben, sich fortzupflanzen oder an die Umwelt anzupassen beeinträchtigt wird. Im weitesten Sinne sind im Begriff Entwicklungstoxikologie auch alle Wirkungen mit eingeschlossen, die die normale Entwicklung des Conceptus vor und auch nach der Geburt stören.

Wachstumsstörung: Veränderung von Organ- oder Körpergröße oder –gewicht der Nachkommen.

Veränderungen (Anomalien): strukturelle Veränderungen in der Entwicklung, zu denen sowohl Fehlbildungen als auch Variationen gehören (28).

Fehlbildung/größere Abnormität: strukturelle Veränderung, die als für das Tier schädlich angesehen wird (und auch zum Tode führen kann) und im Allgemeinen in seltenen Fällen auftritt.

Variation/kleinere Abnormität: strukturelle Veränderung, bei der man von geringen oder gar keinen schädlichen Auswirkungen auf das Tier ausgeht; dabei kann es sich um eine vorübergehende Erscheinung handeln, und sie kann in der Kontrollpopulation relativ häufig vorkommen.

Conceptus: die Summe der Derivate eines befruchteten Eis zu jedem Zeitpunkt der Entwicklung von der Befruchtung bis zur Geburt, dazu gehören auch die extraembryonalen Membranen sowie der Embryo oder der Fetus.

Implantation (Einnistung): Anhaftung der Blastozyste an der Epithelauskleidung der Gebärmutter; dazu gehört auch die Wanderung der Blastozyste durch das Gebärmutterepithel und deren Einbettung in der Gebärmutterschleimhaut.

Embryo: das Frühstadium oder Entwicklungsstadium eines jeden Organismus, speziell das sich entwickelnde Produkt aus der Befruchtung eines Eis nach dem Entstehen der Längsachse und bis alle größeren Strukturen vorhanden sind.

Embryotoxizität: schädigend für die normale Struktur, die Entwicklung, das Wachstum und/oder die Lebensfähigkeit eines Embryos.

Fetus: der ungeborene Nachkomme in der postembryonalen Phase.

Fetotoxizität: schädigend für die normale Struktur, die Entwicklung, das Wachstum und/oder die Lebensfähigkeit eines Fetus.

Abort: die vorzeitige Ausstoßung der Empfängnisprodukte aus der Gebärmutter, d. h., des Embryos oder eines nicht lebensfähigen Fetus.

Resorption: ein Conceptus, der nach der Einnistung in der Gebärmutter abgestorben ist und resorbiert wird oder bereits resorbiert wurde.

Frühresorption: Anzeichen für eine Implantation, ohne dass ein Embryo/Fetus erkennbar ist.

Spätresorption: Toter Embryo oder Fetus mit äußeren degenerativen Veränderungen.

NOAEL: Abkürzung für *no-observed-adverse-effect level* und entspricht der höchsten Dosis oder Exposition, bei der keine schädigenden behandlungsbedingten Wirkungen festgestellt werden.

1.3 REFERENZSTOFF

Keiner.

1.4 PRINZIP DER PRÜFMETHODE

Im Normalfall wird die Prüfsubstanz trächtigen Tieren mindestens vom Zeitpunkt der Implantation bis einen Tag vor der geplanten Tötung verabreicht, welche möglichst unmittelbar vor dem normalen Tag der Geburt erfolgen soll, und ohne dabei Gefahr zu laufen, Daten infolge vorzeitiger Geburt zu verlieren. Mit der Prüfmethode sollen nicht nur die Phase der Organogenese (z. B. Tag 5 bis 15 bei Nagern und Tag 6 bis 18 bei Kaninchen), sondern auch Wirkungen während der Zeit vor der Einnistung, soweit angebracht, und über die gesamte Dauer der Gravidität bis zum Tag vor dem Kaiserschnitt untersucht werden. Kurz vor dem Kaiserschnitt werden die Weibchen getötet, der Gebärmutterinhalt untersucht und die Feten im Hinblick auf äußerlich erkennbare Anomalien sowie auf Veränderungen an Weichteilen und Skelett beurteilt.

1.5 BESCHREIBUNG DER PRÜFMETHODE

1.5.1 **Auswahl der Versuchstierarten**

Es wird empfohlen, die Prüfung mit den geeignetsten Tierarten durchzuführen und Labortierspezies und –stämme zu verwenden, die üblicherweise bei Untersuchungen zur pränatalen Entwicklungstoxizität zum Einsatz kommen. Die bevorzugte Nagerart ist die Ratte, die bevorzugte Nichtnagerart ist das Kaninchen. Wird eine andere Tierart eingesetzt, ist dies zu begründen.

1.5.2 **Haltung und Fütterung**

Die Temperatur im Versuchstierraum soll bei Nagern 22 °C (± 3 °C) und bei Kaninchen 18 °C (± 3 °C) betragen. Obwohl die relative Luftfeuchte wenigstens 30 % betragen sollte und außer bei Reinigung des Raumes 70 % nicht übersteigen sollte, sollte sie vorzugsweise bei 50 bis 60 % liegen. Es ist eine künstliche Beleuchtung vorzusehen, wobei ein Hell-Dunkel-Zyklus von jeweils 12 Stunden eingehalten werden soll. Zur Fütterung kann übliches Laborfutter verwendet werden, und Trinkwasser kann in unbeschränkter Menge gegeben werden.

Die Verpaarung erfolgt in für diese Zwecke geeigneten Käfigen. Auch wenn verpaarte Tiere nach Möglichkeit einzeln untergebracht werden sollten, so ist auch eine Unterbringung in kleinen Gruppen akzeptabel.

1.5.3 **Vorbereitung der Tiere**

Zu verwenden sind gesunde Tiere, die mindestens fünf Tage an die Laborbedingungen gewöhnt und zuvor nicht für andere Experimente verwendet wurden. Art, Stamm, Herkunft, Geschlecht, Gewicht und/oder Alter der Versuchstiere sind anzugeben. Die Tiere aller Testgruppen sollen soweit wie möglich gleiches Gewicht und Alter aufweisen. Jede Dosierung ist an jungen ausgewachsenen Weibchen einzusetzen, die vorher noch nicht geworfen haben. Die Weibchen werden mit Männchen derselben Art und desselben Stamms verpaart, die Verpaarung von Geschwistern ist zu vermeiden. Bei Nagern ist der Tag 0 der Gravidität der Tag, an dem ein Vaginalpfropf und/ oder Spermien beobachtet werden; bei Kaninchen ist der Tag 0 im Allgemeinen der Tag des Koitus oder der künstlichen Befruchtung, sofern dieses Verfahren zum Einsatz kommt. Die Käfige sind so aufzustellen, dass etwaige durch den Standort bedingte Auswirkungen möglichst gering sind. Jedes Versuchstier erhält zur sicheren Identifizierung eine eigene Nummer. Nach der Verpaarung werden die Weibchen nach dem Zufallsprinzip auf die Kontroll- und Behandlungstiergruppen verteilt; erfolgt die Verpaarung der Weibchen in Gruppen, werden die Tiere in jeder Gruppe gleichmäßig auf die vorstehend genannten Gruppen verteilt. Entsprechend werden Weibchen, die von demselben Männchen begattet wurden, gleichmäßig auf die Gruppen verteilt.

1.6 VERFAHREN

1.6.1 **Anzahl und Geschlecht der Versuchstiere**

Jede Versuchs- und Kontrollgruppe soll eine ausreichende Zahl von Weibchen enthalten, so dass etwa 20 Weibchen mit Implantationsstellen bei der Sektion zur Verfügung stehen. Gruppen mit weniger als 16 Tieren mit Implantationsstellen sind unter Umständen unzureichend. Durch Mortalität bei den Muttertieren wird die Studie nicht zwangsläufig invalide, sofern diese nicht mehr als etwa 10 % beträgt.

1.6.2 **Zubereitung der Dosen**

Wird ein Vehikel oder ein anderer Zusatz zur leichteren Verabreichung der Prüfsubstanz verwendet, sind die folgenden Merkmale zu berücksichtigen: Auswirkungen auf die Absorption, die Verteilung, den Stoffwechsel und die Retention oder Exkretion der Prüfsubstanz; Auswirkungen auf die chemischen Eigenschaften der Prüfsubstanz, die deren toxische Eigenschaften verändern können; ferner Auswirkungen auf die Futter- oder Wasseraufnahme oder den Ernährungszustand der Versuchstiere. Das Vehikel soll weder entwicklungstoxisch sein noch Auswirkungen auf die Reproduktion haben.

1.6.3 **Dosierung**

Normalerweise soll die Prüfsubstanz täglich ab der Implantation (z. B. Tag 5 nach der Verpaarung) bis zum Tag vor dem geplanten Kaiserschnitt verabreicht werden. Sofern aus eventuell vorliegenden Vorstudien kein hohes Risiko eines Präimplantationsverlusts hervorgeht, kann die Behandlung auf die gesamte Graviditätszeit von der Verpaarung bis zum Tag vor der geplanten Tötung ausgeweitet werden. Bekanntermaßen kann eine unangemessene Behandlung oder Stress während der Gravidität zu pränatalen Verlusten führen. Zum Schutz vor pränatalen Verlusten durch nicht behandlungsbedingte Faktoren sind die unnötige Handhabung von trächtigen Tieren sowie Stress infolge von äußeren Faktoren, wie Lärm, zu vermeiden.

Mindestens drei Dosen und eine gleichzeitige Kontrolle werden verwendet. Gesunde Tiere werden nach dem Zufallsprinzip auf die Kontroll- und Behandlungstiergruppen verteilt. Die Dosierungen sollten so gewählt werden, dass eine Abstufung der toxischen Wirkungen erkennbar ist. Soweit keine Beschränkungen aufgrund der physikalischen/chemischen Beschaffenheit oder der biologischen Eigenschaften der Prüfsubstanz bestehen, wird die höchste Dosis so gewählt, dass zwar eine gewisse Entwicklungstoxizität und / oder maternale Toxizität (klinische Anzeichen oder eine Abnahme des Körpergewichts), jedoch kein Tod oder schweres Leiden herbeigeführt wird. Mindestens eine unter der höchsten Dosis liegende Dosis soll zu minimalen wahrnehmbaren toxischen Auswirkungen führen. Die niedrigste Dosis soll keine Anzeichen von Toxizität bei den Muttertieren oder Entwicklungstoxizität hervorrufen. Eine absteigende Folge von Dosierungen sollte so ausgewählt werden, dass die Dosisabhängigkeit der Reaktion und ein NOAEL belegt werden können. Dosisintervalle mit dem Faktor 2 bis 4 haben sich für die Festlegung absteigender Dosierungen häufig als optimal erwiesen. Gegenüber der Verwendung sehr großer Intervalle (z.B. mehr als Faktor 10) ist die Hinzunahme einer vierten Testgruppe häufig vorzuziehen. Auch wenn die Bestimmung eines NOAEL für die Muttertiere das Ziel ist, können auch Studien, bei denen eine solche Dosis nicht ermittelt wird, akzeptiert werden (1).

Bei der Auswahl der Dosierungen sollen eventuell vorliegende Toxizitätsdaten sowie zusätzliche Informationen über den Stoffwechsel und die Toxikokinetik der Prüfsubstanz oder verwandter Stoffe berücksichtigt werden. Diese Angaben sind außerdem nützlich, die Angemessenheit des Dosierungsplans zu belegen.

Eine gleichzeitige Kontrollgruppe soll verwendet werden. Diese Kontrollgruppe soll eine scheinbehandelte Gruppe oder eine Vehikel-Kontrollgruppe sein, sofern ein Vehikel zur Verabreichung der Prüfsubstanz verwendet wird. Allen Gruppen ist die gleiche Menge der Prüfsubstanz beziehungsweise des Vehikels zu verabreichen. Tiere der Kontrollgruppe(n) werden genauso behandelt wie die Tiere in der Prüfgruppe. Vehikel-Kontrollgruppen erhalten das Vehikel in der höchsten verwendeten Menge (wie die Behandlungsgruppe mit der niedrigsten Dosierung).

1.6.4 **Limit-Test**

Ergibt eine Prüfung mit einer einzigen Dosierung von mindestens 1.000 mg/kg Körpergewicht/Tag bei oraler Verabreichung nach den für diese Studie beschriebenen Verfahren keine wahrnehmbare Toxizität bei den trächtigen Tieren oder deren Nachkommen und ist aufgrund von vorliegenden Daten struktur- und/oder stoffwechselverwandter Stoffe keine Toxizität zu erwarten, kann auf eine vollständige Studie mit drei Dosisstufen gegebenenfalls verzichtet werden. Ist eine Exposition des Menschen zu erwarten, kann die Notwendigkeit einer höheren oralen Dosis im Limit-Test angezeigt sein. Bei anderen Arten der Verabreichung, wie z. B. Inhalation oder dermale Applikation, kann durch die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Prüfsubstanz häufig die maximal erreichbare Expositionsdosis vorbestimmt und somit limitiert sein (beispielsweise soll ein Auftragen auf die Haut keine schwere lokale Toxizität verursachen).

1.6.5 **Verabreichung der Dosen**

Die Prüfsubstanz oder das Lösungsmittel wird im Allgemeinen oral durch Schlundsonde verabreicht. Wird eine andere Form der Verabreichung gewählt, hat der Prüfer seine Wahl zu begründen, unter Umständen sind dann entsprechende Änderungen erforderlich (2)(3)(4). Die Prüfsubstanz ist jeden Tag in etwa zur selben Zeit zu verabreichen.

Die Dosis für das einzelne Tier beruht normalerweise auf dessen zuletzt bestimmtem Körpergewicht. Vorsicht ist jedoch bei der Anpassung der Dosis im letzten Trimester der Gravidität geboten. Zur Vermeidung von übermäßiger Toxizität bei den Muttertieren sind vorliegende Daten bei der Dosisauswahl heranzuziehen. Wird bei den behandelten Muttertieren übermäßige Toxizität festgestellt, sind diese Tiere auf humane Weise zu töten. Weisen verschiedene trächtige Tiere Anzeichen von übermäßiger Toxizität auf, ist die Tötung der ganzen Dosisgruppe zu erwägen. Wird die Prüfsubstanz über eine Sonde verabreicht, so soll dies möglichst in einer einmaligen Dosis unter Verwendung einer Magensonde oder einer geeigneten Intubationskanüle erfolgen. Das maximale Flüssigkeitsvolumen, das einem Versuchstier jeweils verabreicht werden kann, hängt von der Größe des Versuchstiers ab. Das Volumen soll 1 ml/100 g Körpergewicht nicht überschreiten, außer bei wässerigen Lösungen, bei denen 2 ml/100 g Körpergewicht gegeben werden können. Bei Verwendung von Maisöl als Lösungsmittel soll das Volumen 0,4 ml/100 g Körpergewicht nicht übersteigen. Schwankungen beim Applikationsvolumen sind durch entsprechende Dosierung so gering wie möglich zu halten, so dass bei allen Dosen ein gleichbleibendes Volumen gewährleistet ist.

1.6.6 **Beobachtung der Muttertiere**

Klinische Beobachtungen sollen mindestens einmal täglich, vorzugsweise zum gleichen Zeitpunkt und unter Berücksichtigung des Zeitraums, in dem der Wirkungsgipfel nach Verabreichung der Dosis zu erwarten ist, vorgenommen und protokolliert werden. Der Zustand der Tiere ist dabei festzuhalten, d. h. Mortalität, Siechtum, relevante Verhaltenveränderungen und alle Anzeichen akuter Toxizität.

1.6.7 **Körpergewicht und Futteraufnahme**

Die Tiere sind am Tag 0 der Gravidität beziehungsweise nicht später als am Tag 3 der Gravidität, wenn gepaarte Tiere von einem externen Züchter unter Angabe der Paarungszeit geliefert werden, zu wiegen; weiterhin am ersten Tag der Verabreichung, mindestens alle 3 Tage während der Verabreichungszeit und am Tag der geplanten Tötung.

Der Futterverbrauch ist in Abständen von drei Tagen zu protokollieren, an denselben Tagen ist auch das Körpergewicht zu bestimmen.

1.6.8 **Autopsie**

Die Weibchen sind einen Tag vor der erwarteten Geburt zu töten. Weibchen, bei denen Anzeichen für einen Abort oder eine vorzeitige Geburt vor der geplanten Tötung vorliegen, sind zu töten und sorgfältig makroskopisch zu untersuchen.

Zum Zeitpunkt der Tötung oder bei vorzeitigem Tod im Verlauf der Studie ist das Muttertier makroskopisch auf etwaige strukturelle Abnormitäten oder pathologische Veränderungen zu untersuchen. Die Beurteilung der Muttertiere während des Kaiserschnitts und die anschließenden Untersuchungen der Feten sollen möglichst ohne Kenntnis der Behandlungsgruppe erfolgen, um etwaige Einflüsse durch Befangenheit so gering wie möglich zu halten.

1.6.9 **Untersuchung des Uterusinhalts**

Unmittelbar nach der Tötung beziehungsweise so bald wie möglich nach dem Tod ist der Uterus zu entfernen und der Trächtigkeitsstatus des Tiers zu erheben. Weist der Uterus keine Anzeichen von Trächtigkeit auf, ist dieser weiter zu untersuchen (z. B. Färbung mit Ammoniumsulfid bei Nagern oder Salewski-Färbung oder ein geeignetes alternatives Verfahren für Kaninchen), um den nichtträchtigen Zustand zu bestätigen (5).

Der schwangere Uterus einschließlich der Zervix des trächtigen Tiers ist zu wiegen. Bei Tieren, die während der Studie tot aufgefunden werden, ist dieses Gewicht nicht zu bestimmen.

Bei den trächtigen Tieren ist die Anzahl der Gelbkörper zu bestimmen.

Der Uterusinhalt ist auf die Anzahl toter Embryonen oder Feten und lebensfähiger Feten zu untersuchen. Der Grad der Resorption ist zu beschreiben, um den relativen Todeszeitpunkt des Conceptus (siehe Abschnitt 1.2) zu bestimmen.

1.6.10 **Untersuchung der Feten**

Für jeden Fetus sind Geschlecht und Körpergewicht zu bestimmen.

Jeder Fetus ist auf äußere Veränderungen zu untersuchen (6).

Die Feten sind auf Veränderungen an Skelett und Weichteilen (z. B. Abweichungen und Fehlbildungen oder Anomalien) zu untersuchen (7)(8)(9)(10)(11)(12)(13)(14)(15)(16)(17)(18)(19)(20)(21)(22)(23)(24). Nach Möglichkeit ist eine Kategorisierung fetaler Veränderungen vorzunehmen, auch wenn dies nicht zwingend erforderlich ist. Erfolgt eine Kategorisierung, sind die Kriterien zur Bestimmung jeder Kategorie eindeutig anzugeben. Besondere Beachtung erfordert der Reproduktionstrakt, der auf Anzeichen für eine veränderte Entwicklung zu untersuchen ist.

Bei Nagern sollte etwa eine Hälfte jedes Wurfs präpariert und auf Veränderungen am Skelett untersucht werden. Der Rest ist zu präparieren und auf Veränderungen an den Weichteilen zu untersuchen, wobei akzeptierte oder geeignete Methoden der Serienschnittherstellung oder sorgfältige makroskopische Schnitttechniken anzuwenden sind.

Bei anderen Tieren als Nagern, z. B. Kaninchen, sind sämtliche Feten sowohl auf Weichteil- als auch auf Skelettveränderungen zu untersuchen. Die Körper dieser Feten werden sorgfältig seziert und auf Weichteilveränderungen untersucht; das kann auch Verfahren zur weiteren Beurteilung der inneren Herzstruktur umfassen (25). Bei der Hälfte der auf diese Weise untersuchten Feten entfernt man die Köpfe und präpariert sie zur Untersuchung auf Weichteilveränderungen (einschließlich Augen, Hirn, Nasenwege und Zunge) unter Verwendung von Standardschnitttechniken (26) oder eines gleichermaßen empfindlichen Verfahrens. Die Körper dieser Feten und der übrigen intakten Feten werden präpariert und mit denselben Methoden wie für Nager beschrieben auf Skelettveränderungen untersucht.

2 DATEN

2.1 VERARBEITUNG DER ERGEBNISSE

Für die Muttertiere und deren Nachkommen werden die Daten jeweils einzeln protokolliert und in tabellarischer Form zusammengefasst; dabei werden für jede Prüfgruppedie Anzahl der Tiere zu Beginn der Prüfung, die Anzahl der während der Prüfung tot aufgefundenen Tiere beziehungsweise der aus humanen Gründen getöteten Tiere, der jeweilige Zeitpunkt des Todes beziehungsweise der Tötung, die Anzahl der trächtigen Weibchen, die Anzahl der Tiere mit Anzeichen von Toxizität, eine Beschreibung der beobachteten Anzeichen von Toxizität, einschließlich des Zeitpunkts, zu dem die toxischen Wirkungen eingetreten sind, deren Dauer und Schweregrad, die Arten von Beobachtungen an Embryonen/Feten und alle relevanten Daten zu den Würfen angegeben.

Numerische Ergebnisse werden mit Hilfe eines geeigneten statistischen Verfahrens ausgewertet, wobei als Bezugsgröße für die Datenanalyse der Wurf verwendet wird. Anzuwenden ist ein allgemein anerkanntes statistisches Verfahren; die statistischen Verfahren sind im Rahmen der Studienplanung auszuwählen und zu begründen. Auch Daten über Tiere, die nicht bis zur geplanten Tötung überlebt haben, sind zu protokollieren. Soweit relevant, können solche Daten in Gruppenmittelwerten berücksichtigt werden. Die Relevanz der von solchen Tieren stammenden Daten und demzufolge deren Einbeziehung in oder Ausschluss aus (einem) etwaig(en) Gruppenmittelwert(en) sind zu begründen und jeweils im Einzelfall zu beurteilen.

2.2 BEWERTUNG DER ERGEBNISSE

Die Befunde der Studie zur pränatalen Entwicklungstoxizität sind anhand der beobachteten Wirkungen zu beurteilen. Die Bewertung soll die folgenden Informationen beinhalten:

— Ergebnisse von Prüfungen an Muttertieren und Embryonen/Feten, einschließlich Bewertung des bestehenden beziehungsweise nicht bestehenden Zusammenhangs zwischen der Exposition der Tiere gegenüber der Prüfsubstanz und der Häufigkeit und Schwere aller Befunde;

— Kriterien, die zur Kategorisierung von äußerlichen Veränderungen sowie von Weichteil- und Skelettveränderungen bei Feten herangezogen wurden, sofern eine Kategorisierung erfolgte;

— falls angebracht, historische Kontrolldaten zur besseren Interpretation der Studienergebnisse;

— die Zahlen, die bei der Berechnung aller Prozentangaben oder Indizes verwendet wurden;

— eine angemessene statistische Analyse der Studienbefunde, soweit angebracht, wobei hinreichende Informationen über die Analysemethode anzugeben sind, so dass ein unabhängiger Überprüfer/Statistiker die Analyse nachbewerten und nachvollziehen kann;

Für Prüfungen, bei denen keine toxischen Wirkungen nachgewiesen werden, sind weitere Untersuchungen zur Bestimmung von Absorption und Bioverfügbarkeit der Prüfsubstanz in Erwägung zu ziehen.

2.3 INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Eine Studie zur Prüfung auf pränatale Entwicklungstoxizität liefert Informationen über die Auswirkungen einer wiederholten Exposition gegenüber einer Substanz während der Trächtigkeit auf die Muttertiere und auf die intrauterine Entwicklung ihrer Nachkommen. Die Ergebnisse der Studie sind in Verbindung mit Befunden aus Studien zur subchronischen Toxizität, Reproduktionstoxizität und Toxikokinetik sowie anderen Studien zu interpretieren. Da der Schwerpunkt sowohl auf allgemeine Toxizität im Sinne maternaler Toxizität als auch auf die Entwicklungstoxizität gelegt wird, bieten die Ergebnisse der Studie zu einem bestimmten Maß die Möglichkeit zur Unterscheidung zwischen Auswirkungen auf die Entwicklung, die nur bei Dosierungen ausgelöst werden, die auch für das Muttertier toxisch sind und solchen ohne allgemeine Toxizität.

3 **BERICHTERSTATTUNG**

PRÜFBERICHT

Der Prüfbericht muss die folgenden konkreten Angaben enthalten:

Prüfsubstanz:

— physikalische Beschaffenheit und, soweit relevant, physikalisch-chemische Eigenschaften;
— Identifizierung einschließlich CAS-Nummer, sofern bekannt/festgelegt;
— Reinheit.

Vehikel (sofern zutreffend):

— Begründung der Wahl des Vehikels, sofern nicht Wasser verwendet wurde.

Versuchstiere:

— Art und Stamm;
— Zahl und Alter der Versuchstiere
— Herkunft, Haltungsbedingungen, Futter usw.;
— Einzelgewicht der Tiere zu Beginn der Prüfung.

Prüfbedingungen:

— Begründung der Wahl der Dosisabstufung;
— Einzelheiten der Formulierung der Prüfsubstanz/Futterzubereitung, erzielte Konzentration, Stabilität und Homogenität der Zubereitung;
— Angaben zur Verabreichung der Prüfsubstanz;
— Umrechnung der Prüfsubstanzkonzentration in Futter/Trinkwasser (ppm) auf die tatsächliche Dosis (mg/kg Körpergewicht/Tag), soweit zutreffend;
— Umgebungsbedingungen;
— Einzelheiten zur Futter- und Wasserqualität.

Ergebnisse:

Dosisbezogene Daten zur toxischen Reaktion der Muttertiere, unter anderem:

— Anzahl der Tiere zu Beginn der Prüfung, Anzahl der überlebenden Tiere, Anzahl der trächtigen Tiere sowie Anzahl der Aborte und Anzahl der Frühgeburten;
— Tag des Todes im Verlauf der Studie oder Angabe, ob Tiere bis zum Schluss überlebt haben;
— Daten von Tieren, die nicht bis zur geplanten Tötung überlebten, sind zwar zu protokollieren, nicht jedoch in die gruppenübergreifenden statistischen Vergleiche mit einzubeziehen;
— Tag der Beobachtung jedes anormalen klinischen Anzeichens und dessen weiterer Verlauf;
— Körpergewicht, Veränderung des Körpergewichts und Gewicht des Uterus in trächtigem Zustand, wahlweise einschließlich Veränderung der Körpergewichts korrigiert um das Gewicht des Uterus in trächtigem Zustand;
— Futteraufnahme und, sofern gemessen, Wasseraufnahme;
— Sektionsbefunde einschließlich Uterusgewicht;
— NOAEL-Werte für Auswirkungen auf die Muttertiere und auf die Entwicklung sind anzugeben;

Dosisbezogene Entwicklungsparameter für Würfe mit Implantationen einschließlich:

— Anzahl Gelbkörper;
— Anzahl Implantationen, Anzahl und prozentualer Anteil von lebenden und toten Feten sowie von Resorptionen;
— Anzahl und prozentualer Anteil von Prä- und Postimplantationsverlusten.

Dosisbezogene Entwicklungsparameter für Würfe mit lebenden Feten einschließlich:

— Anzahl und prozentualer Anteil lebender Nachkommen;
— Verhältnis der Geschlechter;
— fetales Körpergewicht, möglichst jeweils getrennt nach Geschlechtern und für beide Geschlechter zusammen;
— äußere Weichteil- und Skelettmissbildungen und sonstige relevante Veränderungen;
— Kriterien für die Kategorisierung, sofern zutreffend;
— Gesamtanzahl und prozentualer Anteil von Feten und Würfen mit äußerlichen Veränderungen, Weichteil- oder Skelettveränderungen sowie Arten und Häufigkeiten einzelner Anomalien und sonstiger relevanter Veränderungen;

Diskussion der Ergebnisse.

Schlussfolgerungen.

3 LITERATURHINWEISE

(1) Kavlock R.J. et al. (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. and Francis, E.Z. (1990) Proceedings of the Workshop on the Acceptability and Interpretation of Dermal Developmental Toxicity Studies. *Fundamental and Applied Toxicology* 14; 386-398.

(3) Wong, B.A., et al. (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 fur 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. et al. (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. et al. (1993) Skeletal Development Following Heat Exposure in the Rat. *Teratology* 47:229-242.

(10) Marr, M.C. et al. (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. and Taylor, W.J. (1969) A Rapid Method for Detecting Malformations in Rat Foetuses. *Journal of Morphology* 127:291-306.

(12) Fritz, H. (1974) Prenatal Ossification in Rabbits ss Indicative of Foetal Maturity. *Teratology* 11; 313-320.

(13) Gibson, J.P. et al. (1966) Use of the Rabbit in Teratogenicity Studies. *Toxicology and Applied Pharmacology* 9; :398-408.

(14) Kimmel, C.A. and Wilson, J.G. (1973) Skeletal Deviation in Rats: Malformations or Variations? *Teratology* 8; 309-316.

(15) Marr, M.C. et al. (1992) Developmental Stages of the CD (Sprague-Dawley) Rat Skeleton after Maternal Exposure to Ethylene Glycol. *Teratology* 46; 169-181.

(16) Monie, I.W. et al. (1965) Dissection Procedures for Rat Foetuses Permitting Alizarin Red Staining of Skeleton and Histological Study of Viscera. *Supplement to Teratology Workshop Manual*, pp. 163-173.

(17) Spark, C. and 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. *American Journal of Anatomy* 41; 411-445.

(18) Staples, R.E. and 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. *American Journal of Anatomy* 36; 313-355.

(20) Stuckhardt, J.L. and Poppe, S.M. (1984) Fresh Visceral Examination of Rat and Rabbit Foetuses Used in Teratogenicity Testing. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis* 4; 181-188.

(21) Walker, D.G. and 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. and Warkany J. (eds). University of Chicago, Chicago, IL, pp 251-277.

(23) Wilson, J.G. and Fraser, F.C. (eds). (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. and C.G. Bennett (1977) A Dissecting Procedure for the Detection of Anomalies in the Rabbit Foetal Head. In: *Methods in Prenatal Toxicology* Neubert, D., Merker, H.J. and Kwasigroch, T.E. (eds.). University of Chicago, Chicago, IL, pp. 126-144.

(27) US Environmental Protection Agency (1991) Guidelines for Developmental Toxicity Risk Assessment. *Federal Register* 56; 63798-63826.

(28) Wise, D.L. et al. (1997) Terminology of Developmental Abnormalities in Common Laboratory Mammals (Version 1) Teratology 55; 249-292.

ANHANG 2G

B.35. ZWEIGENERATIONENSTUDIE ZUR PRÜFUNG AUF REPRODUKTIONSTOXIZITÄT

1. METHODE

Diese Methode entspricht der OECD TG 416 (2001).

1.1 EINLEITUNG

Diese Methode zur Prüfung der Reproduktion über zwei Generationen ist darauf ausgerichtet, allgemeine Informationen über die Auswirkungen einer Prüfsubstanz auf die Integrität und die Leistung des männlichen und weiblichen Fortpflanzungssystems zu liefern; dazu gehören die Funktion der Keimdrüsen, der Östruszyklus, das Paarungsverhalten, die Empfängnis, die Gravidität, der Geburtsvorgang, das Säugen und Entwöhnen sowie das Wachstum und die Entwicklung der Nachkommen. Die Studie kann außerdem Informationen über die Auswirkungen der Prüfsubstanz auf die neonatale Morbidität und Mortalität sowie vorläufige Daten über die prä- und postnatale Entwicklungstoxizität erbringen und als Richtschnur für Anschlussprüfungen dienen. Neben der Untersuchung von Wachstum und Entwicklung der F1-Generation soll diese Prüfmethode des weiteren dazu dienen, Integrität und Leistung des männlichen und weiblichen Fortpflanzungssystems sowie Wachstum und Entwicklung der F2-Generation zu beurteilen. Im Hinblick auf weitere Informationen über die Entwicklungstoxizität oder Funktionsdefizite können zusätzliche Studiensegmente in dieses Protokoll aufgenommen werden, wobei gegebenenfalls die Methode für die Prüfung auf pränatale Entwicklungstoxizität und/oder die Studie auf Entwicklungsneurotoxizität heranzuziehen sind ; diese Endpunkte könnten aber auch mit Hilfe geeigneter Prüfmethoden in gesonderten Studien untersucht werden.

1.2 PRINZIP DER PRÜFMETHODE

Die Prüfsubstanz wird verschiedenen Gruppen von männlichen und weiblichen Tieren in abgestuften Dosen verabreicht. Männchen der P-Generation (Elterntiere) erhalten die Dosen während des Wachstums und mindestens über einen vollständigen Spermatogenesezyklus hinweg (etwa 56 Tage bei der Maus und 70 Tage bei der Ratte), um etwaige schädigende Wirkungen auf die Spermatogenese zu klären. Auswirkungen auf die Samenzellen werden anhand verschiedener Spermienparameter (beispielsweise Spermienmorphologie und –motilität), und anhand von Gewebepräparaten mit ausführlicher histopathologischer Untersuchung bestimmt. Liegen Daten zur Spermatogenese aus einer früheren Studie mit wiederholter Verabreichung von hinreichender Dauer vor, beispielsweise einer 90-Tage-Studie, müssen Männchen der P-Generation nicht mit in die Beurteilung einbezogen werden. Empfohlen wird allerdings, Proben oder digitale Aufzeichnungen von Spermien der P-Generation für eine eventuelle spätere Beurteilung aufzuheben. Weibchen der P-Generation erhalten die Dosen während des Wachstums und über mehrere vollständige Östruszyklen hinweg, um eventuelle schädigende Auswirkungen auf den normalen Östruszyklus durch die Prüfsubstanz festzustellen. Die Prüfsubstanz wird den Elterntieren (P) während der Verpaarung, während der daraus entstehenden Trächtigkeit und während der Entwöhnung ihrer F1-Nachkommen verabreicht. Nach der Entwöhnung wird die Substanz den F1-Nachkommen während des Wachstums bis zum Erwachsenenalter, während der Paarung und Produktion einer F2-Generation weiter verabreicht, bis die F2-Generation entwöhnt wird.

Bei allen Tieren erfolgen klinische Beobachtungen und pathologische Untersuchungen auf Anzeichen für Toxizität; einen besonderen Schwerpunkt bilden dabei die Auswirkungen auf die Integrität und Leistung des männlichen und weiblichen Fortpflanzungssystems sowie auf das Wachstum und die Entwicklung der Nachkommen.

1.3 BESCHREIBUNG DER PRÜFMETHODE

1.3.1 **Auswahl der Versuchstierarten**

Die bevorzugte Versuchstierart ist die Ratte. Die Verwendung anderer Tierarten ist zu begründen und entsprechende Änderungen sind vorzunehmen. Stämme mit geringer Fruchtbarkeit oder bekannter hoher Häufigkeit von Entwicklungsdefekten sind nicht zu verwenden. Bei Beginn der Studie sollen die Gewichtsunterschiede der Tiere möglichst gering sein und 20 % des geschlechtsspezifischen mittleren Gewichts nicht überschreiten.

1.3.2 **Haltung und Fütterung**

Die Temperatur im Versuchstierraum soll 22°C (± 3°C) betragen. Obwohl die relative Luftfeuchte wenigstens 30 % betragen sollte und außer bei Reinigung des Raumes 70 % nicht übersteigen sollte, sollte sie vorzugsweise bei 50 bis 60 % liegen. Es ist eine künstliche Beleuchtung vorzusehen, wobei ein Hell-Dunkel-Zyklus von jeweils 12 Stunden eingehalten werden soll. Zur Fütterung kann übliches Laborfutter verwendet werden, und Trinkwasser kann in unbeschränkter Menge gegeben werden. Die Auswahl des Futters kann dadurch beeinflusst werden, dass eine geeignete Beimischung einer Prüfsubstanz gewährleistet werden muss, wenn diese über das Futter verabreicht wird.

Die Tiere können einzeln oder in Käfigen mit kleinen Gruppen von Tieren gleichen Geschlechts untergebracht werden. Die Verpaarung erfolgt in für diesen Zweck geeigneten Käfigen. Wenn Anhaltungspunkte für die stattgefundene Kopulation vorliegen, sind die verpaarten Weibchen jeweils einzeln in Geburtskäfigen oder speziellen Käfigen für Muttertiere zu halten. Ratten können nach der Verpaarung auch in kleinen Gruppen gehalten und einen oder zwei Tage vor der Geburt getrennt werden. Kurz vor der Geburt soll verpaarten Tieren geeignetes und definiertes Material für den Nestbau zur Verfügung gestellt werden.

1.3.3 **Vorbereitung der Tiere**

Zu verwenden sind junge gesunde Tiere, die mindestens fünf Tage an die Laborbedingungen gewöhnt und zuvor nicht für Experimente verwendet wurden. Art, Stamm, Herkunft, Geschlecht, Gewicht und/oder Alter der Versuchstiere sind anzugeben. Geschwisterbeziehungen unter den Tieren sollten bekannt sein, so dass eine Verpaarung von Geschwistern vermieden wird. Die Tiere sind den Kontroll- und Behandlungsgruppen nach dem Zufallsprinzip zuzuordnen (empfohlen wird eine körpergewichtsabhängige Gruppenbildung). Die Käfige sind so aufzustellen, dass etwaige durch den Standort bedingte Auswirkungen möglichst gering sind. Jedes Versuchstier erhält zur sicheren Identifizierung eine eigene Nummer. Für die P-Generation erfolgt dies, bevor mit der Behandlung begonnen wird. Für die F1-Generation wird dies nach Absetzen der Tiere, die für die Verpaarung ausgewählt wurden, durchgeführt. Für alle ausgewählten F1-Tiere sind Aufzeichnungen, aus denen der Wurf, dem sie entstammen, hervorgeht, zu führen. Darüber hinaus wird eine einzelne Kennzeichnung der Jungen so bald wie möglich nach der Geburt empfohlen, wenn ein Wiegen der einzelnen Jungen oder Funktionsprüfungen erwogen werden.

Die Elterntiere (P) sind bei Beginn der Verabreichung etwa 5 bis 9 Wochen alt. Die Tiere aller Testgruppen sollen soweit wie möglich gleiches Gewicht und Alter aufweisen.

1.4 VERFAHREN

1.4.1 **Anzahl und Geschlecht der Versuchstiere**

Jede Prüf- und Kontrollgruppe soll eine ausreichende Anzahl von Tieren umfassen, damit möglichst nicht weniger als 20 trächtige Weibchen, die gebären oder kurz davor stehen, vorhanden sind. Bei Substanzen, die unerwünschte behandlungsbedingte Wirkungen hervorrufen (z. B. Sterilität, übermäßige Toxizität bei hoher Dosis), ist dies unter Umständen nicht möglich. Es sollen genügend trächtige Weibchen vorhanden sein, so dass eine aussagekräftige Bewertung des Potenzials der Substanz, Fruchtbarkeit, Trächtigkeit, Verhalten des Muttertiers und Säugen, Wachstum und Entwicklung der F1-Generation von der Empfängnis bis zur Reife sowie die Entwicklung von deren Nachkommen (F2) bis zur Entwöhnung zu beeinträchtigen, sichergestellt ist. Wird die gewünschte Zahl an trächtigen Tieren (d. h. 20) nicht erreicht, bedeutet dies daher nicht notwendigerweise, dass die Studie invalideist, dies ist jeweils von Fall zu Fall zu beurteilen.

1.4.2 **Zubereitung der Dosen**

Empfohlen wird, die Prüfsubstanz oral (im Futter oder Trinkwasser oder über eine Magensonde) zu verabreichen, sofern nicht eine andere Form (z. B. Auftragen auf die Haut oder Einatmen) für besser geeignet gehalten wird.

Bei Bedarf wird die Prüfsubstanz in einem geeigneten Vehikel gelöst oder suspendiert. Es empfiehlt sich, nach Möglichkeit zunächst die Verwendung einer wässerigen Lösung/Suspension, dann eine Lösung/Emulsion in Öl (z. B. Maisöl) und erst dann eine Lösung in einem anderen Vehikel in Betracht zu ziehen. Bei anderen Vehikeln als Wasser müssen dessen toxische Merkmale bekannt sein. Die Stabilität der Prüfsubstanz in dem Vehikel ist zu bestimmen.

1.4.3 **Dosierung**

Mindestens drei Dosen und eine entsprechende Kontrolle werden verwendet. Soweit keine Beschränkungen aufgrund der physikalisch-chemischen Beschaffenheit oder der biologischen Wirkungen der Prüfsubstanz bestehen, ist die höchste Dosierung so zu wählen, dass zwar Toxizität, jedoch nicht Tod oder schweres Leiden der Tiere herbeigeführt wird. Im Falle unerwarteter Mortalität wären Studien mit einer Mortalitätsrate von weniger als etwa 10 Prozent bei den Elterntieren (P) normalerweise immer noch annehmbar. Eine absteigende Folge von Dosierungen sollte so ausgewählt werden, dass die Dosisabhängigkeit der Reaktion und ein NOAEL belegt werden können. Dosisintervalle mit dem Faktor 2 bis 4 haben sich für die Festlegung absteigender Dosierungen häufig als optimal erwiesen. Gegenüber der Verwendung sehr großer Intervalle (z.B. mehr als Faktor 10) ist die Hinzunahme einer vierten Testgruppe häufig vorzuziehen. Bei Fütterungsstudien soll der Konzentrationsunterschied nicht mehr als das Dreifache betragen. Bei der Auswahl der Dosen sind vorliegende Toxizitätsdaten, insbesondere Ergebnisse aus Studien mit wiederholter Dosierung, zu berücksichtigen. Vorhandene Informationen über den Stoffwechsel und die Kinetik der Prüfsubstanz oder verwandter Stoffe sind ebenfalls in Betracht zu ziehen. Diese Angaben helfen außerdem, die Angemessenheit des Dosierungsplans nachzuweisen.
Die Kontrollgruppe ist eine unbehandelte Gruppe oder eine Vehikel-Kontrollgruppe, sofern ein Vehikel zur Verabreichung der Prüfsubstanz verwendet wird. Abgesehen von der Behandlung mit der Prüfsubstanz sollen die Tiere der Kontrollgruppe genauso wie die Tiere in den Testgruppen behandelt werden. Wird ein Vehikel verwendet, erhält die Kontrollgruppe das Vehikel im höchsten verwendeten Volumen. Wird eine Prüfsubstanz zusammen mit dem Futter verabreicht und führt dies zu einer geringeren Futteraufnahme oder –verwertung, ist unter Umständen eine paarweise Fütterungskontrolle erforderlich. Alternativ können Daten aus kontrollierten Studien zur Bewertung der Auswirkungen einer verringerten Futteraufnahme auf Reproduktionsparameter anstelle einer gleichzeitigen paarweisen Fütterungskontrolle herangezogen werden.

Zu berücksichtigen sind die folgenden Merkmale des Vehikels und anderer Zusätze: Auswirkungen auf die Absorption, die Verteilung, den Stoffwechsel oder die Retention der Prüfsubstanz; Auswirkungen auf die chemischen Eigenschaften der Prüfsubstanz, die deren toxische Eigenschaften verändern können; ferner Auswirkungen auf die Futter- oder Wasseraufnahme oder den Ernährungszustand der Versuchstiere.

1.4.4 **Limit-Test**

Ergibt eine orale Prüfung mit einer einzigen Dosierung von mindestens 1.000 mg/kg Körpergewicht/Tag oder bei einer Verabreichung in Futter oder Trinkwasser ein gleichwertiger prozentualer Anteil im Futter oder Trinkwasser nach den für diese Studie beschriebenen Verfahren keine wahrnehmbare Toxizität bei den Elterntieren oder deren Nachkommen und ist aufgrund von Daten struktur- und/oder stoffwechselverwandter Stoffe keine Toxizität zu erwarten, kann auf eine vollständige Studie mit verschiedenen Dosisabstufungen gegebenenfalls verzichtet werden. Der Limit-Test kann angebracht sein, es sei denn, die Exposition beim Menschen lässt die Prüfung bei einer höheren oralen Dosis angezeigt erscheinen. Bei anderen Arten der Verabreichung, wie z. B. Inhalation oder dermale Applikation, kann die maximal erreichbare Expositionsdosis in vielen Fällen gegebenenfalls durch die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Prüfsubstanz, wie beispielsweise die Löslichkeit, vorbestimmt und somit limitiert sein.

1.4.5 **Verabreichung der Dosen**

Den Tieren ist die Prüfsubstanz an 7 Tagen pro Woche zu verabreichen. Die Prüfsubstanz soll möglichst oral (im Futter oder Trinkwasser oder über eine Magensonde) verabreicht werden. Die Verwendung einer anderen Form der Verabreichung ist zu begründen und es sind unter Umständen entsprechende Änderungen vorzunehmen. Allen Tieren sind die Dosen während des entsprechenden Versuchszeitraums nach derselben Methode zu verabreichen. Wird die Prüfsubstanz über eine Sonde verabreicht, ist eine Magensonde zu verwenden. Das maximale Flüssigkeitsvolumen, das einem Versuchstier jeweils verabreicht wird, soll 1 ml/100 g Körpergewicht (maximal 0,4 ml/100 g Körpergewicht bei Maisöl) nicht übersteigen; bei wässerigen Lösungen können 2 ml/100 g Körpergewicht verabreicht werden. Außer für reizende oder ätzende Stoffe, die in der Regel bei höheren Konzentrationen eine Verschlimmerung der Wirkungen hervorrufen, soll die Veränderlichkeit des Prüfvolumens durch die Dosierung möglichst gering gehalten werden, um ein konstantes Volumen bei allen Dosen zu gewährleisten. Bei Studien, bei denen die Prüfsubstanz über eine Magensonde verabreicht wird, erhalten die Jungtiere die Prüfsubstanz im Normalfall nur indirekt über die Milch, bis für sie die direkte Verabreichung bei ihrer Entwöhnung beginnt. Bei Studien, bei denen die Prüfsubstanz über das Futter oder Trinkwasser verabreicht wird, erhalten die Jungtiere außerdem die Prüfsubstanz direkt, wenn sie selbst in der letzten Woche der Laktationszeit zu fressen beginnen.

Für mit dem Futter oder dem Trinkwasser verabreichte Stoffe ist unbedingt sicherzustellen, dass die Mengen der jeweiligen Prüfsubstanz den normalen Nahrungs- oder Wasserhaushalt nicht beeinträchtigen. Wenn die Prüfsubstanz mit dem Futter verabreicht wird, kann entweder auf eine konstante Futterkonzentration (ppm) oder eine konstante Dosierung im Verhältnis zum Körpergewicht des Versuchstiers geachtet werden. Welche Methode angewandt wird, ist zu spezifizieren. Eine mit einer Magensonde verabreichte Dosis soll jeweils zu denselben Tageszeiten gegeben und mindestens einmal pro Woche so angepasst werden, dass eine konstante Dosis im Verhältnis zum Körpergewicht aufrechterhalten wird. Bei einer Anpassung der über die Magensonde verabreichten Dosis an das Gewicht sind Informationen über die Verteilung in der Plazenta zu berücksichtigen.

1.4.6 **Versuchsablauf**

Die Verabreichung der täglichen Dosis an die Männchen und Weibchen der Elterngeneration (P) beginnt, wenn diese zwischen 5 und 9 Wochen alt sind. Die Verabreichung der täglichen Dosis an die Männchen und Weibchen der F1-Generation beginnt bei der Entwöhnung; nicht vergessen werden sollte, dass bei einer Verabreichung der Prüfsubstanz über das Futter oder Trinkwasser F1-Nachkommen möglicherweise der Prüfsubstanz bereits während der Säugezeit unmittelbar ausgesetzt werden. Bei beiden Geschlechtern (P- und F1-Generation) wird die Verabreichung über einen Zeitraum von mindestens 10 Wochen vor der Paarungszeit durchgeführt. Die Verabreichung wird bei beiden Geschlechtern während der 2-wöchigen Paarungszeit fortgesetzt. Die Männchen sind, wenn sie für die Beurteilung der Auswirkungen auf die Fortpflanzung nicht mehr benötigt werden, auf humane Weise zu töten und zu untersuchen. Bei den Weibchen der Elterngeneration (P) wird die Verabreichung während der Gravidität bis zur Entwöhnung der F1-Nachkommen fortgesetzt. Gegebenenfalls sind Änderungen am Dosierungsplan vorzunehmen aufgrund von vorliegenden Informationen über die Prüfsubstanz, wie z.B. vorhandene Toxizitätsdaten, Induktion des Stoffwechsels oder Bioakkumulation. Die Dosis für einzelne Tiere beruht normalerweise auf dessen zuletzt bestimmtem Körpergewicht. Vorsicht ist allerdings bei der Anpassung der Dosis im letzten Trimester der Gravidität geboten.
Die Behandlung der Männchen und Weibchen der P- und F1-Generation wird fortgesetzt, bis die Tiere getötet werden. Alle ausgewachsenen Männchen und Weibchen der P- und F1-Generation werden auf humane Weise getötet, wenn sie zur Beurteilung der Auswirkungen auf die Fortpflanzung nicht mehr benötigt werden. F1-Nachkommen, die nicht für die Verpaarung ausgewählt werden, und alle F2-Nachkommen werden nach der Entwöhnung auf humane Weise getötet.

1.4.7 **Verpaarung**

1.4.7.1 *Verpaarung der Elterngeneration (P)*

Für die Verpaarung wird jedes Weibchen zusammen mit einem Männchen, das die gleiche Dosierung erhalten hat (1:1-Paarung), zusammengebracht, bis es zur Kopulation kommt beziehungsweise ein Zeitraum von 2 Wochen verstrichen ist. Die Weibchen werden täglich auf vorhandene Spermien oder Vaginalpfropfen hin untersucht. Der Tag 0 der Trächtigkeit ist definiert als der Tag, an dem ein Vaginalpfropf oder Spermien gefunden werden. Bei einer erfolglosen Verpaarung kann gegebenenfalls die erneute Verpaarung von Weibchen mit bewährten Männchen der gleichen Gruppe erwogen werden. Miteinander verpaarte Paare sind in den Daten eindeutig zu kennzeichnen. Eine Verpaarung von Geschwistern ist zu vermeiden.

1.4.7.2 *Verpaarung der F1-Generation*

Bei der Verpaarung der F1-Nachkommen werden mindestens ein Männchen und ein Weibchen zum Zeitpunkt der Entwöhnung aus jedem Wurf zur Verpaarung mit Jungtieren, die die gleiche Dosis erhalten haben, jedoch aus einem anderen Wurf stammen, für die Zeugung der F2-Generation ausgewählt. Die Auswahl der Jungtiere aus jedem Wurf erfolgt nach dem Zufallsprinzip, wenn sich die Tiere eines Wurfs in Bezug auf Körpergewicht oder Erscheinungsbild nicht nennenswert voneinander unterscheiden. Werden solche Unterschiede beobachtet, sind aus jedem Wurf die besten Vertreter auszuwählen. Pragmatisch erfolgt dies am besten anhand des Körpergewichts, unter Umständen kann jedoch das Erscheinungsbild besser geeignet sein. Eine Verpaarung der F1-Nachkommen soll erst dann erfolgen, wenn sie die volle Geschlechtsreife erreicht haben.

Bei Paaren ohne Nachkommen ist, soweit möglich, die Ursache der Unfruchtbarkeit zu ermitteln. Dazu können Verfahren wie zusätzliche Verpaarungsgelegenheiten mit anderen bewährten Vater- oder Muttertieren, eine mikroskopische Untersuchung der Fortpflanzungsorgane und die Untersuchung der Östruszyklen oder der Spermatogenese eingesetzt werden.

1.4.7.3 *Zweite Verpaarung*

Unter gewissen Umständen wie z. B. bei behandlungsbedingten Veränderungen an der Wurfgröße oder der Beobachtung unklarer Auswirkungen bei der ersten Verpaarung wird eine zweite Verpaarung der ausgewachsenen P- oder F1-Tiere empfohlen, um einen zweiten Wurf zu produzieren. Empfohlen wird, Weibchen oder Männchen, die keinen Wurf gezeugt haben, mit Tieren des jeweils anderen Geschlechts erneut zu verpaaren, die ihre Fortpflanzungsfähigkeit unter Beweis gestellt haben. Wird ein zweiter Wurf in einer Generation für notwendig befunden, sind die Tiere etwa eine Woche nach der Entwöhnung des letzten Wurfs erneut zu verpaaren.

1.4.7.4 *Wurfgröße*

Man lässt die Tiere normal werfen und ihre Nachkommen bis zur Entwöhnung aufziehen. Wahlweise kann eine Standardisierung der Wurfgrößen vorgenommen werden. Sofern standardisiert wird, ist das dabei verwendete Verfahren im Einzelnen zu beschreiben.

1.5 BEOBACHTUNGEN

1.5.1 **Klinische Beobachtungen**

Allgemeine klinische Beobachtungen sind einmal täglich vorzunehmen; wird die Dosis über die Magensonde verabreicht, ist der Wirkungsgipfel nach Verabreichung der Dosis bei der Wahl des Zeitpunkts zu berücksichtigen. Änderungen am Verhalten, Anzeichen für eine schwere oder langwierige Geburt sowie alle Anzeichen für Toxizität sind zu protokollieren. Darüber hinaus ist jedes Tier mindestens einmal pro Woche gründlicher zu untersuchen, dies kann beim Wiegen des Tiers erfolgen. Zweimal pro Tag, am Wochenende einmal täglich, soweit zutreffend, sind alle Tiere auf Morbidität und Mortalität zu überprüfen.

1.5.2 **Körpergewicht und Futter-/Wasseraufnahme der Elterntiere**

Die Elterntiere (P und F1) werden am ersten Tag der Verabreichung und anschließend mindestens einmal pro Woche gewogen. Weibchen der Elterngeneration (P und F1) werden mindestens an den Graviditätstagen 0, 7, 14 und 20 oder 21 und während der Laktationszeit an den gleichen Tagen wie die Würfe sowie an dem Tag gewogen, an dem die Tiere getötet werden. Diese Beobachtungen sind für jedes ausgewachsene Tier einzeln zu protokollieren. In der Zeit vor der Verpaarung und während der Gravidität ist die Futteraufnahme mindestens einmal pro Woche zu messen. Sofern die Prüfsubstanz im Wasser verabreicht wird, ist die Wasseraufnahme zumindest einmal pro Woche zu messen.

1.5.3 **Östruszyklus**

Bei den Weibchen der Generation P und F1 werden Länge und normaler Verlauf des Östruszyklus mit Hilfe von Vaginalabstrichen vor der Verpaarung und optional während der Verpaarung beurteilt, bis Anhaltspunkte für eine stattgefundene Besamung gefunden werden. Vaginal-/Zervixzellen sind vorsichtig zu entnehmen, damit die Schleimhäute nicht gestört und dadurch anschließend eine Scheinträchtigkeit hervorgerufen wird (1).

1.5.4 **Spermienparameter**

Bei allen Männchen der P- und F1-Generation wird das Gewicht von Hoden und Nebenhoden protokolliert, jeweils ein Organ wird für eine histopathologische Untersuchung konserviert (siehe Abschnitt 1.5.7 und 1.5.8.1). Von einer Teilmenge von mindestens zehn Männchen jeder Gruppe von P- und F1-Männchen werden die übrigen Hoden und Nebenhoden zur Zählung der homogenisierungsresistenten Spermatiden beziehungsweise der Spermien aus den Samenspeichern im Nebenhodenschwanz verwendet. Bei derselben Teilmenge von Männchen werden Spermien aus dem Nebenhodenschwanz oder dem Samenleiter zur Beurteilung von Spermienmotilität und -morphologie entnommen. Werden behandlungsbedingte Auswirkungen beobachtet oder liegen Anhaltspunkte für mögliche Auswirkungen auf die Spermatogenese aus anderen Studien vor, ist die Spermienuntersuchung an allen Männchen jeder Dosisgruppe durchzuführen; andernfalls kann die Zählung auf die P- und F1-Männchen der Kontrollgruppe und der Gruppe mit der hohen Prüfsubstanzdosis beschränkt werden.

Die Gesamtanzahl an homogenisierungsresistenten Hodenspermatiden und Spermien aus dem Nebenhodenschwanz ist zu bestimmen (2)(3). Samenspeicher im Nebenhodenschwanz lassen sich anhand von Spermienkonzentration und –volumen in der Suspension, die zur Vervollständigung der qualitativen Beurteilungen verwendet wird, und der Anzahl der Spermien ableiten, die bei der anschließenden Zerkleinerung und/oder Homogenisierung des restlichen Nebenhodenschwanzgewebes gewonnen werden. Die Zählung ist an der ausgewählten Teilmenge von Männchen aus allen Dosisgruppen unmittelbar nach der Tötung der Tiere vorzunehmen, ausgenommen es werden Videobilder oder digitale Aufzeichnungen gemacht oder die Proben werden eingefroren und später analysiert. Unter diesen Umständen können die Kontrolltiere und die Gruppe mit der hohen Dosierung zuerst analysiert werden. Werden keine behandlungsbedingten Auswirkungen (z. B. Auswirkungen auf Spermienzahl, -motilität oder –morphologie) festgestellt, brauchen die anderen Dosierungsgruppen nicht untersucht zu werden. Sind bei der Gruppe mit der hohen Dosierung behandlungsbedingte Auswirkungen festzustellen, dann sind auch die Gruppen mit den niedrigen Dosierungen zu beurteilen.

Die Motilität von Nebenhodenspermien (oder Spermien aus dem Samenleiter) ist unmittelbar nach der Tötung zu beurteilen oder auf Video aufzunehmen. Bei der Gewinnung der Spermien ist darauf zu achten, dass diese so wenig wie möglich geschädigt werden; für die Motilitätsanalyse sind die Spermien nach anerkannten Verfahren zu verdünnen (4). Der prozentuale Anteil an progressiv motilen Spermien ist subjektiv oder objektiv zu bestimmen. Bei einer computerunterstützten Spermienbewegungsanalyse (5)(6)(7)(8)(9)(10) beruht die Ableitung der progressiven Motilität auf benutzerdefinierten Schwellen für die durchschnittliche Streckengeschwindigkeit und Direktheit oder einem linearen Index. Werden zum Zeitpunkt der Sektion die Proben auf Video (11) aufgenommen oder die Bilder auf andere Weise aufgezeichnet, kann die Analyse der P- und F1-Männchen der Kontrollgruppe und der Gruppe, der die hohe Dosis verabreicht wurde, anschließend vorgenommen werden, es sei denn, behandlungsbedingte Auswirkungen wurden beobachtet; in diesem Fall sind auch die Gruppen mit den niedrigeren Dosierungen zu beurteilen. Liegt kein Video- oder digitales Bildmaterial vor, sind alle Proben aus allen Behandlungsgruppen bei der Sektion zu analysieren.

An einer Probe von Nebenhodenspermien (oder Spermien aus dem Samenleiter) ist eine morphologische Untersuchung durchzuführen. Dabei sind die Spermien (mindestens 200 je Probe) als fixierte Nasspräparate (12) zu untersuchen und als normal oder abnorm zu klassifizieren. Beispiele für morphologische Spermienabnormitäten sind Verschmelzungen, isolierte Köpfe und missgebildete Köpfe und/oder Schwänze. Die Untersuchungen sind an der ausgewählten Teilmenge von Männchen aller Dosisgruppen entweder unmittelbar nach der Tötung der Tiere oder zu einem späteren Zeitpunkt durchzuführen, sofern Videobilder oder digitale Aufzeichnungen vorliegen. Fixierte Abstriche können ebenfalls später ausgewertet werden. Unter diesen Umständen können die Kontrolltiere und die Gruppe mit der hohen Dosierung zuerst analysiert werden. Werden keine behandlungsbedingten Auswirkungen (z. B. Auswirkungen auf die Spermienmorphologie) festgestellt, brauchen die anderen Dosierungsgruppen nicht untersucht zu werden. Sind bei der Gruppe mit der hohen Dosierung behandlungsbedingte Auswirkungen festzustellen, dann sind auch die Gruppen mit den niedrigen Dosierungen zu beurteilen.

Wurden oben genannte Spermienparameter bereits im Rahmen einer systemischen Toxizitätsstudie von einer Dauer von mindestens 90 Tagen untersucht, kann auf eine Wiederholung in der Zweigenerationenstudie verzichtet werden. Empfohlen wird allerdings, Proben oder digitale Aufzeichnungen von Spermien der P-Generation für eine eventuell später erforderliche Beurteilung aufzuheben.

1.5.5 **Nachkommen**

Jeder Wurf ist so bald wie möglich nach der Geburt (Laktaktionstag 0) zu untersuchen, um Anzahl und Geschlecht der Jungtiere, Tot- und Lebendgeburten sowie eventuell vorhandene makroskopische Anomalien festzustellen. Jungtiere, die am Tag 0 tot aufgefunden werden und noch nicht mazeriert sind, sind möglichst auf Defekte und die Todesursache zu untersuchen und zu konservieren. Lebende Jungtiere sind zu zählen und jeweils einzeln bei der Geburt (Laktationstag 0) oder am Tag 1 und danach regelmäßig z. B. am Laktationstag 4, 7, 14 und 21 zu wiegen. Beobachtete körperliche oder Verhaltensabnormitäten bei den Muttertieren oder Nachkommen sind zu protokollieren.

Die körperliche Entwicklung der Nachkommen ist in der Hauptsache anhand der Körpergewichtszunahme festzuhalten. Andere körperliche Parameter (z. B. Öffnung von Ohren und Augen, Zahndurchbruch, Haarwachstum) können zwar zusätzliche Informationen bieten, diese Daten sind aber möglichst im Zusammenhang mit Daten zur Geschlechtsreife zu bewerten (z. B. Alter und Körpergewicht zum Zeitpunkt der Vaginalöffnung oder der Balano-Präputial-Separation) (13). Funktionelle Untersuchungen der F1-Nachkommen (z. B. Motorik, Sensorik und Reflexontogenese) vor und/oder nach der Entwöhnung, insbesondere solche, die mit der Geschlechtsreife in Zusammenhang stehen, werden empfohlen, sofern derartige Untersuchungen nicht Bestandteil gesonderter Studien sind. Bei entwöhnten F1-Tieren, die für die Verpaarung ausgewählt wurden, ist das Alter zum Zeitpunkt der Vaginalöffnung und der Präputial-Separation zu bestimmen. Bei F2-Nachkommen ist der Anogenitalabstand am Tag 0 nach der Geburt zu messen, wenn Veränderungen am Verhältnis der Geschlechter in der F1-Generation oder dem Zeitpunkt der Geschlechtsreife aufgetreten sind.

Bei Gruppen, die ansonsten eindeutige Anzeichen für schädigende Auswirkungen aufweisen (z. B. signifikante Verminderung der Gewichtszunahme, usw.), kann von funktionellen Beobachtungen Abstand genommen werden. Sofern funktionelle Untersuchungen erfolgen, sind sie nicht an den Jungtieren vorzunehmen, die für die Verpaarung ausgewählt wurden.

1.5.6 **Nekropsie**

Bei der Tötung oder bei vorzeitigem Tod im Verlauf der Studie werden alle Elterntiere (P und F1) und alle Jungtiere mit äußeren Abnormitäten oder klinischen Anzeichen sowie jeweils ein nach dem Zufallsprinzip ausgewähltes Jungtier/Geschlecht/Wurf sowohl aus der F1- als auch aus der F2-Generation makroskopisch auf strukturelle Abnormitäten oder pathologische Veränderungen untersucht. Besondere Beachtung ist dabei den Fortpflanzungsorganen zu schenken. Auf humane Weise getötete moribunde Jungtiere und noch nicht mazerierte tote Jungtiere werden auf mögliche Defekte und/oder die Todesursache untersucht und konserviert.

Die Gebärmutter aller erstgebärenden Weibchen wird auf Vorhandensein und Anzahl von Implantationsstellen in einer Weise untersucht, die keine Auswirkungen auf die histopathologische Bewertung hat.

1.5.7 **Organgewichte**

Bei der Tötung werden das Körpergewicht und das Gewicht der folgenden Organe bei allen P- und F1-Elterntieren bestimmt (paarweise vorhandene Organe sind einzeln zu wiegen):

— Uterus; Ovarien;
— Hoden und Nebenhoden (gesamt und Schwanzteil);
— Prostata;
— Samenbläschen mit Koagulationsdrüsen und deren Flüssigkeiten und Prostata (als eine Einheit);
— Gehirn, Leber, Nieren, Milz, Hypophyse, Schilddrüse und Nebennieren sowie bekannte Zielorgane.

Bei den F1- und F2-Jungtieren, die für die Nekropsie ausgewählt werden, ist das Körpergewicht bei der Tötung zu bestimmen. Das Gewicht folgender Organe ist an je einem Jungtier/Geschlecht/Wurf (siehe Abschnitt 1.5.6) zu bestimmen, das nach dem Zufallsprinzip ausgewählt wurde: Gehirn, Milz und Thymusdrüse.

Die Ergebnisse der Nekropsie und die Organgewichte sind, sofern möglich, im Zusammenhang mit Beobachtungen aus anderen Studien mit wiederholter Exposition zu bewerten.

1.5.8 **Histopathologische Untersuchungen**

1.5.8.1 *Elterntiere*

Die folgenden Organe und Gewebe von Elterntieren (P und F1) beziehungsweise repräsentative Proben hiervon sind für die histopathologische Untersuchung zu fixieren und in einem geeigneten Medium aufzubewahren.

— Vagina, Uterus mit Zervix, Ovarien (konserviert in einem geeigneten Fixativ);
— ein Hoden (konserviert in Bouinschem Fixiermittel oder einem vergleichbaren Fixativ), ein Nebenhoden, Samenbläschen, Prostata und Koagulationsdrüse;
— zuvor ermittelte(s) Zielorgan(e) von allen P- und F1-Tieren, die für die Verpaarung ausgewählt wurden.

Eine vollständige histopathologische Untersuchung der oben genannten konservierten Organe und Gewebe ist bei allen P- und F1-Tieren aus der Gruppe mit der hohen Dosis und der Kontrollgruppe durchzuführen, die für die Verpaarung ausgewählt wurden. Die Untersuchung der Ovarien der P-Tiere kann wahlweise durchgeführt werden. Organe, bei denen man behandlungsbedingte Veränderungen feststellt, sind auch bei Tieren aus den Gruppen mit der niedrigen und mittleren Dosis zu untersuchen, um bei der Ermittlung des NOAEL zu helfen. Des weiteren sind die Fortpflanzungsorgane von Tieren mit der niedrigen und der mittleren Dosis, die im Verdacht einer verringerten Fertilität stehen, einer histopathologischen Untersuchung zu unterziehen, beispielsweise die Tiere, die sich nicht gepaart haben, die nicht empfangen oder gezeugt oder gesunde Nachkommen geboren haben oder bei denen die Regelmäßigkeit des Östruszyklus oder die Spermienanzahl, -motilität oder –morphologie beeinträchtigt waren. Alle makroskopischen Läsionen wie Atrophien oder Tumore sind zu untersuchen.

An den Hoden ist eine eingehende histopathologische Untersuchung vorzunehmen (z. B. Verwendung des Bouinschen Fixiermittels, Einbettung in Paraffin und transversale Schnitte von 4 bis 5 µm Dicke), um behandlungsbedingte Auswirkungen wie Retention von Spermatiden, fehlende Keimzellenschichten oder –typen, mehrkernige Riesenzellen oder die Ablösung von spermatogenen Zellen in das Lumen festzustellen (14). Bei der Untersuchung des intakten Nebenhodens sind Kopf, Körper und Schwanz mit einzubeziehen; dies kann durch Beurteilung eines Längsschnitts erfolgen. Der Nebenhoden ist auf die Infiltration mit Leukozyten, Veränderungen in der Prävalenz von Zelltypen, aberrante Zellarten und Phagozytose von Spermien zu untersuchen. Für die Untersuchung der männlichen Fortpflanzungsorgane kann eine PAS- und Hämatoxylinfärbung verwendet werden.

Nach Absetzen der Jungtiere sollte der Eierstock Primordialfollikel und wachsende Follikel sowie die großen Gelbkörper der Laktationsperiode enthalten. Bei der histopathologischen Untersuchung sollte die Abnahme der Primordialfollikel qualitativ erfasst werden. Bei den F1-Weibchen ist eine quantitative Beurteilung der Primordialfollikel vorzunehmen; die Anzahl der Tiere, die Auswahl der Eierstockquerschnitte und die Querschnittprobengröße sollten dabei für das herangezogene Bewertungsverfahren statistisch angemessen sein. Untersucht wird unter anderem die Anzahl der Primordialfollikel, die mit kleinen wachsenden Follikeln zusammengenommen werden können; dabei werden die Eierstöcke von behandelten Tieren und Kontrolltieren miteinander verglichen (15)(16)817)(18)(19).

1.5.8.2 *Entwöhnte Tiere*

Makroskopisch abnorme Gewebe und Zielorgane von allen Jungtieren mit äußerlich sichtbaren Abnormitäten oder klinischen Anzeichen sowie von je einem nach dem Zufallsprinzip ausgewählten Jungtier/Geschlecht/Wurf aus der F1- und der F2-Generation, die nicht für die Paarung ausgewählt wurden, werden für die histopathologische Untersuchung fixiert und in einem geeigneten Medium aufbewahrt. An dem konservierten Gewebe ist eine vollständige histopathologische Untersuchung durchzuführen, wobei besonderes Schwergewicht auf die Fortpflanzungsorgane gelegt wird.

2 DATEN

2.1 VERARBEITUNG DER ERGEBNISSE

Die Daten sind jeweils einzeln zu protokollieren und in tabellarischer Form zusammenzufassen; dabei werden für jede Prüfgruppe und für jede Generation die Anzahl der Tiere zu Beginn der Prüfung, die Anzahl der während der Prüfung tot aufgefundenen Tiere, beziehungsweise der aus humanen Gründen getöteten Tiere, der jeweilige Zeitpunkt des Todes beziehungsweise der Tötung, die Anzahl der fruchtbaren Tiere, die Anzahl der trächtigen Weibchen, die Anzahl der Tiere mit Anzeichen von Toxizität, eine Beschreibung der beobachteten Anzeichen von Toxizität, einschließlich des Zeitpunkts, zu dem die toxischen Wirkungen eingetreten sind, deren Dauer und Schweregrad, die Arten von Beobachtungen an Elterntieren und Nachkommen, die Arten von histopathologischen Veränderungen und alle relevanten Daten zu den Würfen angegeben.

Zur Auswertung der numerischen Ergebnisse wird ein allgemein anerkanntes statistisches Verfahren angewendet; die statistischen Verfahren sind im Rahmen der Studienplanung auszuwählen und zu begründen. Für die Analyse der Daten können Verfahren zur Modellierung der Dosis-Wirkungsbeziehung hilfreich sein. Der Bericht sollte hinreichende Informationen über das herangezogene Analyseverfahren und das verwendete Computerprogramm beinhalten, so dass ein unabhängiger Überprüfer/Statistiker die Analyse nachbewerten und nachvollziehen kann.

2.2 BEWERTUNG DER ERGEBNISSE

Die Befunde dieser Zweigenerationenstudie zur Reproduktionstoxizität sind im Hinblick auf die beobachteten Wirkungen, einschließlich Nekropsie- und Mikroskopiebefunde, zu bewerten. Die Bewertung beinhaltet den vorhandenen beziehungsweise nicht vorhandenen Zusammenhang zwischen der Prüfsubstanzdosis und vorhandenen beziehungsweise nicht vorhandenen Abnormitäten sowie deren Häufigkeit und Schwere, einschließlich der makroskopischen Läsionen, identifizierten Zielorgane, beeinträchtigten Fertilität, klinischen Abnormitäten, beeinträchtigten Reproduktions- und Wurfleistungen, Körpergewichtsveränderungen, Auswirkungen auf die Mortalität und etwaige sonstige toxische Auswirkungen. Die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Prüfsubstanz und Daten zur Toxikokinetik, soweit verfügbar, sind bei der Bewertung der Prüfergebnisse zu berücksichtigen.

Aus einer ordnungsgemäß durchgeführten Prüfung der Reproduktionstoxizität sollte der NOAEL in angemessener Weise abgeschätzt werden können und sollten schädigende Wirkungen auf Reproduktion, Geburtsvorgang, Laktation, postnatale Entwicklung einschließlich Wachstum und Geschlechtsentwicklung klar werden.

2.3 INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Eine Zweigenerationenstudie zur Reproduktionstoxizität liefert Informationen über die Auswirkungen einer wiederholten Exposition gegenüber einem Stoff während aller Phasen des Reproduktionszyklus. Die Studie vermittelt insbesondere Informationen über die Reproduktionsparameter sowie über Entwicklung, Wachstum, Reifung und Überleben der Nachkommen. Die Ergebnisse der Studie sind in Verbindung mit Befunden aus Studien zur subchronischen Toxizität, pränatalen Entwicklungstoxizität und Toxikokinetik sowie anderen vorliegenden Studien zu interpretieren. Die Ergebnisse dieser Studie können bei der Beurteilung der Frage, ob Bedarf an einer weiteren Prüfung einer Chemikalie besteht, herangezogen werden. In gewissem Grad ist auch eine Extrapolation der Studienergebnisse auf den Menschen zulässig. Sie sind am besten für Informationen über NOAEL-Werte und zulässige Expositionen für den Menschen zu verwenden (20)(21)(22)(23).

3 **BERICHTERSTATTUNG**

PRÜFBERICHT
Der Prüfbericht muss folgende Informationen enthalten:

Prüfsubstanz:

— physikalische Beschaffenheit und, soweit relevant, physikalisch-chemische Eigenschaften;
— Daten zur Identifikation;
— Reinheit.

Vehikel (sofern zutreffend):

— Begründung der Wahl des Vehikels, sofern nicht Wasser verwendet wurde.

Versuchstiere:

— Art und Stamm;
— Zahl, Alter und Geschlecht der Tiere;
— Herkunft, Haltungsbedingungen, Futter, Material für den Nestbau, usw.;
— Einzelgewicht der Tiere zu Beginn der Prüfung.

Prüfbedingungen:

— Begründung der Wahl der Dosisabstufung;
— nähere Angaben zur Prüfsubstanzformulierung/Futterzubereitung, erreichte Konzentrationen;
— Stabilität und Homogenität der Zubereitung;
— Angaben zur Verabreichung der Prüfsubstanz;
— Umrechnung der Prüfsubstanzkonzentration in Futter/Trinkwasser (ppm) auf die tatsächliche Dosis (mg/kg Körpergewicht/Tag), soweit zutreffend;
— Einzelheiten zur Futter- und Wasserqualität.

Ergebnisse:

— Futter- und Wasseraufnahme, soweit vorhanden, Futtereffizienz (Zunahme des Körpergewichts je Gramm aufgenommenes Futter) und Prüfsubstanzaufnahme bei P- und F1-Tieren, ausgenommen in der Zeit der Kohabitation und mindestens des letzten Drittels der Laktationszeit;
— Absorptionsdaten, soweit vorhanden;
— Körpergewichtsdaten für P- und F1-Tiere, die für die Verpaarung ausgewählt wurden;
— Gewichtsdaten für Wurf und Jungtiere;
— Körpergewicht bei Tötung sowie absolute und relative Organgewichtsdaten für die Elterntiere;
— Art, Schweregrad und Dauer der klinischen Beobachtungen (mit Angaben zur Reversibilität);
— Zeitpunkt des Todes im Verlauf der Studie oder Angabe, ob Tiere bis zum Schluss überlebt haben;
— Angaben zur geschlechts- und dosisspezifischen toxischen Reaktion, einschließlich Indizes zu Verpaarung, Fertilität, Gravidität, Geburt, Lebensfähigkeit und Laktation; der Bericht beinhaltet die Zahlen, die bei der Berechnung dieser Indizes verwendet wurden;
— toxische oder sonstige Wirkungen auf Reproduktion, Nachkommen, postnatales Wachstum, usw.;
— Sektionsbefunde;
— ausführliche Beschreibung aller histopathologischen Befunde;
— Anzahl der P- und F1-Weibchen mit normalem Zyklusverlauf und Zykluslänge;
— Gesamtanzahl von Spermien im Nebenhodenschwanz, progressiv motile Spermien in Prozent, morphologisch normale Spermien in Prozent und abnorme Spermien in Prozent mit Angabe der jeweiligen festgestellten Abnormität;
— Zeit bis zur Besamung, einschließlich Anzahl Tage bis zur Besamung;
— Graviditätslänge;
— Anzahl Implantationen, Gelbkörper, Wurfgröße;
— Anzahl Lebendgeburten und Postimplantationsverluste;
— Anzahl Jungtiere mit makroskopisch erkennbaren Abnormitäten; sofern ermittelt, ist die Anzahl der Kümmerlinge eines Wurfs anzugeben;
— Daten zu physischen Entwicklungsmerkmalen bei Jungtieren und sonstige Daten zur postnatalen Entwicklung; physische Entwicklungsmerkmale, die erhoben wurden, sind zu begründen;
— Daten zu funktionellen Beobachtungen an Jungtieren und Erwachsenen, soweit machbar;
— statistische Bearbeitung der Ergebnisse, soweit angebracht.

Diskussion der Ergebnisse.

Schlussfolgerungen einschließlich NOAEL-Werte für Auswirkungen bei Elterntieren und Nachkommen.

4 **Literaturhinweise**

(1) Sadleir, R.M.F.S. (1979). Cycles and Seasons, In: *Reproduction in Mammals:* I. Germ Cells and Fertilization, C.R. Auston and R.V. Short (eds.), Cambridge, New York.

(2) Gray, L.E. et al., (1989). A Dose-Response Analysis of Methoxychlor-Induced Alterations of Reproductive Development and Function in the Rat. *Fundamental and Applied Toxicology* 12:92-108.

(3) Robb, G.W. et al., (1978). Daily Sperm Production and Epididymal Sperm Reserves of Pubertal and Adult Rats. *Journal of Reproduction and Fertility* 54:103-107.

(4) Klinefelter, G.R. et al., (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. et al. (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. et al., (1992).Methods for Assessing Rat Sperm Motility. *Reproductive Toxicology* 6:267-273

(7) Klinefelter, G.R. et al., (1992). Direct Effects of Ethane Dimethanesulphonate on Epididymal Function in Adult Rats: an *In Vitro* Demonstration. *Journal of Andrology* 13:409-421.

(8) Slott, V.L. et al., (1991). Rat Sperm Motility Analysis: Methodologic Considerations. *Reproductive Toxicology* 5:449-458.

(9) Slott, V.L. and 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. pp. 319-333.

(10) Toth, G.P. et al. (1989). The Automated Analysis of Rat Sperm Motility Following Subchronic Epichlorhydrin Administration: Methodologic and Statistical Considerations. Journal of Andrology 10: 401-415.

(11) Working, P.K. and M. Hurtt, (1987). Computerized Videomicrographic Analysis of Rat Sperm Motility. Journal of Andrology 8:330-337.

(12) Linder, R.E. et al., (1992). Endpoints of Spermatoxicity in the Rat After Short Duration Exposures to Fourteen Reproductive Toxicants. Reproductive Toxicology 6:491-505.

(13) Korenbrot, C.C. et al., (1977). Preputial Separation as an External Sign of Pubertal Development in the Male Rat. Biological Reproduction 17:298303.

(14) Russell, L.D. et al., (1990). Histological and Histopathological Evaluation of the Testis, Cache River Press, Clearwater, Florida.

(15) Heindel, J.J. and R.E. Chapin, (eds.) (1993). Part B. Female Reproductive Systems, Methods in Toxicology, Academic, Orlando, Florida.

(16) Heindel, J.J. et al., (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, pp. 421-426.

(17) Manson, J.M. and Y.J. Kang, (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. et al,. (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,. and 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. and E.D. Clegg, (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, Kimmel, C.A. and J. Buelke-Sam (eds.), Raven Press, New York.

(23) Palmer, A.K. (1978). In Handbook of Teratology, Vol. 4, J.G. Wilson and F.C. Fraser (eds.), Plenum Press, New York.

ANHANG 2H

B.42. SENSIBILISIERUNG DER HAUT: LOKALER LYMPHKNOTEN TEST

1. METHODE

Diese Prüfmethode entspricht der OECD TG 429 (2002).

1.1 EINLEITUNG

Der lokale Lymphknoten test (local lymph node assay = LLNA) ist hinreichend validiert worden und kann daher als eigenständige Methode akzeptiert werden (1)(2)(3). Damit steht eine zweite Methode zur Bewertung des Hautsensibilisierungspotenzials von chemischen Stoffen bei Tieren zur Verfügung. Die andere Prüfmethode (B.6), namentlich der Meerschweinchen-Maximierungstest und der Bühler-Test, stützt sich auf Tests am Meerschweinchen (4).

Mit dem LLNA steht eine alternative Methode, zum Nachweis von Chemikalien mit hautsensibilisierenden Eigenschaften zur Verfügung. Ebenso wird diese Methode auch eingesetzt, um nachzuweisen, dass Chemikalien kein signifikantes Hautsensibilisierungspotenzial besitzen können. Dies bedeutet notwendigerweise nicht, dass der LLNA zwingend in jedem Fall anstelle der Meerschweinchentests eingesetzt werden muß. Vielmehr erweist sich der LLNA als gleichermaßen wertvoller Test und kann als Alternative gewählt werden, bei der im Allgemeinen keine weitere Bestätigung von positiven wie auch negativen Ergebnissen erforderlich ist.

Der LLNA bietet bestimmte Vorteile, was den wissenschaftlichen Fortschritt und Belange des Tierschutzes angeht. Bei dem LLNA wird die Induktionsphase der Hautsensibilisierung untersucht, und der Test liefert quantitative Daten für die Bewertung von Dosis-Wirkungsbeziehungen. Einzelheiten zur Validierung des LLNA und ein Bericht über die Arbeit auf diesem Gebiet sind veröffentlicht worden (5)(6)(7)(8). Zudem ist festzustellen, dass die leichten/mittelgradigen Sensibilisatoren, die als zweckmäßige positive Kontrollsubstanzen für die Tests am Meerschweinchen empfohlen werden, auch für den LLNA geeignet sind (6)(8)(9).

Beim LLNA handelt es sich um eine In-vivo-Methode. Das bedeutet, dass die kontaktsensibilisierenden Eigenschaften weiterhin an Tieren bewertet werden, allerdings kann deren Anzahl meist reduziert werden. Es kommt hinzu, dass der LLNA eine substanzielle Verfeinerung der Prüfung auf Hautsensibilisierung darstellt. Der LLNA beruht auf Überlegungen, dass während der Induktionsphase der Sensibilisierung immunologische Reaktionen durch chemische Stoffe ausgelöst werden. Anders als beim Meerschweinchentest wird beim LLNA keine Provokationsbehandlung durchgeführt. Außerdem wird beim LLNA im Gegensatz zum Meerschweinchen-Maximierungstest auf den Einsatz eines Adjuvans verzichtet. Beim LLNA erleiden die Versuchstiere weniger Qualen. Trotz der Vorteile, die der LLNA gegenüber den herkömmlichen Tests am Meerschweinchen aufweist, sollte nicht verkannt werden, dass er auch mit gewissen Einschränkungen behaftet ist, die die Verwendung eines traditionellen Meerschweinchentests erforderlich machen können (z. B. falsch negative Ergebnisse bei bestimmten Metallen, falsch positive Resultate bei bestimmten hautreizenden Stoffen) (10).

Siehe auch Allgemeine Einleitung – Teil B.

1.2 PRINZIP DER PRÜFMETHODE

Der LLNA beruht auf dem Prinzip, dass sensibilisierende Stoffe eine primäre Lymphozytenproliferation im drainierenden Lymphknoten an der Stelle der Applikation des chemischen Stoffes induzieren. Die Proliferation verläuft proportional zur applizierten Dosis (und zur Wirksamkeit des Allergens) und bietet sich als einfache Möglichkeit an, eine objektive quantitative Messung der Sensibilisierung zu erhalten. Mit Hilfe des LLNA wird die Proliferation als Dosiswirkungs-Beziehung bewertet. Zu diesem Zweck wird die Proliferation in den Testgruppen mit der in den mit Vehikel behandelten Gruppen verglichen. Der als Stimulationsindex bezeichnete Proliferationsquotient zwischen den Testgruppen und den mit Vehikel behandelten Gruppen wird ermittelt und muss mindestens Drei betragen, ehe eine Prüfsubstanz für eine weitere Bewertung als potenzieller Hautsensibilisator infrage kommt. Die hier beschriebenen Methoden beruhen auf der Nutzung der radioaktiven Markierung zur Messung der Zellproliferation. Allerdings kann man sich bei der Bewertung der Proliferation auch auf andere Endpunkte stützen, sofern dies gerechtfertigt und entsprechend wissenschaftlich begründet ist. Dazu gehören auch vollständige Zitate und die Beschreibung der Methodik.

1.3 BESCHREIBUNG DER PRÜFMETHODE

1.3.1 Vorbereitungen

1.3.1.1 *Haltungs- und Fütterungsbedingungen*

Die Tiere sollen einzeln gehalten werden. Die Temperatur im Versuchstierraum soll 22 °C (± 3 °C) betragen. Obwohl die relative Luftfeuchtigkeit mindestens 30% betragen und zu anderen Zeiten als während der Reinigung vorzugsweise nicht über 70% liegen soll, ist ein Wert von 50-60% anzustreben. Der Raum soll künstlich beleuchtet sein, wobei die Beleuchtung im 12-Stunden-Rhythmus ein- und ausgeschaltet werden soll. An die Versuchstiere kann herkömmliches Laborfutter verfüttert werden, wobei eine unbegrenzte Trinkwasserversorgung zu gewährleisten ist.

1.3.1.2 *Vorbereitung der Versuchstiere*

Die Tiere werden nach Zufallskriterien ausgewählt, zwecks Identifizierung markiert (aber nicht am Ohr) und für die Dauer von mindestens 5 Tagen vor Versuchsbeginn in ihren Käfigen gehalten, damit sie sich an die Laborbedingungen gewöhnen können. Vor Behandlungsbeginn werden alle Tiere auf sichtbare Hautverletzungen untersucht.

1.3.2 Versuchsbedingungen

1.3.2.1 *Versuchstiere*

Für diesen Test ist die Maus die Spezies der Wahl, wobei junge erwachsene weibliche Mäuse (CBA/Ca- bzw. CBA/J-Stamm) verwendet werden, die weder geworfen haben noch trächtig sind. Bei Versuchsbeginn sollen die Tiere 8-12 Wochen alt sein, die Gewichtsunterschiede minimal sein und 20 % des mittleren Gewichts nicht übersteigen. Tests an anderen Stämmen und männlichen Tieren können erfolgen, wenn anhand von hinlänglich großen Datenangaben nachgewiesen werden kann, dass keine signifikanten stamm- oder geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Reaktion auf den LLNA bestehen.

1.3.2.2 *Überprüfung der Zuverlässigkeit*

Anhand von positiven Kontrollen wird die ordnungsgemäße Durchführung des Tests und die Fähigkeit des Labors nachgewiesen, den Test erfolgreich durchzuführen. Die positive Kontrolle soll eine positive Reaktion auf den LLNA bei einem Expositionsniveau hervorrufen, das einen Anstieg des Stimulationsindex (SI >3 im Vergleich zur negativen Kontrollgruppe) bewirkt. Die positive Kontrolldosis soll so gewählt werden, dass die Induktion deutlich, aber nicht exzessiv ist. Bevorzugte Stoffe sind Hexylcinnaminaldehyd (CAS-Nr. 101-86-0, EINECS-Nr. 202-983-3) und Mercaptobenzothiazol (CAS-Nr. 149-30-4, EINECS-Nr. 205-736-8). Unter bestimmten Umständen können in ausreichend begründeten Fällen andere Kontrollsubstanzen eingesetzt werden, die den genannten Kriterien entsprechen. Obwohl üblicherweise für jeden Test eine positive Kontrollgruppe erforderlich ist, können die Prüflabors unter Umständen auf bereits vorhandene positive Kontrolldaten zurückgreifen, die belegen, dass eine zufrieden stellende Reaktion über einen Zeitraum von mindestens sechs Monaten durchgängig gegeben ist. In diesen Fällen könnten Tests mit positiven Kontrollen in größeren Abständen ausreichen, wobei zwischen zwei Tests nicht mehr als sechs Monate liegen sollen. Zwar soll die positive Kontrollsubstanz in dem Vehikel geprüft werden, von dem bekannt ist, dass es eine gleich bleibende Reaktion hervorruft (z. B. Aceton/Olivenöl), doch können aufgrund bestimmter zulassungsrechtlicher Anforderungen auch Tests in einem Nichtstandard-Vehikel (klinisch/chemisch relevante Zubereitung) erforderlich sein. In diesen Fällen soll die mögliche Interaktion einer positiven Kontrolle mit diesem unüblichen Vehikel geprüft werden.

1.3.2.3 *Anzahl der Versuchstiere, Dosierungen und Auswahl des Vehikels*

Mindestens vier Tiere pro Dosisgruppe mit jeweils mindestens drei Konzentrationen der Prüfsubstanz werden benötigt; zusätzlich braucht man eine negative Kontrollgruppe, die nur mit dem Vehikel für die Prüfsubstanz behandelt wird, und gegebenenfalls auch eine positive Kontrolle. Sofern Daten auf Einzeltierbasis erhoben werden sollen, werden mindestens fünf Tiere pro Dosierungsgruppe benötigt. Außer der Behandlung mit Prüfsubstanz sollen die Tiere in den Kontrollgruppen genauso behandelt werden wie die Tiere in den Behandlungsgruppen.

Die Auswahl der Dosierung und des Vehikels soll anhand der Empfehlungen im Literaturhinweis (1) erfolgen. Für die Dosierungen werden folgende abgestufte Konzentrationen gewählt: 100%, 50%, 25%, 10%, 5%, 2,5%, 1%, 0,5% usw. Vorhandene Angaben über die akute Toxizität und Hautreizung sollten bei der Festlegung von drei aufeinander folgenden Konzentrationen berücksichtigt werden, so dass bei der höchsten Konzentration einerseits die Exposition maximiert und andererseits eine systemische Toxizität und eine übermäßige lokale Hautreizung vermieden wird (2)(11).

Das Vehikel sollte so gewählt werden, dass die Testkonzentrationen und die Löslichkeit maximiert und gleichzeitig eine für das Applizieren der Prüfsubstanz geeignete Lösung/Suspension hergestellt werden kann. Vorzugsweise werden folgende Vehikel in der genannten Reihenfolge eingesetzt: Aceton/Olivenöl (4:1, v/v), Dimethylformamid, Methylethylketon, Propylenglycol und Dimethylsulfoxid (2)(10), wobei auch andere Vehikel verwendet werden können, sofern dies hinlänglich wissenschaftlich begründet wird. Unter bestimmten Umständen muss möglicherweise ein klinisch relevantes Lösungsmittel oder die handelsübliche Zubereitung, die die Prüfsubstanz enthält, als zusätzliche Kontrolle genutzt werden. Besondere Sorgfalt sollte darauf verwendet werden zu gewährleisten, dass in das Vehikelsystem hydrophile Stoffe eingearbeitet werden, die die Haut befeuchten und nicht sofort ablaufen. Folglich sind vollständig wässrige Vehikel zu vermeiden.

1.3.3 Prüfmethode

1.3.3.1 *Versuchsplan*

Der Versuchsplan ist wie folgt::

- *Tag 1:*
  Jedes Tier wird einzeln gekennzeichnet und gewogen und das Gewicht protokolliert. Es werden 25 µl der Prüfsubstanz in der jeweiligen Verdünnung, des Vehikels alleine bzw. (gegebenenfalls) der positiven Kontrolle offen auf die Rückseite jedes Ohrs appliziert.

- *Tag 2 und 3:*
  Die am Tag 1 durchgeführte Applikationsprozedur wird wiederholt.

- *Tag 4 und 5*:
  Keine Behandlung.

- *Tag 6* :
  Jedes Tier wird gewogen und das Gewicht protokolliert. Es werden 250 µl phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) mit 20 µCi (7,4E + 8Bq) von ^{3}H-Methylthymidin in die Schwanzvenen der Mäuse in den Test- und Kontrollgruppen injiziert, oder es können auch. 250 µL PBS mit 2 µCi (7,4E + 7Bq) von ^{125}I-Ioddeoxyuridin und 10^{-5} M Fluordeoxyuridin injiziert werden.

  Fünf Stunden später werden die Tiere getötet. Die drainierenden aurikulären Lymphknoten werden entfernt und für jede der Versuchsgruppen in PBS gepoolt (Methode der gepoolten Behandlungsgruppe); wahlweise können die Lymphknoten einzelner Tiere paarweise entfernt und für jedes Tier in PBS gepoolt werden (Einzeltiermethode). Weitere Einzelheiten und Diagramme der Lymphknotenidentifizierung und -dissektion sind Anhang 1 zum Literaturhinweis 10 zu entnehmen.

1.3.3.2 *Herstellung der Zellsuspensionen*

Durch vorsichtigen mechanischen Aufschluss in einem Edelstahlfilter (Maschenweite: 200 µm) wird eine einzige Zellsuspension aus den Lymphknotenzellen (LKZ) der gepoolten Behandlungsgruppen bzw. aus den einzelnen Tieren paarweise entnommenen LKZ hergestellt. Die Lymphknotenzellen werden zweimal mit einem Überschuss an PBS gewaschen und bei 4 °C 18 Stunden lang mit 5%iger Trichloressigsäure (TCA) ausgefällt. Die Pellets werden entweder in 1 ml TCA resuspendiert und in Szintillationsfläschchen eingetragen, die 10 ml einer Szintillationsflüssigkeit für die ^{3}H-Zählung enthalten, oder direkt in Gammazähler zur ^{125}I-Bestimmung überführt.

1.3.3.3 *Bestimmung der Zellproliferation (aufgenommenen Radioaktivität)*

Die Aufnahme von ^{3}H-Methylthymidin wird mittels β-Szintillationszählung als Zerfallsereignisse pro Minute (disintegrations per minute = DPM) gemessen. Die Aufnahme von ^{125}I-Ioddeoxyuridin wird mittels ^{125}I-Zählung bestimmt und ebenfalls als DPM angegeben. In Abhängigkeit von der genutzten Methode wird die Aufnahme als DPM pro Behandlungsgruppe (Methode der gepoolten Behandlungsgruppe) oder als DPM pro Tier (Einzeltiermethode) angegeben.

1.3.3.4 *Beobachtungen*

1.3.3.4.1 *Klinische Beobachtungen*

Einmal täglich sollten die Tiere sorgfältig auf klinische Zeichen, d. h. lokale Reizung an der Applikationsstelle oder auf systemische Toxizität, untersucht werden. Sämtliche Beobachtungen werden systematisch in Einzelprotokollen dokumentiert, die für jedes Tier geführt werden.

1.3.3.4.2 *Körpergewicht*

Im Abschnitt 1.3.3.1 wurde bereits ausgeführt, dass das Körpergewicht der einzelnen Tiere zu Versuchsbeginn und zum Zeitpunkt der Tötung der Tiere laut Versuchsplan ermittelt werden soll.

1.3.4 Berechnung der Ergebnisse

Die Ergebnisse werden als Stimulationsindex (SI) angegeben. Bei Einsatz der Methode mit der gepoolten Behandlungsgruppe erhält man den SI, indem die für jede Behandlungsgruppe ermittelte Gesamtaufnahme an Radioaktivität durch die Aufnahme in der gepoolten Vehikel-Kontrollgruppe dividiert wird; dadurch erhält man den mittleren SI. Bei Anwendung der Einzeltiermethode ergibt sich der SI durch Teilen der mittleren DPM pro Tier innerhalb jeder Behandlungsgruppe und der Positivkontrollgruppe durch die mittleren DPM pro Tier für die Vehikelkontrollgruppe. Der durchschnittliche SI beträgt für die mit Vehikel behandelten Kontrollen demnach 1.

Wird zur Berechnung des SI die Einzeltiermethode herangezogen, kann eine statistische Analyse der Daten durchgeführt werden. Bei der Auswahl einer geeigneten Methode für die statistische Analyse sollte sich der Prüfer möglicher ungleicher Varianzen und anderer damit zusammenhängender Probleme stets bewusst sein, denn diese erfordern unter Umständen eine Datentransformation oder ein nichtparametrisches statistisches Verfahren. Ein angemessener Ansatz zur Interpretation der Daten besteht darin, alle Einzeldaten der behandelten und der mit Vehikel behandelten Kontrollen auszuwerten und daraus die am besten angepasste Dosis-Reaktions-Kurve abzuleiten, wobei die Vertrauensgrenzen zu berücksichtigen sind (8)(12)(13). Jedoch sollte der Prüfer auf mögliche „Ausreißer"- Reaktionen bei einzelnen Tieren innerhalb einer Gruppe achten, die unter Umständen die Verwendung eines anderen Gradmessers für die Reaktion (z. B. Median anstelle des Mittelwerts) oder die Eliminierung des „Ausreißers" erforderlich machen.

Der Entscheidungsprozess hinsichtlich einer positiven Reaktion umfasst einen Stimulationsindex von ≥3 sowie die Berücksichtigung der Dosiswirkung und gegebenenfalls auch der statistischen Signifikanz (3)(6)(8)(12)(14).

Sofern Klärungsbedarf in Bezug auf die Ergebnisse besteht, sollten die verschiedenen Eigenschaften der Prüfsubstanz beachtet werden, wobei es unter anderem zu klären gilt, ob ein struktureller Zusammenhang mit bekannten Hautsensibilisatoren besteht, ob sie eine übermäßig starke Hautreizung hervorruft und wie die festgestellte Art der Reaktion bezüglich der Dosis ist. Diese und weitere Aspekte werden an anderer Stelle ausführlich erörtert (7).

2 **DATEN**

Die Daten sollten in tabellarischer Form zusammengefasst werden und sowohl den Mittelwert und die DPM-Einzelwerte als auch die Stimulationsindizes für die einzelnen Dosierungsgruppen (einschließlich der mit Vehikel behandelten Kontrollgruppe) umfassen.

3 BERICHTERSTATTUNG

PRÜFBERICHT

Der Prüfbericht sollte folgende Angaben enthalten:

Prüfsubstanz:

— Angaben zur Identität (z. B. CAS-Nummer, falls vorhanden; Bezugsquelle; Reinheit; bekannte Verunreinigungen; Chargennummer);
— physikalische Beschaffenheit und physikalisch-chemische Eigenschaften (z. B. Flüchtigkeit, Stabilität, Löslichkeit);
— bei Mischungen Zusammensetzung und relative Anteile der Bestandteile in Prozent.

Vehikel:

— Angaben zur Identität [Reinheit; (gegebenenfalls) Konzentration; Einsatzvolumen];
— Begründung der Auswahl des Vehikels.

Versuchstiere:

— verwendeter Mäusestamm;
— mikrobiologischer Status der Tiere, sofern bekannt;
— Anzahl, Alter und Geschlecht der Tiere;
— Herkunft der Tiere, Haltungsbedingungen, Futter usw.

Prüfbedingungen:

— Angaben zur Herstellung und Applikation der Prüfsubstanz;
— Begründung der gewählten Dosierung mit Ergebnissen des eventuell durchgeführten Dosisfindungstests; Konzentrationen des Vehikels und der Prüfsubstanz sowie Gesamtmenge der applizierten Substanz;
— Angaben zur Futter- und Wasserqualität (einschließlich Art/Herkunft des Futters, Herkunft des Wassers).

Zuverlässigkeitsprüfung:

— zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der letzten Zuverlässigkeitsprüfung mit Angaben zu verwendeten Substanzen, Konzentrationen und Vehikel;
— übereinstimmende und/oder frühere positive und negative Kontrolldaten für das Prüflabor.

Ergebnisse:

— Gewicht der einzelnen Tiere bei Beginn der Prüfung und zum Zeitpunkt der Tötung gemäß Versuchsplan;
— tabellarische Darstellung der mittleren (Methode der gepoolten Behandlungsgruppe) oder individuellen (Einzeltiermethode) DPM-Werte sowie die Bandbreite beider Methoden und der Stimulationsindizes für die einzelnen Dosierungsgruppen (einschließlich der mit Vehikel behandelten Kontrollgruppe);
— gegebenenfalls statistische Analyse;
— zeitlicher Verlauf des Einsetzens der Toxizität und Anzeichen der Toxizität, einschließlich einer möglichen Hautreizung an der Applikationsstelle, bei jedem Tier.

Diskussion der Ergebnisse:

— kurze Auswertung der Ergebnisse, der Dosiswirkungdbeziehung und gegebenenfalls statistische Analysen mit Schlussfolgerungen zur Frage, ob die Prüfsubstanz als Hautsensibilisator eingestuft werden soll.

4 **LITERATUR**

1 Kimber, I., und Basketter, D.A. (1992). The murine local lymph node assay; collaborative studies and new directions: A commentary. Food and Chemical Toxicology 30, 165-169.

2 Kimber, I., Derman, R.J., Scholes, E.W., und 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. Journal of Toxicology and Environmental Health, 53, 563-79.

4 Prüfmethode B.6.

5 Chamberlain, M., und Basketter, D.A. (1996). The local lymph node assay: status of validation. Food and Chemical Toxicology, 34, 999-1002.

6 Basketter, D.A., Gerberick, G.F., Kimber, I., und Loveless, S.E (1996). The local lymph node assay- A viable alternative to currently accepted skin sensitisation tests. Food and Chemical Toxicology, 34, 985-997.

7. Basketter, D.A., Gerberick, G.F., und Kimber, I. (1998). Strategies for identifying false positive responses in predictive sensitisation tests. Food and Chemical Toxicology. 36, 327-33.

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: employement 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., und Kimber, I. (1998). Temporal stability of local lymph node assay responses to hexyl cinnamic aldehyde. Journal of Applied Toxicology, 18, 281-4.

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 Prüfmethode B.4.

12 Basketter, D.A., Selbie, E., Scholes, E.W., Lees, D., Kimber, I., und Botham, P.A. (1993). Results with OECD recommended positive control sensitisers in the maximisation, Buehler and local lymph node assays. Food and Chemical Toxicology, 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 EC_3 values from local lymph node assay dose responses. J. Appl. Toxicology, 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., und 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. PRÜFUNG AUF NEUROTOXIZITÄT BEI NAGETIEREN

1. METHODE

Diese Methode entspricht der OECD TG 424 (1997).

Diese Prüfmethode wurde zur Gewinnung von Informationen entwickelt, die benötigt werden, um die potenzielle Neurotoxizität von Chemikalien bei ausgewachsenen Tieren zu bestätigen oder näher zu charakterisieren. Sie kann entweder mit bestehenden Testmethoden für Prüfungen auf Toxizität bei wiederholter Verabreichung kombiniert oder als Einzelstudie durchgeführt werden. Es wird empfohlen, das OECD Guidance Document on Neurotoxicity Testing Strategies and Methods (1) als Hilfe hinzuzuziehen, wenn auf der Basis dieser Prüfmethode Studien entwickelt werden. Dies ist besonders dann wichtig, wenn Änderungen der für die routinemäßige Anwendung dieser Methode empfohlenen Beobachtungen und Testverfahren in Betracht gezogen werden. Das Guidance Document wurde erarbeitet, um die Auswahl abweichender Testverfahren für spezifische Anwendungsbedingungen zu vereinfachen.
Die Beurteilung einer Entwicklungs-Neurotoxizität ist nicht Ziel dieser Methode.

1.1 EINLEITUNG

Bei der Beurteilung und Bewertung der toxischen Eigenschaften von Chemikalien muss das Potenzial für neurotoxische Wirkungen berücksichtigt werden. Die Prüfmethode für systemische Toxizität bei wiederholter Verabreichung umfasst bereits Untersuchungen mit denen auf potenzielle Neurotoxizität getestet wird. Diese Prüfmethode kann zur Entwicklung einer Studie eingesetzt werden, die zu weiteren Informationen über neurotoxische Wirkungen führt, die bei den Studien zur systemischen Toxizität bei wiederholter Verabreichung beobachtet wurden, oder diese Wirkungen bestätigt. Überlegungen zur potenziellen Neurotoxizität bestimmter Chemikalienklassen können jedoch zu der Vermutung führen, dass mit Hilfe dieser Methode eine zweckmäßigere Auswertung möglich ist, auch wenn vorherige Studien zur systemischen Toxizität bei wiederholter Verabreichung nicht auf eine potenzielle Neurotoxizität dieser Chemikalien hingewiesen haben. Anhaltspunkte für Überlegungen dieser Art können beispielsweise sein:

- Beobachtung neurologischer Anzeichen oder neuropathologische Befunde bei anderen Toxizitätsstudien als Studien zur systemischen Toxizität bei wiederholter Verabreichung oder
- strukturelle Verwandtschaft mit bekannten neurotoxischen Substanzen oder sonstige Informationen, durch die sie mit diesen in Verbindung gebracht werden.

Darüber hinaus sind weitere Fälle vorstellbar, in denen die Anwendung dieser Prüfmethode sinnvoll ist (siehe Literaturhinweis (1)).

Bei der Entwicklung dieser Methode wurde darauf geachtet, dass sie an spezielle Anforderungen angepasst werden kann, um die spezifische histopathologische und verhaltensbezogene Neurotoxizität einer Chemikalie zu bestätigen und eine Charakterisierung und Quantifizierung der neurotoxischen Wirkungen zu ermöglichen.

In der Vergangenheit wurde Neurotoxizität mit Neuropathie in Form von neuropathologischen Befunden oder neurologischen Funktionsstörungen wie Krämpfen, Lähmungen oder Tremor gleichgesetzt. Neuropathie ist eine wichtige Ausprägung einer neurotoxischen Wirkung; heute ist jedoch unstrittig, dass noch viele weitere Anzeichen toxischer Wirkungen auf das Nervensystem in Betracht kommen (z. B. Verlust der motorischen Koordination, sensorische Defizite, Funktionsstörungen hinsichtlich Lernfähigkeit und Gedächtnis), die in der Neuropathie oder in anderweitigen Studien eventuell nicht berücksichtigt werden.

Diese Methode zur Prüfung auf Neurotoxizität wurde für die Erkennung deutlicher verhaltensbezogener und neuropathologischer Wirkungen bei ausgewachsenen Nagetieren entwickelt. Verhaltensbezogene Wirkungen können einen schädlichen Einfluss auf den Organismus widerspiegeln, selbst wenn keine morphologischen Veränderungen auftreten, nicht aber alle Verhaltensänderungen sind für das Nervensystem spezifisch. Daher sollen alle beobachteten Änderungen im Zusammenhang mit korrelierenden histopathologischen, hämatologischen oder biochemischen Daten sowie mit Daten zu anderen Arten systemischer Toxizität ausgewertet werden. Die Untersuchungen, die bei dieser Methode erforderlich sind zur Charakterisierung und Quantifizierung der neurotoxischen Wirkungen, beinhalten spezifische histopathologische und verhaltensbezogene Verfahren, die durch elektrophysiologische und/oder biochemische Untersuchungen (1)(2)(3)(4) weiter unterstützt werden können.

Innerhalb des Nervensystems können neurotoxische Stoffe über eine Vielzahl von Mechanismen und auf eine Anzahl verschiedener Zielgewebe wirken. Da keine einzelne Versuchsreihe in der Lage ist, das neurotoxische Potenzial sämtlicher Substanzen umfassend zu testen, kann der Einsatz weiterer *in-vivo-* oder *in-vitro*-Tests erforderlich sein, die für den beobachteten oder erwarteten Typ einer Neurotoxizität spezifisch sind.

Diese Prüfmethode kann auch in Verbindung mit den Hinweisen im OECD Guidance Document on Neurotoxicity Testing Strategies and Methods (1) für die Entwicklung von Studien verwendet werden, welche die Dosis-Wirkungs-Quantifizierung näher charakterisieren oder ihre Empfindlichkeit erhöhen sollen, um eine Dosis ohne beobachtete schädliche Wirkungen (NOAEL) besser abschätzen oder bekannte oder vermutete Gefahren einer Chemikalie bestätigen zu können. Beispielsweise können Studien entwickelt werden, die zur Ermittlung und Beurteilung der neurotoxischen Mechanismen oder zur Ergänzung der aus der Anwendung grundlegender verhaltensbezogener und neuropathologischer Beobachtungsverfahren bereits gewonnenen Daten dienen. Derartige Studien sollen keine Daten replizieren, die bei der Anwendung der in dieser Methode empfohlenen Standardverfahren gewonnen würden, wenn entsprechende Daten bereits vorliegen und nicht als erforderlich für die Interpretation der Ergebnisse der Studie angesehen werden.

Diese Prüfung auf Neurotoxizität führt, sowohl für sich allein als auch in Kombination mit anderen Studien, zu Informationen,

- mit denen beurteilt werden kann, ob das Nervensystem durch die getestete Chemikalie dauerhaft oder reversibel geschädigt wird,
- die dazu beitragen können, die Veränderungen des Nervensystems zu charakterisieren, die mit der Exposition gegenüber der Chemikalie in Verbindung stehen, und die zugrunde liegenden Mechanismen zu verstehen und
- die helfen können, den Zusammenhang zwischen Dosis/Zeit und Dosis/Wirkung zu bestimmen, um eine Dosis ohne beobachtete schädliche Wirkungen (NOAEL) abzuschätzen (die dann für die Festlegung von Sicherheitskriterien für die betreffende Chemikalie genutzt werden kann).

Bei dieser Prüfmethode wird die Testsubstanz oral verabreicht. Andere Verabreichungswege (z.B. dermal oder inhalativ) können besser geeignet sein und eine Modifizierung der empfohlenen Verfahren erforderlich machen. Überlegungen zur Wahl des Verabreichungswegs sind vom menschlichen Expositionsprofil und von den verfügbaren toxikologischen oder kinetischen Informationen abhängig.

1.2 BEGRIFFSBESTIMMUNGEN

Schädliche Wirkung: Jede behandlungsbedingte Abweichung von den Basiswerten, welche die Fähigkeit eines Organismus herabsetzt, zu überleben, sich zu vermehren oder sich an die Umgebung anzupassen.

Dosis: Verabreichte Menge der Testsubstanz; die Dosis wird als Gewicht (g, mg), als Gewicht der Testsubstanz pro Gewichtseinheit des Versuchstiers (z.B. mg/kg) oder als konstante Konzentration in der Nahrung (ppm) angegeben.

Dosierung: Ein genereller Begriff, der sich aus Dosis, Häufigkeit und Dauer der Verabreichung zusammensetzt.

Neurotoxizität: Schädliche Veränderung der Struktur oder Funktion des Nervensystems, die infolge der Exposition gegenüber einem chemischen, biologischen oder physikalischen Agens entsteht.

Neurotoxisches Agens: Jedes chemische, biologische oder physikalische Agens, das neurotoxisch wirken kann.

NOAEL: ist die Abkürzung für „No-Observed-Adverse-Effect Level" (Dosis ohne beobachtete schädigende Wirkung); entspricht der höchsten Dosis, bei der keine behandlungsbedingten schädigenden Wirkungen festgestellt werden.

1.3 PRINZIP DER PRÜFMETHODE

Die Testchemikalie wird bei oralem Applikationsweg in einer Reihe von Dosierungen mehreren Gruppen von Labor-Nagetieren verabreicht. In der Regel ist eine wiederholte Gabe erforderlich, wobei der Dosierungszeitplan 28 Tage, 90 Tage (subchronisch) oder 1 Jahr und mehr (chronisch) abdecken kann. Das für diese Prüfmethode beschriebene Verfahren kann auch für eine Studie zur akuten Neurotoxizität angewandt werden. Durch die Tests an den Versuchstieren soll die Erkennung oder Charakterisierung von verhaltensbezogenen und/oder neurologischen Anomalien ermöglicht werden. In jedem Beobachtungszeitraum wird eine Reihe von Verhaltensmerkmalen beurteilt, die durch ein neurotoxisches Agens beeinträchtigt werden könnten. Am Ende des Versuchs wird aus jeder Gruppe eine Teilmenge von Tieren beiderlei Geschlechts *in situ* mittels Perfusion fixiert, und es werden Gewebechnitte von Gehirn, Rückenmark und peripheren Nerven angefertigt und untersucht.

Wenn die Untersuchung als Einzelstudie durchgeführt wird, um eine Prüfung auf Neurotoxizität durchzuführen oder um neurotoxische Wirkungen zu charakterisieren, können die Tiere in jeder Gruppe, die nicht für eine Perfusionsfixation und anschließende Histopathologie verwendet werden (siehe Tabelle 1), für spezifische verhaltensbezogene, neuropathologische, neurochemische oder elektrophysiologische Verfahren eingesetzt werden, die als Ergänzung zu den Daten dienen können, die bei den für diese Methode erforderlichen Standarduntersuchungen gewonnen wurden (1). Diese ergänzenden Verfahren können dann besonders nützlich sein, wenn empirische Beobachtungen oder erwartete Wirkungen auf einen spezifischen Typ oder ein spezifisches Zielgewebe für die Neurotoxizität einer Chemikalie hindeuten. Alternativ können die verbleibenden Tiere für Auswertungen verwendet werden, wie sie bei Prüfmethoden an Nagetieren zur Prüfung der Toxizität bei wiederholter Verabreichung erforderlich sind.

Wenn die Verfahren dieser Prüfmethode mit denen anderer Prüfungen kombiniert werden, muss die Anzahl der Versuchstiere ausreichend groß sein, um die Anforderungen für die Untersuchungen beider Studien zu erfüllen.

1.4 BESCHREIBUNG DER PRÜFMETHODE

1.4.1 Auswahl der Tierspezies

Die bevorzugte Nagetierspezies ist die Ratte, es können aber bei entsprechender Begründung auch andere Spezies verwendet werden. Es sind junge, gesunde, ausgewachsene Tiere üblicher Laborstämme zu verwenden. Die weiblichen Tiere dürfen weder bereits geworfen haben noch trächtig sein. Die Verabreichung soll normalerweise so bald wie möglich nach der Entwöhnung beginnen, vorzugsweise spätestens im Alter von sechs Wochen, in jedem Fall aber vor dem Alter von neun Wochen. Wenn diese Studie allerdings mit anderen Studien kombiniert wird, müssen diese Altersanforderungen eventuell angepasst werden. Zu Beginn der Studie sollen die Gewichtsunterschiede zwischen den Tieren ± 20 % des geschlechtsspezifischen Durchschnittsgewichts nicht überschreiten. Wenn eine kurzzeitige Studie mit wiederholter Verabreichung als Vorstudie für eine Langzeitstudie durchgeführt wird, sollen bei beiden Studien Tiere des gleichen Stamms und derselben Herkunft verwendet werden.

1.4.2 Haltung und Fütterung

Die Temperatur im Versuchstierraum soll 22 °C (± 3 °C) betragen. Die relative Luftfeuchtigkeit soll mindestens 30 % betragen und außer während der Reinigung vorzugsweise nicht über 70 % liegen; anzustreben ist ein Wert von 50–60 %. Die Beleuchtung soll künstlich sein und die Hell- und Dunkelphasen sollen sich im Abstand von 12 Stunden abwechseln. Kurzzeitige laute Geräusche sollen auf ein Minimum reduziert werden. An die Versuchstiere kann herkömmliches Laborfutter verfüttert werden, wobei eine unbegrenzte Trinkwasserversorgung zu gewährleisten ist. Die Auswahl des Futters wird eventuell dadurch beeinflusst, dass eine geeignete Beimischung der Testsubstanz sichergestellt werden muss, wenn die Testsubstanz auf diese Art verabreicht werden soll. Die Tiere können entweder einzeln oder in kleinen gleichgeschlechtlichen Gruppen in Käfigen untergebracht werden.

1.4.3 Vorbereitung der Versuchstiere

Für die Behandlungs- und Kontrollgruppen werden gesunde Jungtiere nach Zufallskriterien ausgewählt. Die Käfige sollen so angeordnet werden, dass etwaige Einflüsse der Käfigplatzierung minimiert werden. Die Tiere werden eindeutig gekennzeichnet und für eine Dauer von mindestens 5 Tagen vor Versuchsbeginn in ihren Käfigen gehalten, damit sie sich an die Laborbedingungen gewöhnen können.

1.4.4 Verabreichungsweg und Vorbereitung der Testsubstanz

Diese Prüfmethode behandelt ausdrücklich die orale Verabreichung der Testsubstanz. Die orale Verabreichung kann per Sondenfütterung (gavage), im Futter, im Trinkwasser oder in Form von Kapseln erfolgen. Andere Verabreichungswege (z. B. dermal oder inhalativ) können ebenfalls verwendet werden, machen aber eventuell eine Modifizierung der empfohlenen Verfahren erforderlich. Die Wahl des Verabreichungswegs ist vom zu erwartenden menschlichen Expositionsprofil und von den verfügbaren toxikologischen oder kinetischen Informationen abhängig. Die Entscheidung für einen geeigneten Verabreichungsweg sowie entsprechende Änderungen der Verfahrensweisen bei dieser Prüfmethode sind zu begründen.

Im Bedarfsfall kann die Testsubstanz gelöst oder in einem geeigneten Vehikel suspendiert werden. Es wird empfohlen, zunächst die Verwendung einer wässrigen Lösung/Suspension in Betracht zu ziehen, dann eine Lösung/Suspension in Öl (z. B. Maisöl) und erst an dritter Stelle eine Lösung/Suspension in einem anderen Vehikel. Die toxischen Eigenschaften des Vehikels müssen bekannt sein. Darüber hinaus sollen die folgenden Eigenschaften des Vehikels berücksichtigt werden: Wirkungen des Vehikels auf Absorption, Verteilung, Verstoffwechslung oder Retention der Testsubstanz, durch die sich ihre toxischen Eigenschaften ändern können, sowie Wirkungen auf den Futter- oder Trinkwasserverzehr oder den Ernährungszustand der Tiere.

1.5 VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

1.5.1 **Anzahl und Geschlecht der Tiere**

Wenn die Untersuchung als Einzelstudie durchgeführt wird, sind mindestens 20 Tiere (10 weibliche und 10 männliche Tiere) in jeder Dosierungs- und Kontrollgruppe zur Auswertung der detaillierten klinischen und funktionsbezogenen Beobachtungen einzusetzen. Mindestens fünf männliche und fünf weibliche Tiere, die aus diesen zehn männlichen und zehn weiblichen Tieren ausgewählt wurden, sollen am Ende der Studie *in situ* mittels Perfusion fixiert und für eine ausführliche Neurohistopathologie verwendet werden. In Fällen wo nur eine begrenzte Anzahl von Tieren in einer bestimmten Dosierungsgruppe Anzeichen für neurotoxische Wirkungen zeigen, sollte erwogen werden, diese Tiere gleichfalls in die Gruppe der für die Perfusionsfixation ausgewählten Tiere aufzunehmen. Wenn die Studie in Verbindung mit einer Prüfung auf Toxizität bei wiederholter Verabreichung durchgeführt wird, sollte die Anzahl der Versuchstiere groß genug sein, um die Zielvorgaben beider Studien erfüllen zu können. Die Mindestzahl der Tiere pro Gruppe ist in Tabelle 1 für verschiedene Kombinationen von Studien angegeben. Wenn zwischenzeitliche Tötungen oder Erholungsgruppen zur Beobachtung von Reversibilität, Persistenz oder verzögertem Auftreten von toxischen Wirkungen nach der Behandlung vorgesehen sind oder wenn ergänzende Untersuchungen erwogen werden, sollte die Anzahl der Versuchstiere erhöht werden, um zu gewährleisten, dass genügend Tiere zur Beobachtung und für die Histopathologie zur Verfügung stehen.

1.5.2 **Behandlungs- und Kontrollgruppe**

Es sollen mindestens drei Dosierungsgruppen und eine Kontrollgruppe eingesetzt werden; wenn aber angesichts der Beurteilung anderer Daten bei einer wiederholten Dosis von 1.000 mg pro kg Körpergewicht und Tag keine Wirkungen zu erwarten sind, kann ein Limit-Test durchgeführt werden. Wenn keine geeigneten Daten zur Verfügung stehen, kann als Hilfe zur Ermittlung der zu verwendenden Dosierungen eine Dosisfindungsstudie durchgeführt werden. Abgesehen von der Behandlung mit der Testsubstanz sollen die Tiere in der Kontrollgruppe unter identischen Bedingungen behandelt werden wie die Versuchstiere in der Testgruppe. Wenn bei der Verabreichung der Testsubstanz ein Vehikel verwendet wird, sollte die Kontrollgruppe die größte verwendete Volumenmenge des Vehikels erhalten.

1.5.3 **Überprüfung der Zuverlässigkeit**

Das Labor, das die Untersuchung durchführt, soll Daten vorlegen, die seine Befähigung zur Durchführung der Studie sowie die Empfindlichkeit der eingesetzten Verfahren belegen. Diese Daten sollen zeigen, dass Änderungen bei den verschiedenen für die Beobachtung empfohlenen Endpunkten erkannt und quantifiziert werden können, z. B. autonome Anzeichen, sensorisches Reaktionsvermögen, Greifkraft der Extremitäten und motorische Aktivität. Informationen zu Chemikalien, die neurotoxische Reaktionen verschiedener Art auslösen und als positive Kontrollsubstanzen eingesetzt werden können, sind den Quellen 2 bis 9 zu entnehmen. Historische Kontrolldaten können verwendet werden, wenn die wesentlichen Aspekte der Versuchsabläufe gleich bleiben. Eine regelmäßige Aktualisierung der historischen Kontrolldaten wird empfohlen. Wenn ein wesentliches Element der Versuchsdurchführung oder der Verfahrensweisen durch das ausführende Labor verändert wurde, sollen neue Daten erarbeitet werden, welche die unveränderte Empfindlichkeit der Verfahren belegen.

1.5.4 **Wahl der Dosierungen**

Bei der Wahl der Dosierungen sollen zuvor ermittelte toxikologische und kinetische Daten berücksichtigt werden, die für die zu testende Verbindung oder verwandte Materialien zur Verfügung stehen. Die höchste Dosis solle mit dem Ziel gewählt werden, neurotoxische Wirkungen oder deutliche systemische toxische Wirkungen auszulösen. Anschließend soll eine absteigende Folge von Dosierungsstufen ausgewählt werden, um dosisabhängige Wirkungen und dies niedrigste Dosis ohne zu beobachtende schädliche Wirkungen (NOAEL) zu bestimmen. Grundsätzlich sollen die Dosierungen so gewählt werden, dass primäre toxische Wirkungen auf das Nervensystem von Wirkungen in Zusammenhang mit systemischer Toxizität unterschieden werden können. Häufig sind zwei bis drei Intervalle das Optimum, und die Ergänzung durch eine vierte Testgruppe ist häufig der Anwendung sehr langer Intervalle (d.h. größer als Faktor 10) zwischen den Verabreichungen vorzuziehen. Sofern eine realistische Expositionsabschätzung für Menschen vorhanden ist, soll diese ebenfalls berücksichtigt werden.

1.5.5 **Limit-Test**

Wenn bei einer Untersuchung mit einer Dosierung von mindestens 1.000 mg pro kg Körpergewicht und Tag bei Anwendung der beschriebenen Verfahren keine neurotoxischen Wirkungen festzustellen und aufgrund der Daten für strukturverwandte Verbindungen keine toxischen Wirkungen zu erwarten sind, ist eine vollständige Untersuchung mit drei Dosierungen eventuell nicht erforderlich. Je nach der für Menschen zu erwartenden Exposition kann die Verwendung einer höheren oralen Dosierung beim Limit-Test notwendig sein. Bei anderen Verabreichungsformen, z. B. Inhalation oder dermale Applikation, wird der maximal erzielbare Expositionsgrad in vielen Fällen durch die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Testsubstanz bestimmt. Bei der Durchführung einer Studie zur akuten oralen Toxizität soll die Dosis für einen Limit-Test mindestens 2.000 mg/kg betragen.

1.5.6 **Verabreichung der Dosen**

Die Testsubstanz wird den Tieren mindestens 28 Tage lang, sieben Tage pro Woche, täglich verabreicht. Wenn eine Verabreichung an nur fünf Tagen pro Woche oder eine kürzere Expositionsdauer gewählt wird, muss dies begründet werden. Wenn die Testsubstanz per Sondenfütterung verabreicht wird, soll dies in Form einer Einzeldosis über einen Magenschlauch oder eine geeignete Intubationskanüle erfolgen. Welches Flüssigkeitsvolumen jeweils höchstens auf einmal verabreicht werden kann, hängt von der Größe des Versuchstiers ab. Das Volumen soll 1 ml pro 100 g Körpergewicht nicht überschreiten. Bei wässrigen Lösungen kann jedoch auch die Verwendung von bis zu 2 ml pro 100 g Körpergewicht in Betracht gezogen werden. Außer bei reizenden oder ätzenden Stoffen, die bei höheren Konzentration normalerweise heftigere Wirkungen hervorrufen, sollen Veränderungen des Testvolumens durch Anpassung der Konzentration so minimiert werden, dass bei allen Dosierungen ein gleich bleibendes Volumen gewährleistet ist.

Bei Substanzen, die im Futter oder Trinkwasser verabreicht werden, ist es wichtig, sicherzustellen, dass die eingesetzte Menge der Testsubstanz die normale Nahrungsaufnahme oder den Wasserhaushalt nicht beeinträchtigt. Wenn die Testsubstanz im Futter verabreicht wird, kann entweder eine konstante Konzentration im Futter (ppm) oder eine konstante Dosis, bezogen auf das Körpergewicht des Tieres, verwendet werden; die jeweils gewählte Verfahrensweise muss angegeben werden. Bei Verabreichung der Prüfsubstanz durch Sondenfütterung soll die Dosis jeden Tag zu ähnlichen Zeiten gegeben und nach Bedarf angepasst werden, um bezogen auf das Körpergewicht der Tiere eine konstante Dosierung einzuhalten. Wenn eine Prüfung mit wiederholter Verabreichung als Vorbereitung zu einer Langzeituntersuchung durchgeführt wird, soll bei beiden Studien ein ähnliches Futter verwendet werden. Bei Studien zur akuten Toxizität kann die Dosis, sofern die Verabreichung als Einzeldosis nicht möglich ist, über einen Zeitraum von maximal 24 Stunden in kleineren Teilmengen verabreicht werden.

1.6 BEOBACHTUNGEN

1.6.1 **Häufigkeit der Beobachtungen und Untersuchungen**

Bei Prüfungen mit wiederholter Verabreichung soll der Beobachtungszeitraum den gesamten Verabreichungszeitraum abdecken. Bei Studien zur akuten Toxizität soll ein Zeitraum von 14 Tagen nach der Behandlung beobachtet werden. Bei Tieren in Satelittengruppen , die während eines auf die Behandlung folgenden Zeitraums ohne Exposition gehalten werden, sollen die Beobachtungen diesen Zeitraum ebenfalls abdecken.

Die Beobachtungen sollen ausreichend häufig erfolgen, damit verhaltensbezogene und/oder neurologische Anomalien mit möglichst großer Wahrscheinlichkeit erkannt werden. Die Beobachtungen sollen vorzugsweise jeden Tag zur gleichen Uhrzeit erfolgen, wobei die Zeit der nach der Verabreichung erwarteten maximalen Wirkungen zu berücksichtigen ist. Die Häufigkeit der klinischen Beobachtungen und Funktionstests ist in Tabelle 2 zusammengefasst. Wenn kinetische oder andere Daten, die aus einer früheren Studie gewonnen wurden, es notwendig erscheinen lassen, abweichende Beobachtungs- oder Testzeitpunkte oder andere Zeiträume nach der Beobachtung zu verwenden, sollte ein alternativer Zeitplan verwendet werden, um möglichst viele Informationen gewinnen zu können. Änderungen des Zeitplans sollen begründet werden.

1.6.1.1 *Beobachtungen zum allgemeinen Gesundheitszustand und zur Mortalität/Morbidität*

Alle Versuchstiere sollen mindestens einmal täglich gründlich auf ihren Gesundheitszustand sowie mindestens zweimal täglich auf Morbidität und Mortalität untersucht werden.

1.6.1.2 *Detaillierte klinische Beobachtungen*

Detaillierte klinische Beobachtungen sollen an allen für diesen Zweck ausgewählten Tieren durchgeführt werden (siehe Tabelle 1), und zwar einmal vor der ersten Exposition (um Vergleiche zwischen den Versuchstieren zu ermöglichen) sowie anschließend je nach Dauer der Untersuchung in unterschiedlichen Intervallen (siehe Tabelle 2). Am Ende des Erholungszeitraums sollen detaillierte klinische Beobachtungen an den Satellitengruppen vorgenommen werden. Die detaillierten klinischen Beobachtungen sollen außerhalb des Unterbringungskäfigs in einer üblichen Untersuchungsumgebung erfolgen. Diese Beobachtungen sollen anhand von Bewertungssystemen sorgfältig registriert werden, die Kriterien oder Bewertungsskalen für jede bei den Beobachtungen vorgenommene Messung enthalten. Die verwendeten Kriterien oder Skalen sollen vom Versuchslabor explizit festgelegt werden. Es soll versucht werden, dafür zu sorgen, dass Abweichungen der Versuchsbedingungen minimal sind (und nicht systematisch mit der Behandlung in Verbindung stehen) und dass die Beobachtungen von geschulten Beobachtern durchgeführt werden, denen die Behandlung des gegenwärtig beobachteten Tieres nicht bekannt ist.

Es wird empfohlen, die Beobachtungen in einer strukturierten Form durchzuführen, wobei auf jedes Versuchstier zu jedem Beobachtungszeitpunkt genau definierte Kriterien (einschließlich der Definition des „Normalbereichs") auf systematische Weise angewandt werden. Der „Normalbereich" soll auf geeignete Weise dokumentiert werden. Alle beobachteten Anzeichen sollen registriert werden. Wann immer möglich, sollte auch die Größenordnung der beobachteten Anzeichen registriert werden. Die klinischen Beobachtungen sollen mindestens, aber nicht ausschließlich Veränderungen an Haut, Fell, Augen und Schleimhäuten sowie das Auftreten von Sekreten, Ausscheidungen und autonomen Aktivitäten umfassen (z. B. Tränenfluss, Haaraufrichtung, Pupillengröße, ungewöhnliche Atemmuster und/oder Mundatmung, ungewöhnliche Anzeichen von Urin- oder Kotabsonderung sowie Urin mit Farbabweichungen).

Ungewöhnliche Reaktionen hinsichtlich Körperhaltung, Aktivitätsgrad (z. B. verminderte oder verstärkte Erkundung der üblichen Untersuchungsumgebung) sowie Bewegungskoordination sollen ebenfalls vermerkt werden. Veränderungen des Gangs (z. B. watschelnder Gang, Ataxie), der Haltung (z. B. Buckelhaltung) und des Reaktionsverhaltens beim Aufnehmen oder Umsetzen des Versuchstieres oder anderen Umgebungsstimuli sowie Auftreten von klonischen oder tonischen Bewegungen, Krämpfen oder Tremors, Stereotypien (z. B. übermäßige Fellpflege, ungewöhnliche Kopfbewegungen, repetitives Laufen im Kreis) oder auffälliges Verhalten (z. B. Beißen oder übermäßiges Lecken, Selbstverstümmelung, Rückwärtslaufen, Lautäußerungen) oder Aggressionen sollen registriert werden.

1.6.1.3 *Funktionstests*

Ähnlich wie die detaillierten klinischen Beobachtungen sollen auch die Funktionstests bei allen für diesen Zweck ausgewählten Versuchstieren einmal vor der ersten Exposition und mehrmals danach durchgeführt werden (siehe Tabelle 1). Die Häufigkeit der Funktionstests ist ebenfalls von der Dauer der Studie abhängig (siehe Tabelle 2). Zusätzlich zu den in Tabelle 2 genannten Beobachtungszeiträumen sollen auch funktionsbezogene Beobachtungen an weiteren Erholungsgruppen so nahe wie möglich am Zeitpunkt der endgültigen Tötung erfolgen. Funktionstests sollen die sensorische Reaktionsfähigkeit auf Stimuli verschiedener Art (z. B. akustische, visuelle und propriozeptive Stimuli (5)(6)(7)) berücksichtigen und die Beurteilung der Greifkraft der Extremitäten (8) sowie die Beurteilung der motorischen Aktivität (9) beinhalten. Die motorische Aktivität soll mit Hilfe eines automatischen Geräts gemessen werden, mit dem sowohl eine Abnahme als auch eine Zunahme der Aktivität festgestellt werden kann. Wenn ein anderes definiertes System eingesetzt wird, sollte es quantitativ ausgerichtet sein; Empfindlichkeit und Zuverlässigkeit des Systems sollen nachgewiesen werden. Jedes Gerät soll getestet werden, um die Langzeit-Zuverlässigkeit und die Vergleichbarkeit unterschiedlicher Geräte sicherzustellen. Weitere Informationen zu den anwendbaren Verfahren sind den jeweiligen Literaturhinweisen zu entnehmen. Wenn keine Daten (z. B. Strukturaktivität, epidemiologische Daten, weitere toxikologische Studien) vorhanden sind, die auf potenzielle neurotoxische Wirkungen hindeuten, soll die Einbeziehung speziellerer Tests der sensorischen und motorischen Funktionen sowie der Lern- und Gedächtnisfähigkeit in Betracht gezogen werden, um diese möglichen Wirkungen gründlicher zu untersuchen. Weitere Informationen über speziellere Tests und ihre Anwendung sind Literaturhinweis (1) zu entnehmen.

Im Ausnahmefall können Tiere, die Anzeichen für Toxizität in einem Maß aufweisen, was die Funktionstests deutlich beeinträchtigen würde, von dem betreffenden Test ausgeschlossen werden. Wenn einzelne Tiere von einem Funktionstest ausgeschlossen wurden, sollte hierfür eine Begründung angegeben werden.

1.6.2 **Körpergewicht und Futter-/Trinkwasserverbrauch**

Bei Prüfungen mit einer Dauer von bis zu 90 Tagen sollen alle Tiere mindestens einmal wöchentlich gewogen werden, und es sollen mindestens in wöchentlichem Abstand Messungen des Futterverbrauchs (sowie des Wasserverbrauchs, wenn die Testsubstanz auf diesem Wege verabreicht wird) durchgeführt werden. Bei Langzeitstudien sollen alle Tiere während der ersten dreizehn Wochen mindestens einmal wöchentlich sowie anschließend mindestens einmal alle vier Wochen gewogen werden. Messungen des Futterverbrauchs (sowie des Wasserverbrauchs, wenn die Testsubstanz auf diesem Wege verabreicht wird) sollen während der ersten 13 Wochen mindestens einmal sowie anschließend in etwa dreimonatigem Abstand durchgeführt werden, sofern der Gesundheitszustand oder Veränderungen des Körpergewichts nicht ein anderes Vorgehen erforderlich machen.

1.6.3 **Ophthalmologie**

Bei Prüfungen mit einer Dauer von über 28 Tagen soll vor der Verabreichung der Testsubstanz und am Ende der Studie eine ophthalmologische Untersuchung mit einem Ophthalmoskop oder einem vergleichbaren Instrument durchgeführt werden; die Untersuchung soll vorzugsweise bei allen Versuchstieren, zumindest aber bei den Tieren in der Gruppe mit hoher Dosierung und in der Kontrollgruppe vorgenommen werden. Wenn Veränderungen an den Augen festgestellt werden oder wenn klinische Anzeichen dies erforderlich erscheinen lassen, sollen alle Tiere untersucht werden. Bei Langzeitstudien soll außerdem nach 13 Wochen eine ophthalmologische Untersuchung durchgeführt werden. Ophthalmologische Untersuchungen sind nicht erforderlich, wenn diese Daten bereits aus anderen Studien mit ähnlicher Dauer und ähnlichen Dosierungen zur Verfügung stehen.

1.6.4 **Hämatologie und klinische Biochemie**

Wenn die Prüfung auf Neurotoxizität in Verbindung mit einer Studie zur systemischen Toxizität bei wiederholter Verabreichung durchgeführt wird, sollen hämatologische Untersuchungen und klinisch biochemische Untersuchungen durchgeführt werden, wie in der entsprechenden Methode für die Prüfung auf systemische Toxizität beschrieben. Die Werte sollen so erfasst werden, dass potenzielle verhaltensbezogene Wirkungen minimiert werden.

1.6.5 **Histopathologie**

Die neuropathologische Untersuchung soll darauf abzielen, die während der *in-vivo*-Phase der Studie gemachten Beobachtungen zu ergänzen und zu erweitern. Gewebeproben von mindestens fünf Tieren pro Geschlecht und Gruppe (siehe Tabelle 1 und nächsten Abschnitt) sollen mit Hilfe allgemein anerkannter Perfusions- und Fixierungsverfahren *in situ* perfundiert und fixiert werden (siehe Literaturhinweis 3, Kapitel 5, und Literaturhinweis 4, Kapitel 50). Alle erkennbaren makroskopischen Veränderungen sollen registriert werden. Wenn die Studie als Einzeltest auf Neurotoxizität oder zur Charakterisierung von neurotoxischen Wirkungen durchgeführt wird, können die restlichen Tiere entweder für spezifische verhaltensbezogene (10)(11), neuropathologische (10)(11)(12)(13), neurochemische (10)(11)(14)(15) oder elektrophysiologische (10)(11)(16)(17) Untersuchungen verwendet werden, die eine Ergänzung zu den hier beschriebenen Verfahren und Untersuchungen bilden, oder für histopathologische Untersuchungen eingesetzt werden, um die Anzahl der Versuchstiere zu vergrößern. Diese ergänzenden Untersuchung sind dann besonders sinnvoll, wenn empirische Beobachtungen oder erwartete Wirkungen auf einen bestimmten Typ oder ein bestimmtes Zielgewebe für die Neurotoxizität einer Chemikalie hindeuten (2)(3). Alternativ können die verbleibenden Tiere auch für pathologische Routineauswertungen verwendet werden, wie bei der Methode für Studien mit wiederholter Verabreichung beschrieben.

Bei allen in Paraffin eingebetteten Gewebeproben soll ein übliches Färbeverfahren, z.B. Hämatoxylin und Eosin (H&E), angewandt und eine mikroskopische Untersuchung durchgeführt werden. Wenn Anzeichen einer peripheren Neuropathie beobachtet oder vermutet werden, sollen in Kunststoff eingebettete Proben des peripheren Nervengewebes untersucht werden. Klinische Anzeichen können auch auf weitere zu untersuchende Bereiche hinweisen oder die Anwendung von speziellen Färbeverfahren nahe legen. Hinweise zu weiteren zu untersuchenden Bereichen finden sich in (3)(4). Geeignete Spezial-Färbeverfahren zur Sichtbarmachung bestimmter pathologischer Veränderungen können ebenfalls nützlich sein (18).

Repräsentative Gewebeschnitte aus dem zentralen und peripheren Nervensystem sollen histologisch untersucht werden (siehe Literaturhinweis 3, Kapitel 5, und Literaturhinweis 4, Kapitel 50). Dabei sollen normalerweise die folgenden Bereiche untersucht werden: Vorderhirn, Mitte des Großhirns einschließlich eines Anschnitts durch den Hippokampus, Mittelhirn, Kleinhirn, Brücke, verlängertes Mark, Auge mit Sehnerv und Netzhaut, Rückenmark an den zervikalen und lumbalen Verdickungen, dorsale Wurzelganglien, dorsale und ventrale Nervenwurzelfasern, proximaler Ischiasnerv, proximaler Schienbeinnerv (am Knie) und Wadenmuskel-Äste des Schienbeinnervs. Die Gewebeschnitte durch Rückenmark und peripheres Nervengewebe sollen sowohl Quer-- als auch Längsschnitte umfassen. Auf die Gefäßversorgung des Nervensystems soll geachtet werden. Es soll auch eine Probe eines Skelettmuskels, insbesondere eines Wadenmuskels, untersucht werden. Bereiche mit Zell- und Faserstruktur und -muster im ZNS und PNS, bei denen eine besondere Anfälligkeit für neurotoxische Stoffe bekannt ist, sollen besonders beachtet werden.

Anmerkungen zu neuropathologischen Veränderungen, die typischerweise durch Exposition gegenüber neurotoxischen Stoffen entstehen, sind den Quellen (3)(4) zu entnehmen. Es wird eine schrittweise Untersuchung der Gewebeproben empfohlen, wobei zunächst Gewebeschnitte aus der Gruppe mit hoher Dosis mit denen der Kontrollgruppe verglichen werden. Wenn bei den Proben aus diesen Gruppen keine neuropathologischen Veränderungen festgestellt werden, ist eine anschließende Analyse nicht erforderlich. Wenn bei der Gruppe mit hoher Dosis neuropathologische Veränderungen beobachtet werden, soll anschließend eine Probe von jedem der potenziell betroffenen Gewebebereiche aus der Gruppe mit mittlerer und niedriger Dosis codiert und nacheinander untersucht werden.

Wenn sich bei der qualitativen Untersuchung ein Hinweis auf neuropathologische Veränderungen ergibt, sollte in allen Bereichen des Nervensystems, die diese Veränderungen zeigen, eine zweite Untersuchung durchgeführt werden. Gewebeschnitte aus allen Dosierungsgruppen und aus jeder der potenziell betroffenen Regionen sollen codiert und ohne Kenntnis des Codes nach Zufallskriterien untersucht werden. Die Häufigkeit und der Schweregrad jedes Befundes soll registriert werden. Nachdem in allen Dosierungsgruppen sämtliche Regionen bewertet wurden, kann die Codierung aufgehoben und eine statistische Analyse durchgeführt werden, um die Dosis-Wirkungs-Beziehungen auszuwerten. Beispiele für die unterschiedlichen Schweregrade der einzelnen Befunde sollen beschrieben werden.

Die neuropathologischen Ergebnisse sollen in Zusammenhang mit verhaltensbezogenen Beobachtungen und Messungen sowie mit anderen Daten ausgewertet werden, die aus vorausgegangenen und gleichzeitig durchgeführten Studien zur systemischen Toxizität der Testsubstanz stammen.

2 **DATEN**

2.1 BEHANDLUNG DER ERGEBNISSE

Es sollen Einzeldaten zur Verfügung gestellt werden. Darüber hinaus sollen sämtliche Daten in Form einer Tabelle zusammengefasst werden, die für jede Test- oder Kontrollgruppe die folgenden Informationen enthält: die Anzahl der Tiere zu Beginn des Tests, die Anzahl der Tiere, deren Tod während des Tests festgestellt wurde oder die aus Gründen des Tierschutzes getötet wurden, sowie der jeweilige Todes- oder Tötungszeitpunkt, die Anzahl der Tiere mit Anzeichen einer toxischen Wirkung, eine Beschreibung der beobachteten Toxizitätszeichen einschließlich des Zeitpunkts des Einsetzens, der Dauer und des Schweregrads etwaiger toxischer Wirkungen, die Anzahl der Tiere, die pathologische Befunde aufweisen, einschließlich der Art und des Schweregrads.

2.2 AUSWERTUNG UND INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der Studie sollen hinsichtlich Häufigkeit, Schweregrad und Wechselbeziehung der verhaltensbezogenen und neuropathologischen Wirkungen (auch der neurochemischen oder elektrophysiologischen Wirkungen, sofern ergänzende Untersuchungen ebenfalls durchgeführt wurden) sowie im Hinblick auf sonstige beobachtete schädliche Wirkungen ausgewertet werden. Wenn möglich, sollen die nummerischen Ergebnisse mittels einer geeigneten und allgemein anerkannten statistischen Methode ausgewertet werden. Die statistische Methode soll in der Entwurfsphase der Studie ausgewählt werden.

3 **BERICHT**

PRÜFBERICHT

Der Prüfbericht muss folgende Angaben enthalten:

Testsubstanz:

- physikalische Beschaffenheit (einschließlich Isomerie, Reinheit und physikalisch-chemischen Eigenschaften),
- Identifizierungsdaten.

Vehikel (wenn verwendet):

- Begründung für die Wahl des Vehikels.

Versuchstiere:

- verwendete Spezies/Stamm,
- Anzahl, Alter und Geschlecht der Tiere,
- Herkunft/Züchter der Tiere, Haltungsbedingungen, Eingewöhnung, Futter usw.,
- Gewicht der einzelnen Tiere bei Versuchsbeginn.

Testbedingungen:

- Angaben über die Zubereitung der Testsubstanz / Futterzubereitung, erzielte Konzentration, Stabilität und Homogenität der Zubereitung,
- Angabe zu den verabreichten Dosen, einschließlich Angaben über Vehikel, Volumen und physikalische Form des verabreichten Materials,
- Angaben über die Verabreichung der Testsubstanz,
- Begründung für die gewählten Dosierungen,
- Begründung für den gewählten Applikationsweg und die Dauer der Exposition,
- Umrechnung von der Konzentration der Testsubstanz im Futter/Trinkwasser (ppm) auf die tatsächliche Dosis (mg pro kg Körpergewicht und Tag), wenn maßgeblich,
- Angaben über die Futter- und Trinkwasserqualität.

Beobachtungen- und Testverfahren:

- Angaben über die Zuordnung der Tiere in den einzelnen Gruppen zu den Untergruppen für die Perfusionsfixation,
- Angaben über die Bewertungssysteme, einschließlich der Kriterien und Bewertungsskalen für jede Messung im Rahmen der detaillierten klinischen Beobachtungen,
- Angaben zu den Funktionstests für die sensorische Reaktionsfähigkeit auf Stimuli verschiedener Art (z. B. akustisch, visuell und propriozeptiv); für die Beurteilung der Greifkraft der Extremitäten; für die Beurteilung der motorischen Aktivität (einschließlich Angaben über automatische Geräte zur Aktivitätserkennung); sowie Angaben zu anderen eingesetzten Verfahren,
- Angaben zu ophthalmologischen Untersuchungen und gegebenenfalls hämatologischen Untersuchungen und klinischen biochemischen Tests mit den entsprechenden Normalwerten,
- Angaben zu den einzelnen verhaltensbezogenen, neuropathologischen, neurochemischen oder elektrophysiologischen Untersuchungen.

Ergebnisse:

- Körpergewicht / Änderungen des Körpergewichts einschließlich Körpergewicht zum Zeitpunkt der Tötung;
- Futterverbrauch und Trinkwasserverbrauch, wenn maßgeblich,
- Daten zur toxischen Wirkung nach Geschlecht und Dosierung, einschließlich Anzeichen für Toxizität oder Mortalität,
- Art, Schweregrad und Dauer (Zeitpunkt des Einsetzens und weiterer Verlauf) der detaillierten klinischen Beobachtungen (reversibel oder irreversibel),
- detaillierte Beschreibung sämtlicher Ergebnisse der Funktionstests,
- Sektionsbefunde,
- ausführliche Beschreibung sämtlicher verhaltensbezogenen, neuropathologischen und neurochemischen oder neurophysiologischen Ergebnisse, sofern verfügbar,
- Angaben zur Resorption und Metabolismus, sofern verfügbar,
- statistische Auswertung der Ergebnisse, wenn möglich.

Diskussion der Ergebnisse:

- Dosis-Wirkungs-Informationen,
- Zusammenhang zwischen anderen toxischen Wirkungen und einer Schlussfolgerung bezüglich des neurotoxischen Potenzials der Testchemikalie,
- Dosis ohne beobachtete schädigende Wirkungen (NOAEL).

Schlussfolgerungen:

- Eine konkrete Aussage über die Gesamt-Neurotoxizität der Testchemikalie ist wünschenswert.

4 LITERATUR

1. OECD Guidance Document on Neurotoxicity Testing Strategies and Test Methods. OECD, Paris, in Vorbereitung.

2. Test Guideline for a Developmental Neurotoxicity Study, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. In Vorbereitung.

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. and Schaumburg, H.H. (1980). Experimental and Clinical Neurotoxicology. Eds. Spencer, P.S. and Schaumburg, H.H. eds. Williams and Wilkins, Baltimore/ London.

5. Tupper, D.E. and 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. and 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. and 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. and MacPhail, R.C. (1991) Interlaboratory Comparison of Motor Activity Experiments: Implication for Neurotoxicological Assessments. Neurotoxicol. Teratol., 13, 599-609.

10. Tilson, H.A., and Mitchell, C.L. eds. (1992). Neurotoxicology Target Organ Toxicology Series. Raven Press, New York.

11. Chang, L.W., ed. (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. and 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. and 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. and Birkamper, G.G. (1982). Electrophysiological Techniques in Neurotoxicology. In: Nervous System Toxicology. Mitchell, C.L. ed. Raven Press, New York, pp 299-335.

17. Johnson, B.L. (1980). Electrophysiological Methods in neurotoxicity Testing. In: Experimental and Clinical Neurotoxicology. Spencer, P.S. and Schaumburg, H.H. eds., Williams and Wilkins Co.,. Baltimore/London, pp. 726-742.

18. Bancroft, J.D. and Steven A. (1990). Theory and Pratice of Histological Techniques. Chapter 17, Neuropathological Techniques. Lowe, James and Cox, Gordon eds. Churchill Livingstone.

Tabelle 1:

Benötigte Mindestanzahl der Tiere pro Gruppe abhängig davon, ob die Prüfung auf Neurotoxizität als Einzelstudie oder in Verbindung mit anderen Studien durchgeführt wird

	DURCHFÜHRUNG DER PRÜFUNG AUF NEUROTOXIZITÄT ALS:			
	Einzelstudie	**Kombinierte Prüfung in Verbindung mit 28-Tage-Studie**	**Kombinierte Prüfung in Verbindung mit 90-Tage-Studie**	**Kombinierte Prüfung in Verbindung mit Studie zur chronischen Toxizität**
Gesamtzahl der Tiere pro Gruppe	10 männliche und 10 weibliche Tiere	10 männliche und 10 weibliche Tiere	15 männliche und 15 weibliche Tiere	25 männliche und 25 weibliche Tiere
Anzahl der für Funktionstests einschließlich detaillierter klinischer Beobachtungen ausgewählten Tiere	10 männliche und 10 weibliche Tiere	10 männliche und 10 weibliche Tiere	10 männliche und 10 weibliche Tiere	10 männliche und 10 weibliche Tiere
Anzahl der für *In-situ*-Perfusionsfixation und Neuro-histopathologie ausgewählten Tiere	5 männliche und 5 weibliche Tiere	5 männliche und 5 weibliche Tiere	5 männliche und 5 weibliche Tiere	5 männliche und 5 weibliche Tiere
Anzahl der für die Beobachtungen (Toxizität bei wiederholter Verabreichung / subchronische Toxizität / chronische Toxizität, Hämatologie, klinische Biochemie, Histopathologie usw.) ausgewählten Tiere, wie in den entsprechenden *Prüfrichtlinien* (*Guidelines*) angegeben		5 männliche und 5 weibliche Tiere	10 männliche [†] und 10 weibliche Tiere [†]	20 männliche [†] und20 weibliche Tiere [†]
Ergänzende Beobachtungen nach Bedarf	5 männliche und 5 weibliche Tiere			

[†] Einschließlich fünf Tiere, die für Funktionstests und detaillierte klinische Beobachtungen im Rahmen der Neurotoxizitätsstudie ausgewählt werden

Tabelle 2:

Häufigkeit der klinischen Beobachtungen und Funktionstests

Art der Beobachtung		Dauer der Studie			
		Akut	**28 Tage**	**90 Tage**	**Chronisch**
Bei allen Tieren	**Allgemeiner Gesundheitszustand**	täglich	täglich	täglich	täglich
	Mortalität/Morbidität	Zweimal täglich	Zweimal täglich	Zweimal täglich	Zweimal täglich
Bei den für Funktions-beobachtungen ausgewählten Tieren	**Detaillierte klinische Beobachtungen**	– vor der ersten Exposition – binnen 8 Stunden nach Verabreichung zum Zeitpunkt der erwarteten maximalen Wirkung – Am 7. Und 14. Tag nach Verabreichung	– vor der ersten Exposition – anschließend einmal wöchentlich	– vor der ersten Exposition – einmal während der ersten oder zweiten Expositionswoche – anschließend monatlich	– vor der ersten Exposition – einmal am Ende des ersten Expositionsmonats – anschließend alle drei Monate
	Funktionstests	– vor der ersten Exposition – binnen 8 Stunden nach Verabreichung zum Zeitpunkt der erwarteten maximalen Wirkung – Am 7. Und 14. Tag nach Verabreichung	– vor der ersten Exposition - während der vierten Behandlungswoche möglichst nahe am Ende des Expositions-zeitraums	– vor der ersten Exposition – einmal während der ersten oder zweiten Expositionswoche – anschließend monatlich	– vor der ersten Exposition – einmal am Ende des ersten Expositionsmonats – anschließend alle drei Monate

ANHANG 2I

C.21. BODENMIKROORGANISMEN: STICKSTOFFTRANSFORMATIONSSTEST

1. METHODE

Diese Testmethode entspricht der Prüfrichtlinie OECD TG 216 (2000).

1.1 EINLEITUNG

Diese Testmethode beschreibt eine Labormethode zur Untersuchung der Langzeitauswirkungen von Chemikalien auf die Stickstofftransformationsaktivität von Bodenmikroorganismen nach einmaliger Exposition.. Der Test beruht im Wesentlichen auf den Empfehlungen der Pflanzenschutzorganisation für Europa und den Mittelmeerraum (1), doch auch andere Richtlinien wurden berücksichtigt, wie die der deutschen Biologischen Bundesanstalt (2), der US-amerikanischen Environmental Protection Agency (3), SETAC (4) und von der Internationalen Organisation für Normung (5). Auf einem OECD-Workshop zur Boden-/Sedimentauswahl, der 1995 im italienischen Belgirate stattfand (6), wurden die bei diesem Test zu verwendende Anzahl und Art von Böden vereinbart. Die Empfehlungen zur Entnahme, Behandlung und Lagerung von Bodenproben basieren auf einer ISO-Anleitung (7) und auf Empfehlungen des Belgirate-Workshops. Bei der Be- und Auswertung toxischer Eigenschaften von Testsubstanzen kann eine Bestimmung der Auswirkungen auf die mikrobielle Aktivität des Bodens erforderlich sein, z. B. wenn Daten zu möglichen Nebenwirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf die Mikroflora des Bodens benötigt werden oder wenn eine Exposition von Bodenmikroorganismen gegenüber anderen Chemikalien als Pflanzenschutzmitteln erwartet wird. Der Stickstoff transformationstest wird durchgeführt, um den Einfluss derartiger Chemikalien auf die Bodenmikroflora zu ermitteln. Bei der Prüfung von Agrochemikalien (z. B. Pflanzenschutzmittel, Düngemittel, Forstchemikalien), werden sowohl Stickstoff- als auch Kohlenstoff transformationstests durchgeführt. Bei anderen Substanzen als Agrochemikalien genügt der Stickstoff transformationstest. Liegen jedoch die EC_{50}-Werte des Stickstoff transformationstests bei diesen Chemikalien im Bereich, der für käufliche Nitrifikationshemmstoffe (z. B. Nitrapyrin) ermittelt wurde, kann ein Kohlenstofftransformationstest durchgeführt werden, um weitere Informationen zu gewinnen.

Boden besteht sowohl aus lebenden als auch aus nichtlebenden Komponenten, die in komplexen und heterogenen Gemischen vorkommen. Beim Abbau organischen Materials und seiner Transformation in fruchtbaren Böden spielen Mikroorganismen eine wichtige Rolle, wobei viele Arten für unterschiedliche Aspekte der Bodenfruchtbarkeit verantwortlich sind. Jede langfristige Störung dieser biochemischen Prozesse kann sich potenziell auf den Nährstoffkreislauf auswirken und dadurch wiederum die Bodenfruchtbarkeit beeinflussen. Die Transformation von Kohlenstoff und Stickstoff erfolgt in allen fruchtbaren Böden. Die Transformationspfade sind im Wesentlichen gleich, auch wenn je nach Boden unterschiedliche mikrobielle Populationen für diese Prozesse verantwortlich sind.

Mit der hier beschriebenen Testmethode können durch einen Stoff hervorgerufene langfristige nachteilige Auswirkungen auf den Prozess der Stickstoff transformationin aeroben Oberböden bestimmt werden. Darüber hinaus ermöglicht die Testmethode die Abschätzung der Auswirkungen von Substanzen auf die Kohlenstoffumwandlung durch die Bodenmikroflora. Die Nitratbildung findet nach dem Zerfall der Kohlenstoff-Stickstoff-Bindungen statt. Werden also bei behandelten und Kontrollböden gleiche Nitratbildungsraten festgestellt, sind höchstwahrscheinlich die wichtigsten Kohlenstoffabbauwege intakt und funktionstüchtig. Das für den Test gewählte Substrat (pulverisiertes Luzernemehl) besitzt ein günstiges Kohlenstoff-Stickstoff-Verhältnis (in der Regel zwischen 12:1 und 16:1). Deshalb wird der Kohlenstoffmangel während des Tests verringert, und sollten mikrobielle Populationen durch eine Chemikalie geschädigt werden, könnten sie sich innerhalb von 100 Tagen wieder erholen.

Die Tests, auf deren Grundlage diese Testmethode entwickelt wurde, waren in erster Linie für Substanzen ausgelegt, bei denen die in den Boden gelangende Menge vorherbestimmt werden kann. Dies ist z. B. bei Pflanzenschutzmitteln der Fall, bei denen die Applikationsrate auf dem Feld bekannt ist. Bei Agrochemikalien genügt es, zwei Konzentrationen zu testen, die für die erwartete oder vorhergesagte Applikationsmengemenge relevant sind. Agrochemikalien können als Wirkstoffe (a.i.) oder als formulierte Handelsprodukte getestet werden. Der Test ist jedoch nicht auf Agrochemikalien begrenzt. Durch Veränderung sowohl der Mengen der auf den Boden aufgebrachten Testsubstanz als auch der Art und Weise, wie die Daten ausgewertet werden, kann der Test auch für Chemikalien angewendet werden, bei denen nicht bekannt ist, in welcher Menge sie in den Boden gelangen. Somit werden bei anderen Substanzen als Agrochemikalien die Wirkungen einer Reihe von Konzentrationen auf die Stickstoffumwandlung bestimmt. Die Daten dieser Tests werden verwendet, um eine Dosis-Wirkungs-Kurve zu erstellen und EC_x-Werte zu berechnen, wobei x als die Wirkung in % definiert ist.

1.2 DEFINITIONEN

Stickstoff transformation: der Endabbau stickstoffhaltiger organischer Substanz durch Mikroorganismen über die Schritte Ammonifikation und Nitrifikation zum entsprechenden anorganischen Endprodukt Nitrat.

EC_x (Effektkonzentration): diejenige Konzentration der Testsubstanz im Boden, die die Umwandlung von Stickstoff in Nitrat zu x % hemmt.

EC_{50} (Medianwert der Effektkonzentration): diejenige Konzentration der Testsubstanz im Boden, die die Transformation von Stickstoff in Nitrat zu 50 Prozent (50%) hemmt.

1.3 REFERENZSUBSTANZEN

Keine.

1.4 PRINZIP DER TESTMETHODE

Gesiebter Boden wird mit pulverisiertem Pflanzenmehl angereichert und entweder mit der Testsubstanz behandelt oder unbehandelt (Kontrollprobe) belassen. Werden Agrochemikalien geprüft, wird eine Mindestanzahl von zwei Testkonzentrationen empfohlen, die im Verhältnis zur höchsten auf dem Feld erwarteten Konzentration gewählt werden sollten. Nach 0, 7, 14 und 28 Tagen Inkubation werden Proben behandelter und unbehandelter Böden mit einem geeigneten Lösungsmittel extrahiert, und die Nitratmengen in den Extrakten bestimmt. Die Nitratbildungsrate in behandelten Proben wird mit der in den Kontrollproben verglichen, und es wird die prozentuale Abweichung der behandelten Proben von den Kontrollproben berechnet. Alle Versuche laufen über mindestens 28 Tage. Sind die Differenzen zwischen behandelten und unbehandelten Böden am 28 Tag gleich oder größer als 25 %, werden die Messungen bis zur Höchstdauer von 100 Tagen fortgesetzt. Werden andere Substanzen als Agrochemikalien geprüft, wird die Testsubstanz in einer Reihe von Konzentrationen Proben des Bodens zugesetzt, und nach 28 Tagen Inkubation werden die Mengen des gebildeten Nitrats in behandelten Proben und in Kontrollproben gemessen. Die Ergebnisse aus Versuchen mit mehreren unterschiedlichen Konzentrationen werden mit Hilfe eines Regressionsmodells analysiert, und die EC_x-Werte berechnet (d. h. EC_{50}, EC_{25} und/oder EC_{10}). Siehe Definitionen.

1.5 VALIDITÄT DES TESTS

Auswertungen von Testergebnissen mit Agrochemikalien beruhen auf vergleichsweise kleinen Differenzen (d. h. Mittelwert ± 25 %) zwischen Nitratkonzentrationen in Kontrollproben und behandelten Bodenproben, so dass große Schwankungen bei den Kontrollproben zu falschen Ergebnissen führen können. Daher sollte die Schwankungsbreite zwischen Replikatkontrollproben weniger als ± 15 % betragen.

1.6 BESCHREIBUNG DER TESTMETHODE

1.6.1 **Geräte**

Es werden Testgefäße aus chemisch inertem Material verwendet. Ihr Fassungsvermögen sollte sich nach dem gewählten Inkubationsverfahren der Böden richten, d. h. für die Inkubation von Sammelproben oder einer Reihe einzelner Bodenproben (siehe Abschnitt 1.7.1.2). Während des Tests ist darauf zu achten, dass sowohl der Wasserverlust möglichst gering gehalten wird als auch ein Gasaustausch stattfinden kann (so könnten die Testbehälter z. B. mit perforierter Polyethylenfolie abgedeckt werden). Beim Testen flüchtiger Substanzen sind abdichtbare und gasdichte Behälter zu verwenden . Diese sollten in ihrer Größe so bemessen sein, dass sie etwa zu einem Viertel ihres Volumens mit der Bodenprobe gefüllt sind.

Verwendet werden Standardlabor geräte , darunter folgende:

— Schüttelvorrichtung : mechanischer Schüttler oder gleichwertiges Gerät;

— Zentrifuge (3000 g) oder Filtriervorrichtung (mit nitratfreiem Filterpapier);

— Messgerät mit geeigneter Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit für die Nitratanalyse.

1.6.2 **Auswahl und Anzahl der Böden**

Es wird ein einziger Boden verwendet. Empfohlen wird Boden mit folgenden Eigenschaften:

— Sandgehalt: mindestens 50 % und höchstens 75 %;

— pH: 5,5 – 7,5;

— organischer Kohlenstoffgehalt: 0,5 – 1,5 %;

— es ist die mikrobielle Biomasse zu bestimmen(8) (9), und ihr Kohlenstoffgehalt sollte mindestens 1% des gesamten organischen Kohlenstoffs des Bodens betragen.

Meist stellt ein Boden mit diesen Eigenschaften den „worst case" dar, da seine Adsorption minimal und die Verfügbarkeit der Testchemikalie für die Mikroflora maximal ist. Demnach sind in aller Regel keine Tests mit anderen Böden notwendig. Unter bestimmten Umständen jedoch, wenn z. B. der erwartete hauptsächliche Einsatz der Testsubstanz auf bestimmten Böden wie sauren Waldböden stattfindet, oder bei elektrostatisch aufgeladenen Chemikalien kann es erforderlich sein, einen zusätzlichen Boden zu verwenden.

1.6.3 **Entnahme und Lagerung von Bodenproben**

1.6.3.1 *Entnahme*

Es sind ausführliche Informationen über die Vorgeschichte des Feldstandorts erforderlich, von dem der Testboden entnommen wird. Diese Angaben beinhalten unter anderem die genaue Lage, den Bewuchs, die Behandlung mit Pflanzenschutzmitteln sowie mit organischen und anorganischen Düngemitteln, Zugaben biologischen Materials oder unbeabsichtigte Kontaminationen. Der für die Bodenentnahme gewählte Standort muss über einen längeren Zeitraum hinweg nutzbar sein. Geeignet sind Dauerweiden, Felder mit einjährigen Getreidekulturen (ausgenommen Mais) oder dichtgesäten Gründüngungspflanzen. Der gewählte Probenahmestandort sollte mindestens ein Jahr vor der Probenahme nicht mit Pflanzenschutzmitteln behandelt worden sein. Ferner sollten mindestens sechs Monate vorher keine organischen Düngemittel ausgebracht worden sein. Die Verwendung von Mineraldünger ist nur zulässig, wenn dies für die Kultur erforderlich ist, und die Entnahme der Bodenproben sollte frühestens drei Monate nach Ausbringung des Düngemittels erfolgen. Zu vermeiden ist die Verwendung von Boden, der mit Düngemitteln mit bekannter biozider Wirkung (z. B. Kalkstickstoff) behandelt wurde.

Die Probenahme während oder unmittelbar nach längeren (mehr als 30 Tage) Dürre- oder Überschwemmungsperioden sollte vermieden werden. Bei gepflügten Böden sind die Proben aus einer Tiefe von 0 bis 20 cm zu entnehmen. Bei Grünland (Weiden) oder anderen Böden, die über längere Zeiträume (mindestens eine Vegetationsperiode) nicht gepflügt werden, kann die maximale Tiefe der Probenahme geringfügig über 20 cm liegen (z. B. bei bis zu 25 cm).

Die Bodenproben sollten in Behältern und unter Temperaturbedingungen transportiert werden, die sicherstellen, dass die ursprünglichen Bodeneigenschaften nicht wesentlich verändert werden.

1.6.3.2 *Lagerung*

Bevorzugt wird die Verwendung feldfrischer Böden. Lässt sich die Lagerung im Labor nicht vermeiden, sollten die Böden im Dunkeln bei 4 ± 2 °C höchstens drei Monate gelagert werden. Während der Lagerung der Böden müssen aerobe Bedingungen sichergestellt sein. Werden Böden von Flächen entnommen, die über mindestens drei Monate im Jahr gefroren sind, kann eine Lagerung für sechs Monate bei –18 °C bis –22 °C in Betracht gezogen werden. Vor jedem Versuch ist die mikrobielle Biomasse der gelagerten Böden zu bestimmen , und der Kohlenstoffgehalt in der Biomasse sollte mindestens 1 % des gesamten organischen Kohlenstoffs des Bodens betragen (siehe Abschnitt 1.6.2).

1.6.4 **Handhabung und Vorbereitung des Bodens für den Test**

1.6.4.1 *Vorinkubation*

Falls der Boden gelagert wurde (siehe Abschnitt 1.6.3.2), wird eine Vorinkubation über eine Zeitdauer von 2 bis 28 Tagen empfohlen. Die Temperatur und der Feuchtegehalt des Bodens während der Vorinkubation sollten den Testbedingungen möglichst entsprechen (siehe Abschnitte 1.6.4.2 und 1.7.1.3).

1.6.4.2 *Physikalisch-chemische Eigenschaften*

Der Boden wird manuell von großen Gegenständen befreit (z.B. Steine, Pflanzenteile usw.) und im feuchten Zustand ohne übermäßiges Austrocknen auf eine Partikelgröße von kleiner als oder gleich 2 mm gesiebt. Der Feuchtegehalt der Bodenprobe sollte mit destilliertem oder entionisiertem Wasser auf einen Wert zwischen 40% und 60 % der maximalen Wasserhaltekapazität eingestellt werden.

1.6.4.3 *Anreicherung mit organischem Substrat*

Der Boden ist mit einem geeigneten organischen Substrat anzureichern, z. B. pulverisiertem Luzernegrüngrasmehl (Hauptbestandteil: *Medicago sativa)* mit einem C:N-Verhältnis zwischen 12:1 und 16:1. Empfohlen wird ein Luzerne-Boden-Verhältnis von 5 g Luzerne je kg Boden (Trockengewicht).

1.6.5 **Vorbereitung der Testsubstanz zur Applikation auf den Boden**

Üblicherweise wird die Testsubstanz unter Verwendung eines Trägers zugegeben. Bei diesem Träger kann es sich um Wasser (bei wasserlöslichen Substanzen) oder einen inerten Feststoff wie feiner Quarzsand (Partikelgröße: 0,1 – 0,5 mm) handeln. Andere flüssige Träger als Wasser (z. B. organische Lösungsmittel wie Aceton oder Chloroform) sind zu vermeiden, da sie die Mikroflora schädigen können. Wird Sand als Träger benutzt, kann er mit der in einem geeigneten Lösungsmittel aufgelösten oder suspendierten Testsubstanz überzogen werden. In diesen Fällen sollte das Lösungsmittel vor dem Mischen mit dem Boden durch Verdampfen entfernt werden. Zur optimalen Verteilung der Testsubstanz im Boden wird ein Verhältnis von 10 g Sand je kg Boden (Trockengewicht) empfohlen. Die Kontrollproben werden nur mit einer äquivalenten Menge Wasser und/oder Quarzsand behandelt.

Beim Testen flüchtiger Chemikalien sind Verluste während der Behandlung so weit wie möglich zu vermeiden, und es ist nach Möglichkeit für eine homogene Verteilung im Boden zu sorgen (z. B. indem die Testsubstanz an verschiedenen Stellen in den Boden injiziert wird).

1.6.6 **Testkonzentrationen**

Werden Agrochemikalien geprüft, sind mindestens zwei Konzentrationen zu verwenden. Die niedrigere Konzentration sollte mindestens der maximalen Menge entsprechen, die unter praxisüblichen Bedingungen voraussichtlich in den Boden gelangt, während die höhere Konzentration ein Mehrfaches der niedrigeren Konzentration sein sollte. Die Konzentrationen der dem Boden zugegebenen Testsubstanz werden unter der Annahme einer gleichmäßigen Einarbeitung bis zu einer Tiefe von 5 cm und einer Bodenrohdichte von 1,5 berechnet. Bei Agrochemikalien, die direkt auf den Boden ausgebracht werden, oder bei Chemikalien, bei denen sich die den Boden erreichende Menge vorhersag -bar ist, werden als Testkonzentrationen die höchste vorhergesagte Umweltkonzentration (PEC) und das Fünffache dieser Konzentration empfohlen. Substanzen, die voraussichtlich mehrmals in einer Kulturperiode auf den Boden ausgebracht werden, sollten in Konzentrationen getestet werden, die sich durch die Multiplikation der PEC mit der höchsten erwarteten Anzahl der Anwendungen ergeben. Allerdings sollte die obere getestete Konzentration das Zehnfache der höchsten einfachen Applikationsrate nicht übersteigen. Werden andere Substanzen als Agrochemikalien geprüft, wird eine geometrische Reihe von mindestens fünf Konzentrationen verwendet. Die getesteten Konzentrationen sollten den zur Bestimmung der EC_x-Werte notwendigen Bereich abdecken.

1.7 DURCHFÜHRUNG DES TESTS

1.7.1 **Expositionsbedingungen**

1.7.1.1 *Behandlung und Kontrolle*

Werden Agrochemikalien geprüft, wird der Boden in drei Teile gleichen Gewichts aufgeteilt. Zwei Teile werden mit dem produkthaltigen Träger vermischt, und der dritte wird mit dem Träger ohne das Produkt vermischt (Kontrollprobe). Sowohl für die behandelten als auch die unbehandelten Böden wird eine Mindestanzahl von drei Replikaten empfohlen. Werden andere Substanzen als Agrochemikalien geprüft, wird der Boden in sechs Teile gleichen Gewichts aufgeteilt. Fünf dieser Proben werden mit dem die Testsubstanz enthaltenden Träger vermischt, und die sechste wird mit dem Träger ohne die Chemikalie vermischt. Sowohl für die behandelten Proben als auch für die Kontrollproben werden drei Replikate empfohlen. Es ist auf eine homogene Verteilung der Testsubstanz in den behandelten Bodenproben zu achten. Während des Mischens ist eine Verdichtung oder Verklumpung des Bodens zu vermeiden.

1.7.1.2 *Inkubation von Bodenproben*

Die Inkubation der Bodenproben kann auf zwei Wegen durchgeführt werden: als Sammelproben von jedem behandelten und unbehandelten Boden oder als Reihe von einzelnen, gleich großen Teilproben von jedem behandelten und unbehandelten Boden. Bei flüchtigen Substanzen sollte der Test jedoch nur mit einer Reihe einzelner Teilproben durchgeführt werden. Bei der Inkubation von Böden als Sammelproben werden große Mengen von jedem behandelten und unbehandelten Boden vorbereitet und während des Tests je nach Notwendigkeit zu analysierende Teilproben entnommen. Die zu Beginn für jede Behandlung und Kontrolle vorbereitete Menge ist abhängig von der Größe der Teilproben, der Anzahl der zur Analyse verwendeten Replikate und der höchsten erwarteten Anzahl von Probenahmen. Vor der Entnahme von Teilproben sind die inkubierten Sammelproben gründlich zu mischen. Bei der Bodeninkubation als Reihe einzelne Bodenproben wird jeder behandelte und unbehandelte Sammelboden in die benötigte Anzahl von Teilproben aufgeteilt, und diese Teilproben werden je nach Notwendigkeit verwendet. Für Untersuchungen mit mehr als zwei Probenahme zeitpunkten sind genügend Teilproben herzustellen, um alle Replikate und Probenahmezeiten zu berücksichtigen. Mindestens drei Replikatproben des Testbodens sollten unter aeroben Bedingungen inkubiert werden (siehe Abschnitt 1.7.1.1). Bei allen Tests sind geeignete Behälter mit ausreichendem Headspace zu verwenden, um das Entstehen anaerober Bedingungen zu vermeiden. Werden flüchtige Substanzen geprüft, ist der Test nur mit einer Reihe einzelner Teilproben durchzuführen.

1.7.1.3 *Testbedingungen und -dauer*

Der Test wird im Dunkeln bei Raumtemperatur (20 ± 2 °C) durchgeführt. Der Feuchtegehalt der Bodenproben ist im Testverlauf bei 40% - 60 % (± 5%) der maximalen Wasserhaltekapazität des Bodens zu halten (siehe Abschnitt 1.6.4.2). Destilliertes bzw. entionisiertes Wasser kann nach Bedarf zugegeben werden.

Die Mindestdauer der Tests beträgt 28 Tage. Bei Agrochemikalien werden die Nitratbildungsraten in den behandelten Proben mit denen in den Kontrollproben verglichen. Weichen diese am 28.Tag um mehr als 25 % voneinander ab, wird der Test bis zum Erreichen einer Differenz von gleich oder weniger als 25 % bzw. für die Höchstdauer von 100 Tagen fortgesetzt, je nachdem, was kürzer ist. Werden andere Substanzen als Agrochemikalien geprüft, wird der Test nach 28 Tagen beendet. Am 28. Tag werden die Nitratmengen in den behandelten Proben und in den Kontrollproben bestimmt und die EC_x-Werte berechnet.

1.7.2 **Probenahme und Analyse von Böden**

1.7.2.1 *Probenahmeintervalle*

Bei der Prüfung von Agrochemikalien werden Bodenproben am Tag 0, 7, 14 und 28 auf Nitrat analysiert. Ist eine Testverlängerung erforderlich, sind weitere Messungen vom 28. Tag an im Abstand von jeweils 14 Tagen vorzunehmen.

Bei der Prüfung von anderen Substanzen als Agrochemikalien werden mindestens fünf Testkonzentrationen verwendet und Bodenproben am Beginn (Tag 0) und am Ende der Expositionszeit (28 Tage) auf Nitrat analysiert. Gegebenenfalls kann eine Zwischenmessung, z. B. am 7. Tag, eingefügt werden. Die am 28. Tag erhaltenen Daten werden zur Bestimmung des EC_x-Werts der Chemikalie benutzt. Falls gewünscht, können die Daten der Kontrollproben vom Tag 0 im Bericht zur Angabe der Ausgangsmenge von Nitrat im Boden verwendet werden.

1.7.2.2 *Analyse von Bodenproben*

Die Menge des in jeder behandelten Probe und in jedem Kontrollreplikat gebildeten Nitrats wird zu jedem Probenahmezeitpunkt bestimmt. Nitrat wird aus dem Boden durch Schütteln der Proben mit einem geeigneten Extraktionsmittel, z. B. einer 0,1 M Kaliumchloridlösung, extrahiert. Empfohlen wird ein Verhältnis von 5 ml KCl-Lösung je Gramm Trocken gewichtsäquivalent Boden. Um die Extraktion zu optimieren, sind die den Boden und die Extraktionslösung enthaltenden Behälter höchstens zur Hälfte zu füllen. Die Gemische werden bei 150 U/min 60 Minuten geschüttelt. Die Gemische werden zentrifugiert oder filtriert, und die Flüssigphasen werden auf Nitrat analysiert. Partikelfreie Flüssigextrakte können vor der Analyse bis zu sechs Monate bei –20 ± 5 °C aufbewahrt werden.

2 DATEN

2.1 AUFBEREITUNG DER ERGEBNISSE

Werden Agrochemikalien geprüft, ist die in jeder Replikatbodenprobe gebildete Nitratmenge aufzuzeichnen, und die Mittelwerte aller Replikate sind in tabellarischer Form darzustellen. Die Stickstofftransformationsraten sind mittels geeigneter und allgemein anerkannter statistischer Methoden (z. B. F-Test, 5 % Signifikanz niveau) zu berechnen. Die Mengen von gebildetem Nitrat werden in mg Nitrat/kg Trockengewicht Boden/Tag ausgedrückt. Die Nitratbildungsrate jeder Behandlung wird mit der in der Kontrollprobe verglichen, und es wird die prozentuale Abweichung von der Kontrollprobe berechnet.

Werden andere Substanzen als Agrochemikalien geprüft, wird die in jedem Replikat gebildete Nitratmenge bestimmt, und zur Abschätzung der EC_x-Werte eine Dosis-Wirkungs-Kurve erstellt. Die in den behandelten Proben nach 28 Tagen gefundenen Nitratmengen (d. h. mg Nitrat/kg Trockengewicht Boden) werden mit den in der Kontrollprobe gefundenen verglichen. Auf der Basis dieser Daten werden die Inhibitionswerte , ausgedrückt in %, für jede Testkonzentration berechnet. Diese Prozentangaben werden über der Konzentration aufgetragen, und mit Hilfe statistischer Verfahren die EC_x-Werte berechnet. Mittels Standardverfahren werden ferner Vertrauens bereiche ($p = 0,95$) für die errechneten EC_x-Werte ermittelt (10)(11)(12).

Unter Umständen tragen Testsubstanzen, die große Mengen Stickstoff enthalten, zur Bildung von Nitrat während des Tests bei. Werden diese Substanzen in einer hohen Konzentration getestet (z. B. Chemikalien, bei denen von einer wiederholten Anwendung auszugehen ist), sind in den Test entsprechende Kontrollproben aufzunehmen (d. h. Boden plus Testsubstanz, jedoch ohne Pflanzenmehl). Daten aus diesen Kontrollproben sind bei den EC_x-Berechnungen zu berücksichtigen.

2.2 INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Ist bei der Auswertung der Testergebnisse von Agrochemikalien die Differenz der Nitratbildungsraten zwischen der niedrigen Behandlung (d.h. der höchsten erwarteten Konzentration) und den Kontrollproben zu jedem Probenahmezeitpunkt nach dem 28. Tag gleich oder geringer als 25 %, dann ist das Mittel so zu bewerten, dass es keinen langfristigen Einfluss auf die Stickstofftransformation in Böden hat. Für die Auswertung der Testergebnisse von anderen Chemikalien als Agrochemikalien werden die EC_{50}-, EC_{25}- und/oder EC_{10}-Werte herangezogen.

3 **ABSCHLUSSBERICHT**

Der Testbericht muss folgende Informationen enthalten:

Vollständige Angaben zu den verwendeten Böden , darunter:

— geographische Angaben zum Standort (Breitengrad , Längengrad);

— Informationen über die Geschichte des Feldstandorts (d. h. Bewuchs, Behandlungen mit Pflanzenschutzmitteln und Düngemitteln, unbeabsichtigte Kontaminationen usw.);

— Nutzungsstruktur (z. B. landwirtschaftlich genutzter Boden, Forst usw.);

— Probenahmetiefe (cm);

— Sand-/Schluff-/Tongehalt (% Trockengewicht);

— pH (in Wasser);

— organischer Kohlenstoffgehalt (% Trockengewicht);

— Stickstoffgehalt (%Trockengewicht);

— Ausgangswert der Nitratkonzentration (mg Nitrat/kg Trockengewicht);

— Kationenaustauschkapazität (mmol/kg);

— mikrobielle Biomasse als Anteil (in %) am gesamten organischen Kohlenstoff;

— Angaben zu den für die Bestimmung der einzelnen Parameter verwendeten Methoden;

— alle Angaben zur Entnahme und Lagerung der Bodenproben;

— ggf. Einzelheiten zur Vorinkubation des Bodens.

Testsubstanz:

— physikalischer Zustand und falls relevant physikalisch-chemische Eigenschaften;

— chemische Kenndaten, falls relevant mit Strukturformel, Reinheit (d. h. bei Pflanzenschutzmitteln der Wirkstoffanteil in %), Stickstoffgehalt.

Substrat:

— Herkunft des Substrats;

— Zusammensetzung (d. h. Luzernemehl, Luzernegrüngrasmehl);

— Kohlenstoff-, Stickstoffgehalt (% Trockengewicht);

— Siebmaschenweite (mm).

Testbedingungen:

— genaue Angaben zur Anreicherung des Bodens mit organischem Substrat;

— Anzahl der verwendeten Konzentrationen der Testchemikalie und ggf. Begründung für die gewählten Konzentrationen;

— genaue Angaben zur Applikation der Testsubstanz auf den Boden;

— Inkubationstemperatur;

— Feuchtegehalt des Bodens zu Beginn und während des Tests;

— das zur Bodeninkubation verwendete Verfahren (d. h. als Sammelproben oder als Reihe einzelner Teilproben);

— Anzahl der Replikate;

— Anzahl der Probenahmezeitpunkte;

— das zur Nitratextraktion aus dem Boden verwendete Verfahren;

Ergebnisse:

— zur Nitratanalyse verwendete analytische Verfahren und Geräte;

— Daten in tabellarischer Form, einschließlich Einzel- und Mittelwerte der Nitrat bestimmungen;

— Abweichung zwischen den Replikaten behandelter Proben und Kontrollproben;

— Erläuterungen zu den Korrekturen an den Berechnungen, falls relevant;

— die Abweichung (in %) der Nitratbildungsraten zu jedem Probenahmezeitpunkt bzw. ggf. der EC_{50}-Wert mit 95 % Vertrauensgrenze, weitere EC_x (d. h. EC_{25} oder EC_{10}) mit Vertrauensintervallen und eine Graphik der Dosis-Wirkungs-Kurve;

— statistische Aufbereitung der Ergebnisse;

— sämtliche Informationen und Beobachtungen, die für die Interpretation der Testergebnisse hilfreich sind.

4 **LITERATURANGABEN**

(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. Ausgabe, 1990).

(3) EPA (1987). Soil Microbial Community Toxicity Test. EPA 40 CFR Part 797.3700. Toxic Substances Control Act Test Guidelines; Proposed rule. 28. September 1987.

(4) SETAC-Europe (1995). Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides, Ed. M.R. Lynch, Pub. SETAC-Europe, Brüssel.

(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, Italien, 18.-20. Januar 1995.

(7) ISO 10381-6 (1993). Bodenbeschaffenheit - Probenahme - Teil 6: Anleitung zur Probenahme, Behandlung und Lagerung von Boden für die Bestimmung aerober mikrobieller Prozesse unter Laborbedingungen.

(8) ISO 14240-1 (1997). Bodenbeschaffenheit - Bestimmung der mikrobiellen Biomasse von Böden - Teil 1: Substratinduziertes Respirationsverfahren.

(9) ISO 14240-2 (1997). Bodenbeschaffenheit - Bestimmung der mikrobiellen Biomasse von Böden - Teil 2: Fumigations-Extraktionsverfahren.

(10) Litchfield, J.T. und Wilcoxon, F. (1949). A simplified method of evaluating dose-effect experiments. Jour. Pharmacol. and Exper. Ther., 96, 99-113.

(11) Finney, D.J. (1971). Probit Analysis. 3rd ed., Cambridge, London and New-York.

(12) Finney, D.J. (1978). Statistical Methods in biological Assay. Griffin, Weycombe, UK.

C.22. BODENMIKROORGANISMEN: KOHLENSTOFFTRANSFORMATIONSTEST

1. METHODE

Diese Methode entspricht der Prüfrichtlinie OECD TG 217 (2000).

1.1 EINLEITUNG

Diese Testmethode beschreibt eine Labormethodezur Untersuchung der potenziellen Langzeitauswirkungen einer einmaligen Exposition gegenüber Pflanzenschutzmitteln und etwaigen anderen Chemikalien auf die Kohlenstofftransformationsaktivität von Bodenmikroorganismen. Der Test beruht im Wesentlichen auf den Empfehlungen der Pflanzenschutzorganisation für Europa und den Mittelmeerraum (1), doch auch andere Richtlinien wurden berücksichtigt, wie die der deutschen Biologischen Bundesanstalt (2), der US-amerikanischen Environmental Protection Agency (3), und SETAC (4). Auf einem OECD-Workshop zur Boden-/Sedimentauswahl, der 1995 im italienischen Belgirate stattfand (5), wurden die bei diesem Test zu verwendende Anzahl und Art von Böden vereinbart. Die Empfehlungen zur Entnahme, Behandlung und Lagerung von Bodenproben basieren auf einer ISO-Anleitung (6) und auf Empfehlungen des Belgirate-Workshops.

Bei der Be- und Auswertung toxischer Eigenschaften von Testsubstanzen kann eine Bestimmung der Auswirkungen auf die mikrobielle Aktivität des Bodens erforderlich sein , z. B. wenn Daten zu möglichen Nebenwirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf die Mikroflora des Bodens benötigt werden oder wenn eine Exposition von Bodenmikroorganismen gegenüber anderen Chemikalien als Pflanzenschutzmitteln erwartet wird. Der Kohlenstofftransformationstest wird durchgeführt, um den Einfluss derartiger Chemikalien auf die Bodenmikroflora zu ermitteln. Bei der Prüfung von Agrochemikalien (z. B. Pflanzenschutzmittel, Düngemittel, Forstchemikalien) werden sowohl Kohlenstoff- als auch Stickstofftransformationstests durchgeführt. Bei anderen Substanzen als Agrochemikalien genügt der Stickstofftransformationstest. Liegen jedoch die EC_{50}-Werte des Stickstofftransformationstests bei diesen Chemikalien im Bereich, der für käufliche Nitrifikationshemmstoffe (z. B. Nitrapyrin) ermittelt wurde, kann ein Kohlenstofftransformationstest durchgeführt werden, um weitere Informationen zu gewinnen.

Boden besteht sowohl aus lebenden als auch aus nichtlebenden Komponenten, die in komplexen und heterogenen Gemischen vorkommen. Beim Abbau organischen Materials und seiner Transformation in fruchtbaren Böden spielen Mikroorganismen eine wichtige Rolle, wobei viele Arten für unterschiedliche Aspekte der Bodenfruchtbarkeit verantwortlich sind. Jede Langfristige Störung dieser biochemischen Prozesse kann sich potenziell auf den Nährstoffkreislauf auswirken und dadurch wiederum die Bodenfruchtbarkeit beeinflussen. Die Transformation von Kohlenstoff und Stickstoff erfolgt in allen fruchtbaren Böden. Die Transformationspfade sind im Wesentlichen gleich, auch wenn je nach Boden unterschiedliche mikrobielle Populationen für diese Prozesse verantwortlich sind.

Mit der hier beschriebenen Testmethode können durch einen Stoff hervorgerufene langfristige nachteilige Auswirkungen auf den Prozess der Kohlenstofftransformation in aeroben Oberbödenbestimmt werden. Der Test reagiert empfindlich auf Veränderungen in Größe und Aktivität der mikrobiellen Populationen, die für die Kohlenstofftransformation verantwortlich sind, da diese Populationen sowohl eine m chemischen Stress als auch einem Kohlenstoffmangel ausgesetzt werden. Verwendet wird ein an organische m Material armer Sandboden. Dieser Boden wird mit der Testsubstanz behandelt und unter Bedingungen inkubiert, die einen schnellen mikrobiellen Stoffwechsel ermöglichen. Unter diesen Bedingungen werden Quellen von leicht verfügbarem Kohlenstoff im Boden rasch aufgebraucht. Dies verursacht einen Kohlenstoffmangel, der nicht nur mikrobielle Zellen tötet, sondern auch eine Keimruhe und/oder Sporenbildung induziert. Läuft der Test über mehr als 28 Tage, kann die Summe dieser Reaktionen in den Kontrollproben (unbehandelter Boden) als progressiver Verlust an stoffwechselaktiver mikrobieller Biomasse gemessen werden (7). Wird die Biomasse in kohlenstoff - gestresstem Boden unter den Versuchsbedingungen von der Anwesenheit einer Chemikalie beeinflusst, kehrt sie möglicherweise nicht auf das Niveau in den Kontrollproben zurück. Folglich halten zu einem beliebigen Zeitpunkt während des Versuchs durch die Testsubstanz verursachte Störungen häufig bis zum Ende des Tests an.

Die Tests, auf deren Grundlage diese Testmethode entwickelt wurde, waren in erster Linie für Substanzen ausgelegt, bei denen die in den Boden gelangende Menge vorherbestimmt werden kann. Dies ist z. B. bei Pflanzenschutzmitteln der Fall, bei denen die Applikationsmenge auf dem Feld bekannt ist. Bei Agrochemikalien genügt es, zwei Konzentrationen zu testen, die für die erwartete oder vorhergesagte Applikationsmenge relevant sind. Agrochemikalien können als Wirkstoffe (a.i.) oder als formulierte Handelsprodukte getestet werden. Der Test ist jedoch nicht auf Chemikalien mit vorhersagbaren Umweltkonzentrationen begrenzt. Durch Veränderung sowohl der Mengen der auf den Boden ausgebrachten Testsubstanz als auch der Art und Weise, wie die Daten ausgewertet werden, kann der Test auch für Chemikalien angewendet werden, bei denen nicht bekannt ist, in welcher Menge sie in den Boden gelangen. Somit werden bei anderen Substanzen als Agrochemikalien die Wirkungen einer Reihe von Konzentrationen auf die Kohlenstofftransformation bestimmt. Die Daten von diesen Tests werden verwendet, um eine Dosis-Wirkungs-Kurve zu erstellen und EC_x-Werte zu berechnen, wobei x als die Wirkung in % definiert ist.

1.2 DEFINITIONEN

Kohlenstoff transformation: der Abbau organischen Materials durch Mikroorganismen zum anorganischen Endprodukt Kohlendioxid.

EC_x (Effektkonzentration): diejenige Konzentration der Testsubstanz im Boden, die die Transformation von Kohlenstoff in Kohlendioxid zu x % hemmt.

EC_{50} (Medianwert der Effektkonzentration): diejenige Konzentration der Testsubstanz im Boden, die die Transformation von Kohlenstoff in Kohlendioxid zu 50 Prozent hemmt.

1.3 REFERENZSUBSTANZEN

Keine.

1.4 PRINZIP DER TESTMETHODE

Gesiebter Boden wird entweder mit der Testsubstanz behandelt oder unbehandelt (Kontrollprobe) belassen. Werden Agrochemikalien geprüft, wird eine Mindestanzahl von zwei Testkonzentrationen empfohlen, die im Verhältnis zur höchsten auf dem Feld erwarteten Konzentration gewählt werden sollten. Nach 0, 7, 14 und 28 Tagen Inkubation werden Proben behandelter und unbehandelter Böden mit Glucose gemischt, und die glucose-induzierten Respirationsraten werden 12 Stunden hintereinander gemessen. Respirationsraten werden als freigesetztes Kohlendioxid (mg Kohlendioxid/kg Trockenboden/h) oder verbrauchter Sauerstoff (mg Sauerstoff/kg Boden/h) ausgedrückt. Die mittlere Respirationsrate in behandelten Bodenproben wird mit der in der Kontrollprobe verglichen, und es wird die prozentuale Abweichung der behandelten Proben von den Kontrollproben berechnet. Alle Tests laufen mindestens 28 Tage. Sind die Differenzen zwischen behandelten und unbehandelten Böden am 28. Tag gleich oder größer als 25 %, werden die Messungen in Abständen von 14 Tagen für die Höchstdauer von 100 Tagen fortgesetzt. Werden andere Substanzen als Agrochemikalien geprüft, wird die Testsubstanz in einer Reihe von Konzentrationen Bodenproben zugesetzt, und nach 28 Tagen die glucose-induzierten Respirationsraten (d. h. das Mittel der Mengen an gebildetem Kohlendioxid oder verbrauchtem Sauerstoff) gemessen. Die Ergebnisse aus Versuchen mit einer Reihe von Konzentrationen werden mit Hilfe eines Regressionsmodells analysiert, und die EC_x-Werte berechnet (d. h. EC_{50}, EC_{25} und/oder EC_{10}). Siehe Definitionen.

1.5 VALIDITÄT DES TESTS

Auswertungen von Testergebnissen mit Agrochemikalien beruhen auf vergleichsweise kleinen Differenzen (d. h. Mittelwert ± 25 %) zwischen dem freigesetzten Kohlendioxid oder dem verbrauchten Sauerstoff in (bzw. durch) Kontrollproben und behandelte(n) Bodenproben, so dass große Schwankungen bei den Kontrollproben zu falschen Ergebnissen führen können. Daher sollte die Abweichung zwischen Replikatkontrollproben weniger als ± 15 % betragen.

1.6 BESCHREIBUNG DER TESTMETHODE

1.6.1 **Geräte**

Es werden Testgefäße aus chemisch inertem Material verwendet. Ihr Fassungsvermögen sollte sich nach dem gewählten Inkubationsverfahren der Bödenrichten , d. h. für die Inkubation von Sammelproben oder einer Reihe einzelner Bodenproben (siehe Abschnitt 1.7.1.2). Während des Tests ist darauf zu achten, dass sowohl der Wasserverlust möglichst gering gehalten wird als auch ein Gasaustausch stattfinden kann (so könnten die Testbehälter z. B. mit perforierter Polyethylenfolie abgedeckt werden). Beim Testen flüchtiger Substanzen sind abdichtbare und gasdichte Behälter zu verwenden. Diese sollten in ihrer Größe so bemessen sein, dass sie zu etwa einem Viertel ihres Volumens mit der Bodenprobe gefüllt sind.

Zur Bestimmung der glucose-induzierten Respiration werden Inkubationssysteme sowie Geräte für die Messung der Kohlendioxidbildung bzw. des Sauerstoffverbrauchs benötigt. Beispiele für derartige Systeme sind in der Literatur zu finden (8) (9) (10) (11).

1.6.2 **Auswahl und Anzahl der Böden**

Es wird ein einziger Boden verwendet. Empfohlen wird Boden mit folgenden Eigenschaften:

— Sandgehalt: mindestens 50 % und höchstens 75 %;

— pH: 5,5 - 7,5;

— organischer Kohlenstoffgehalt: 0,5 - 1,5 %;

— es ist die mikrobielle Biomasse zu bestimmen(12) (13), und ihr Kohlenstoffgehalt sollte mindestens 1 % des gesamten organischen Kohlenstoffs des Bodens betragen.

Meist stellt ein Boden mit diesen Eigenschaften den „worst case" dar, da seine Adsorption minimal und die Verfügbarkeit der Testchemikalie für die Mikroflora maximal ist. Demnach sind in aller Regel keine Tests mit anderen Böden notwendig. Unter bestimmten Umständen jedoch, wenn z. B. der erwartete hauptsächliche Einsatz der Testsubstanz auf bestimmten Böden wie sauren Waldböden stattfindet, oder bei elektrostatisch aufgeladenen Chemikalien kann es erforderlich sein , einen zusätzlichen Boden zu verwenden.

1.6.3 **Entnahme und Lagerung von Bodenproben**

1.6.3.1 *Entnahme*

Es sind ausführliche Informationen über die Vorgeschichte des Feldstandorts erforderlich, von dem der Testboden entnommen wird. Diese Angaben beinhalten unter anderem die genaue Lage, den Bewuchs, die Behandlung mit Pflanzenschutzmitteln sowie mit organischen und anorganischen Düngemitteln, Zusätze biologischer Materialien oder unbeabsichtigte Kontaminationen. Der für die Bodenentnahme gewählte Standort muss über einen längeren Zeitraum hinweg nutzbar sein. Geeignet sind Dauerweiden, Felder mit einjährigen Getreidekulturen (ausgenommen Mais) oder dichtgesäten Gründüngungspflanzen. Der gewählte Probenahmestandort sollte mindestens ein Jahr vor der Probenahme nicht mit Pflanzenschutzmitteln behandelt worden sein. Ferner sollten mindestens sechs Monate vorher keine organischen Düngemittel ausgebracht worden sein. Die Verwendung von Mineraldünger ist nur zulässig, wenn dies für die Kultur erforderlich ist, und die Entnahme der Bodenproben sollte frühestens drei Monate nach Ausbringung des Düngemittels erfolgen. Zu vermeiden ist die Verwendung von Boden, der mit Düngemitteln mit bekannter biozider Wirkung (z. B. Kalkstickstoff) behandelt wurde.

Die Probenahme während oder nach längeren (mehr als 30 Tage) Dürre- oder Überschwemmungsperioden sollte vermieden werden. Bei gepflügten Böden sind die Proben aus einer Tiefe von 0 bis 20 cm zu entnehmen. Bei Grünland (Weiden) oder anderen Böden, die über längere Zeiträume (mindestens eine Vegetationsperiode) nicht gepflügt werden, kann die maximale Tiefe der Probenahme geringfügig über 20 cm liegen (z. B. bei bis zu 25 cm). Die Bodenproben sollten in Behältern und unter Temperaturbedingungen transportiert werden, die sicherstellen, dass die ursprünglichen Bodeneigenschaften nicht wesentlich verändert werden.

1.6.3.2 *Lagerung*

Bevorzugt wird die Verwendung feldfrischer Böden. Lässt sich die Lagerung im Labor nicht vermeiden, sollten die Böden im Dunkeln bei 4 ± 2 °C höchstens drei Monate gelagert werden. Während der Lagerung der Böden müssen aerobe Bedingungen sichergestellt sein. Werden Böden von Flächen entnommen, die über mindestens drei Monate im Jahr gefroren sind, kann eine Lagerung für sechs Monate bei –18 °C in Betracht gezogen werden. Vor jedem Versuch ist die mikrobielle Biomasse der gelagerten Bödenzu bestimmen , und der Kohlenstoffgehalt in der Biomasse sollte mindestens 1 % des gesamten organischen Kohlenstoffs des Bodens betragen (siehe Abschnitt 1.6.2).

1.6.4 **Handhabung und Vorbereitung des Bodens für den Test**

1.6.4.1 *Vorinkubation*

Falls der Boden gelagert wurde (siehe Abschnitte 1.6.4.2 und 1.7.1.3), wird eine Vorinkubation über eine Zeitdauer von 2 bis 28 Tagen empfohlen. Die Temperatur und der Feuchtegehalt des Bodens während der Vorinkubation sollten den Testbedingungen möglichst entsprechen (siehe Abschnitte 1.6.4.2 und 1.7.1.3).

1.6.4.2 *Physikalisch-chemische Eigenschaften*

Der Boden wird manuell von großen Gegenständen befreit (z.B. Steine, Pflanzenteile usw.) und im feuchten Zustand ohne übermäßiges Austrocknen auf eine Partikelgröße von kleiner als oder gleich 2 mm gesiebt. Der Feuchtegehalt der Bodenprobe sollte mit destilliertem oder entionisiertem Wasser auf einen Wert zwischen 40% und 60 % der maximalen Wasserhaltekapazität eingestellt werden.

1.6.5 **Vorbereitung der Testsubstanz zur Applikation auf den Boden**

Üblicherweise wird die Testsubstanz unter Verwendung eines Trägers zugegeben. Bei diesem Träger kann es sich um Wasser (bei wasserlöslichen Substanzen) oder einen inerten Feststoff wie feinen Quarzsand (Partikelgröße: 0,1 - 0,5 mm) handeln. Andere flüssige Träger als Wasser (z. B. organische Lösungsmittel wie Aceton oder Chloroform) sind zu vermeiden, da sie die Mikroflora schädigen können. Wird Sand als Träger benutzt, kann er mit der in einem geeigneten Lösungsmittel aufgelösten oder suspendierten Testsubstanz überzogen werden. In diesen Fällen sollte das Lösungsmittel vor dem Mischen mit dem Boden durch Verdampfen entfernt werden. Zur optimalen Verteilung der Testsubstanz im Boden wird ein Verhältnis von 10 g Sand je kg Boden (Trockengewicht) empfohlen. Die Kontrollproben werden nur mit einer äquivalenten Menge Wasser und/oder Quarzsand behandelt.

Beim Testen flüchtiger Chemikalien sind Verluste während der Behandlung so weit wie möglich zu vermeiden, und es ist nach Möglichkeit für eine homogene Verteilung im Boden zu sorgen (z. B. indem die Testsubstanz an verschiedenen Stellen in den Boden injiziert wird).

1.6.6 **Testkonzentrationen**

Werden Pflanzenschutzmittel oder andere Chemikalien mit vorhersagbaren Umweltkonzentrationen geprüft, sind mindestens zwei Konzentrationen zu verwenden. Die niedrigere Konzentration sollte mindestens der maximalen Mengeentsprechen, die unter praxisüblichen Bedingungen voraussichtlich in den Boden gelangt, während die höhere Konzentration ein Mehrfaches der niedrigeren Konzentration sein sollte. Die Konzentrationen der dem Boden zugegebenen Testsubstanz werden unter der Annahme einer gleichmäßigen Einarbeitung bis zu einer Tiefe von 5 cm und einer Bodenrohdichte von 1,5 berechnet. Bei Agrochemikalien, die direkt auf den Boden ausgebracht werden, oder bei Chemikalien, bei denen die den Boden erreichende Menge vorhersag bar ist, werden als Testkonzentrationen die höchste vorhergesagte Umweltkonzentration (PEC) und das Fünffache dieser Konzentration empfohlen. Substanzen, die voraussichtlich mehrmals in einer Kulturperiode auf den Boden ausgebracht werden, sollten in Konzentrationen getestet werden, die sich durch die Multiplikation der PEC mit der höchsten erwarteten Anzahl der Anwendungen ergeben. Allerdings sollte die obere getestete Konzentration das Zehnfache der höchsten einfachen Applikationsrate nicht übersteigen.

Werden andere Substanzen als Agrochemikalien geprüft, wird eine geometrische Reihe von mindestens fünf Konzentrationenverwendet. Die getesteten Konzentrationen sollten den zur Bestimmung der EC_x-Werte notwendigen Bereich abdecken.

1.7 DURCHFÜHRUNG DES TESTS

1.7.1 **Expositionsbedingungen**

1.7.1.1 *Behandlung und Kontrolle*

Werden Agrochemikalien geprüft, wird der Boden in drei Teile gleichen Gewichts aufgeteilt. Zwei Teile werden mit dem produkthaltigen Träger gemischt, und der dritte wird mit dem Träger ohne das Produkt vermischt (Kontrollprobe). Sowohl für die behandelten als auch die unbehandelten Böden wird eine Mindestanzahl von drei Replikaten empfohlen. Werden andere Substanzen als Agrochemikalien geprüft, wird der Boden in sechs Teile gleichen Gewichts aufgeteilt. Fünf dieser Proben werden mit dem die Testsubstanz enthaltenden Träger vermischt, und die sechste wird mit dem Träger ohne die Chemikalie vermischt. Sowohl für die behandelten Proben als auch für die Kontrollproben werden drei Replikate empfohlen. Es ist auf eine homogene Verteilung der Testsubstanz in den behandelten Bodenproben zu achten. Während des Mischens ist eine Verdichtung oder Verklumpung des Bodens zu vermeiden.

1.7.1.2 *Inkubation von Bodenproben*

Die Inkubation der Bodenproben kann auf zwei Wegen durchgeführt werden: als Sammelproben von jedem behandelten und unbehandelten Boden oder als Reihe von einzelnen, gleich großen Teilproben von jedem behandelten und unbehandelten Boden. Bei flüchtigen Substanzen sollte der Test jedoch nur mit einer Reihe einzelner Teilproben durchgeführt werden. Bei der Inkubation von Böden als Sammelproben werden große Mengen von jedem behandelten und unbehandelten Boden vorbereitet und während des Tests je nach Notwendigkeit zu analysierende Teilproben entnommen. Die zu Beginn für jede Behandlung und Kontrolle vorbereitete Menge ist abhängig von der Größe der Teilproben, der Anzahl der zur Analyse verwendeten Replikate und der höchsten erwarteten Anzahl von Probenahmen. Vor der Entnahme von Teilproben sind die inkubierten Sammelproben gründlich zu mischen. Bei der Bodeninkubation als Reihe einzelner Bodenproben wird jeder behandelte und unbehandelte Sammelboden in die benötigte Anzahl von Teilproben aufgeteilt, und diese Teilproben werden je nach Notwendigkeit verwendet. Für Untersuchungen mit mehr als zwei Probenahmezeitpunkten sind genügend Teilproben herzustellen, um alle Replikate und Probenahmezeiten zu berücksichtigen. Mindestens drei Replikatproben des Testbodens sollten unter aeroben Bedingungen inkubiert werden (siehe Abschnitt 1.7.1.1). Bei allen Tests sind geeignete Behälter mit ausreichendem Headspace zu verwenden, um das Entstehen anaerober Bedingungen zu vermeiden. Werden flüchtige Substanzen geprüft, ist der Test nur mit einer Reihe einzelner Teilproben durchzuführen.

1.7.1.3 *Testbedingungen und -dauer*

Der Test wird im Dunkeln bei Raumtemperatur (20 ± 2 °C) durchgeführt. Der Feuchtegehalt der Bodenproben ist im Testverlauf bei 40% - 60 % (± 5%) der maximalen Wasserhaltekapazität des Bodens zu halten (siehe Abschnitt 1.6.4.2). Destilliertes bzw. entionisiertes Wasser kann nach Bedarf zugegeben werden.

Die Mindestdauer der Tests beträgt 28 Tage. Bei Agrochemikalien werden die Mengen an freigesetztem Kohlenstoff bzw. verbrauchtem Sauerstoff in den behandelten Proben mit denen in den Kontrollproben verglichen. Weichen diese am 28. Tag um mehr als 25 % voneinander ab, wird der Test bis zum Erreichen einer Differenz von gleich oder weniger als 25 % bzw. für die Höchstdauer von 100 Tagen fortgesetzt, je nachdem, was kürzer ist. Werden andere Substanzen als Agrochemikalien geprüft, wird der Test nach 28 Tagen beendet. Am 28. Tag werden die Mengen an freigesetztem Kohlendioxid bzw. verbrauchtem Sauerstoff in den behandelten Proben und in den Kontrollproben bestimmt und die EC_x-Werte berechnet.

1.7.2 **Probenahme und Analyse von Böden**

1.7.2.1 *Probenahmeintervalle*

Bei der Prüfung von Agrochemikalien werden Bodenproben am Tag 0, 7, 14 und 28 auf glucose-induzierte Respirationsraten analysiert. Ist eine Testverlängerung erforderlich, sind weitere Messungen vom 28. Tag an im Abstand von jeweils 14 Tagen vorzunehmen.

Bei der Prüfung von anderen Substanzen als Agrochemikalien werden mindestens fünf Testkonzentrationen verwendet und Bodenproben am Beginn (Tag 0) und am Ende der Expositionszeit (28 Tage) auf die glucose-induzierte Respiration analysiert. Gegebenenfalls kann eine Zwischenmessung, z. B. am 7. Tag , eingefügt werden. Die am 28. Tag erhaltenen Daten werden zur Bestimmung des EC_x-Werts der Chemikalie benutzt. Falls gewünscht, können die Daten der Kontrollproben vom Tag 0 zur Abschätzung der Ausgangsmengen der stoffwechselaktiven mikrobiellen Biomasse im Boden herangezogen werden (12).

1.7.2.2 *Messung von glucose-induzierten Respirationsraten*

Die glucose-induzierte Respirationsrate in jeder behandelten Probe und in jedem Kontrollreplikat wird zu jedem Probenahmezeitpunkt bestimmt. Die Bodenproben werden mit einer Menge Glucose vermischt, die groß genug ist, um unverzüglich einen maximalen Atmungswert zu erreichen. Die zum Erreichen eines maximalen Atmungswertes in einem bestimmten Boden notwendige Glucosemenge kann in einem Vorversuch mit einer Reihe von Glucosekonzentrationen bestimmt werden (14). Bei sandigen Böden mit einem organischen Kohlenstoffgehalt von 0,5 - 1,5 % sind jedoch üblicherweise 2000 mg bis 4000 mg Glucose je kg Boden (Trockengewicht) ausreichend. Die Glucose kann mit sauberem Quarzsand pulverisiert werden (10 g Sand/kg Trockengewicht Boden) und mit dem Boden homogen vermischt werden.

Die mit Glucose angereicherten Bodenproben werden in einem geeigneten Gerät inkubiert, mit dem die Respirationsraten bei 20 ± 2 °C entweder laufend, stündlich oder in 2-Stunden-Intervallen gemessen werden können (siehe Abschnitt 1.6.1). Das freigesetzte Kohlendioxid bzw. der verbrauchte Sauerstoff werden 12 Stunden lang gemessen, und die Messungen sollten so früh wie möglich beginnen, d. h. innerhalb von ein bis zwei Stunden nach der Glucosezugabe. Die Gesamtmengen des in den 12 Stunden freigesetzten Kohlendioxids bzw. verbrauchten Sauerstoffs werden gemessen und die mittleren Respirationsraten bestimmt.

2 DATEN

2.1 AUFBEREITUNG DER ERGEBNISSE

Werden Agrochemikalien geprüft, ist für jedes Replikat die Menge des jeweils freigesetzten Kohlendioxids bzw. verbrauchten Sauerstoffs aufzuzeichnen, und die Mittelwerte aller Replikate sind in tabellarischer Form darzustellen. Die Ergebnisse sind mittels geeigneter und allgemein anerkannter statistischer Methoden (z. B. F-Test, 5 % Signifikanzniveau) zu bewerten. Die glucose-induzierten Respirationsraten werden in mg Kohlendioxid/kg Trockengewicht Boden/h bzw. mg Sauerstoff/Trockengewicht Boden/h ausgedrückt. Die mittlere Kohlendioxidbildungsrate bzw. die mittlere Sauerstoffverbrauchsrate jeder Behandlung wird mit der in der Kontrollprobe verglichen, und es wird die prozentuale Abweichung von der Kontrollprobe berechnet.

Werden andere Substanzen als Agrochemikalien geprüft, wird die Menge an freigesetztem Kohlendioxid bzw. an verbrauchtem Sauerstoff für jedes Replikat bestimmt, und zur Abschätzung der EC_x-Werte eine Dosis-Wirkungs-Kurve erstellt. Die in den behandelten Proben nach 28 Tagen gefundenen glucose-induzierten Respirationsraten (d. h. mg Kohlendioxid/kg Trockengewicht Boden/h bzw. mg Sauerstoff/Trockengewicht Boden/h) werden mit den in der Kontrollprobe gefundenen verglichen. Auf der Basis dieser Daten werden die Inhibitionswerte , ausgedrückt in %, für jede Testkonzentration berechnet. Diese Prozentangaben werden über der Konzentration aufgetragen, und dann werden mit Hilfe statistischer Verfahren die EC_x-Werte berechnet. Mittels Standardverfahren werden ferner Vertrauensbereiche ($p = 0,95$) für die errechneten EC_x-Werte ermittelt (15)(16)(17).

2.2 INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Ist bei der Auswertung der Testergebnisse von Agrochemikalien die Differenz der Respirationsraten zwischen der niedrigen Behandlung (d. h. der höchsten erwarteten Konzentration) und den Kontrollproben zu jedem Probenahmezeitpunkt nach dem 28. Tag gleich oder geringer als 25 %, dann ist das Produkt so zu bewerten, dass es keinen langfristigen Einfluss auf die Kohlenstofftransformation in Böden hat. Für die Auswertung der Testergebnisse von anderen Chemikalien als Agrochemikalien werden die EC_{50}-, EC_{25}- und/oder EC_{10}-Werte herangezogen.

3 **ABSCHLUSSBERICHT**

TESTBERICHT

Der Testbericht muss folgende Informationen enthalten:

Vollständige Angaben zu den verwendetenBöden , darunter:

— geographische Angaben zum Standort (Breitengrad, Längengrad);

— Informationen über die Vorgeschichte des Feldstandorts (d. h. Bewuchs, Behandlungen mit Pflanzenschutzmitteln und Düngemitteln, unbeabsichtigte Kontaminationen usw.)

— Nutzungsstruktur (z. B. landwirtschaftlich genutzter Boden, Forst usw.);

— Probenahmetiefe (cm);

— Sand-/Schluff-/Tongehalt (% Trockengewicht);

— pH (in Wasser);

— organischer Kohlenstoffgehalt (% Trockengewicht);

— Stickstoffgehalt (%Trockengewicht);

— Kationenaustauschkapazität (mmol/kg);

— Ausgangswert der mikrobiellen Biomasse als Anteil (in %) am gesamten organischen Kohlenstoff;

— Angaben zu den für die Bestimmung der einzelnen Parameter verwendeten Methoden;

— alle Angaben zur Entnahme und Lagerung der Bodenproben;

— ggf. Einzelheiten zur Vorinkubation des Bodens.

Testsubstanz:

— physikalischer Zustand und falls relevant physikalisch-chemische Eigenschaften;

— chemische Kenndaten, falls relevant mit Strukturformel, Reinheit (d. h. bei Pflanzenschutzmitteln der Wirkstoffanteil in %), Stickstoffgehalt.

Testbedingungen:

— genaue Angaben zur Anreicherung des Bodens mit organischem Substrat;

— Anzahl der verwendeten Konzentrationen der Testchemikalie und ggf. Begründung für die gewählten Konzentrationen;

— genaue Angaben zur Applikation der Testsubstanz auf den Boden;

— Inkubationstemperatur;

— Feuchtegehalt des Bodens zu Beginn und während des Tests;

— das zur Bodeninkubation verwendete Verfahren (d. h. als Sammelproben oder als Reihe einzelner Teilproben);

— Anzahl der Replikate;

— Anzahl der Probenahmezeitpunkte.

Ergebnisse:

— zur Messung der Respirationsraten verwendete Verfahren und Geräte;

— Daten in tabellarischer Form, einschließlich Einzel- und Mittelwerte der Kohlendioxid- bzw. Sauerstoffmengen;

— Abweichung zwischen den Replikaten behandelter Proben und Kontrollproben;

— Erläuterungen zu den Korrekturen an den Berechnungen, falls relevant;

— die Abweichung (in %) der glucose-induzierten Respirationsraten zu jedem Probenahmezeitpunkt bzw. ggf. der EC_{50}-Wert mit 95 % Vertrauens bereich, weitere EC_x (d. h. EC_{25} oder EC_{10}) mit Vertrauensbereichen und eine graphische Darstellung der Dosis-Wirkungs-Kurve;

— ggf. statistische Aufbereitung der Ergebnisse;

— sämtliche Informationen und Beobachtungen, die für die Interpretation der Testergebnisse hilfreich sind.

4 **LITERATURANGABEN**

(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. Ausgabe, 1990).

(3) EPA (1987). Soil Microbial Community Toxicity Test. EPA 40 CFR Part 797.3700. Toxic Substances Control Act Test Guidelines; Proposed rule. 28. September 1987.

(4) SETAC-Europe (1995). Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides, Ed. M.R. Lynch, Pub. SETAC-Europe, Brüssel.

(5) OECD (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/Sediments, Belgirate, Italien, 18.-20. Januar 1995.

(6) ISO 10381-6 (1993). Bodenbeschaffenheit - Probenahme - Teil 6: Anleitung zur Probenahme, Behandlung und Lagerung von Boden für die Bestimmung aerober mikrobieller Prozesse unter Laborbedingungen.

(7) Anderson, J.P.E. (1987). Handling and Storage of Soils for Pesticide Experiments, in „Pesticide Effects on Soil Microflora". Eds. L. Somerville and 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 and 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). Bodenbeschaffenheit - Laboratoriumsinkubationssysteme zur Messung der Mineralisierung von organischen Chemikalien im Boden bei aeroben Bedingungen.

(11) Heinemeyer, O., Insam, H., Kaiser, E.A. und 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). Bodenbeschaffenheit - Bestimmung der mikrobiellen Biomasse von Böden – Teil 1: Substratinduziertes Respirationsverfahren.

(13) ISO 14240-2 (1997). Bodenbeschaffenheit - Bestimmung der mikrobiellen Biomasse von Böden – Teil 2: Fumigations-Extraktionsverfahren.

(14) Malkomes, H.-P. (1986). Einfluss von Glukosemenge auf die Reaktion der Kurzzeit-Atmung im Boden gegenüber Pflanzenschutzmitteln, dargestellt am Beispiel eines Herbizids. (Influence of the Amount of Glucose Added to the Soil on the Effect of Pesticides in Short-Term Respiration, using a Herbicide as an Example). Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd., Braunschweig, 38: 113-120.

(15) Litchfield, J.T. und Wilcoxon, F. (1949). A simplified method of evaluating dose-effect experiments. Jour. Pharmacol. and Exper. Ther., 96, 99-113.

(16) Finney, D.J. (1971). Probit Analysis. 3rd ed., Cambridge, London and New-York.

(17) Finney D.J. (1978). Statistical Methods in biological Assay. Griffin, Weycombe, UK.

C.23. AEROBE UND ANAEROBE TRANSFORMATION IM BODEN

1. METHODE

Diese Testmethode entsprichtder Prüfrichtlinie OECD TG 307 (2002)

1.1 EINLEITUNG

Die Testmethode basiert auf bestehenden Richtlinien (1)(2)(3)(4)(5)(6)(7)(8)(9). Das in dieser Testmethode beschriebene Verfahren soll eine Evaluierung der aeroben und anaeroben Transformationsprozesse von Chemikalien im Boden ermöglichen. Die Tests sind so konzipiert, dass, (i) die Transformationsrate der Testsubstanz und (ii) die Art der Transformationsprodukte sowie Bildungs- und Abbauraten bestimmt werden. So können die Konzentrationen von Chemikalien, bzw. deren Transformationsprodukten, denen Pflanzen und Bodenorganismen ausgesetzt sein können, errechnet werden. Solche Untersuchungen sind für Chemikalien erforderlich, die direkt auf den Boden ausgebracht werden, bzw. bei denen die Möglichkeit besteht, dass sie in den terrestrischen Bereich gelangen.. Die Ergebnisse solcher Laboruntersuchungen können auch dazu genutzt werden, Probenahme- und Analysevorschriften für gleichgelagerte Feldstudien zu entwickeln.

Im Allgemeinen sind aerobe und anaerobe Untersuchungen mit einer Bodenart für die Untersuchung der Transformationspfade im Bodenausreichend (8)(10)(11). Die Transformationsraten sollten mit mindestens drei zusätzlichen Böden bestimmt werden (8)(10).

Auf einem OECD-Workshop zur Boden-/Sedimentauswahl, der 1995 im italienischen Belgirate stattfand (10), wurden insbesondere die Anzahl und Arten der in diesem Test zu verwendenden Böden vereinbart. Die im Test verwendeten Böden sollten repräsentativ für die im Freiland bei Chemikalieneinsatz bzw. – -eintrag exponierten Böden sein. So sollten etwa Chemikalien, die möglicherweise in subtropischem bis tropischem Klima freigesetzt werden, mit Ferrasolen oder Nitosolen (FAO-System) getestet werden. Des Weiteren gab der Workshop basierend auf der ISO-Anleitung (15) Empfehlungen zur Entnahme, Handhabung und Lagerung von Bodenproben. Die Verwendung von Reisböden ist in dieser Methode ebenfalls berücksichtigt.

1.2 DEFINITIONEN

Testsubstanz: jede Substanz, ob Ausgangssubstanz oder relevante Transformationsprodukte.

Transformationsprodukte: alle Substanzen, die durch biotische oder abiotische Transformationsreaktionen der Testsubstanz entstehen, einschließlich CO_2 und Reaktionsprodukte in gebundenen Rückständen.

Gebundene Rückstände: „Gebundene Rückstände" sind Verbindungen in Boden, Pflanzen oder Tieren, die nach einer Extraktion in der Matrix in Form der Ausgangssubstanz oder deren Metaboliten/Transformationsprodukte(n) verbleiben. Die Extraktionsmethode darf die Verbindungen selbst oder die Matrixstruktur nicht wesentlich verändern. Durch matrixverändernde Extraktionsmethoden und hochentwickelte Analysenverfahren kann die Art der Bindung zum Teil geklärt werden. Bislang werden z. B. kovalente Ionen- und Sorptionsbindungen sowie Einschlüsse auf diese Weise nachgewiesen. In aller Regel bedeutet die Bildung von gebundenen Rückständen eine deutliche Verminderung der Bioverfügbarkeit (12) [modifiziert nach IUPAC 1984 (13)].

Aerobe Transformation: in Gegenwart von molekularem Sauerstoff ablaufende Reaktionen (14).

Anaerobe Transformation: unter Ausschluss von molekularem Sauerstoff ablaufende Reaktionen (14).

Boden: ein Gemisch mineralischer und organisch-chemischer Bestandteile, wobei letztere Verbindungen mit hohem Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt sowie einem hohen Molekulargewicht enthalten und mit kleinen (zumeist Mikro-)Organismen belebt sind. Boden kann in zwei Zustandsformen bearbeitet werden:

(a) ungestört, wie er sich im Laufe der Zeitentwickelt hat, mit der charakteristischer Horizontabfolge der verschiedenen Bodentypen;
(b) gestört, wie er in der Regel auf landwirtschaftlich genutzten Flächen vorzufinden ist oder wie er vorkommt, wenn Proben durch Graben entnommen und in der beschriebenen Testmethode verwendet werden (14).

Mineralisation: vollständiger Abbau einer organischen Verbindung zu CO_2 und H_2O unter aeroben Bedingungen und zu CH_4, CO_2 und H_2O unter anaeroben Bedingungen. Im Zusammenhang mit dieser Testmethode, bei der eine ^{14}C-markierte Verbindung verwendet wird, bedeutet Mineralisation einen extensiven Abbau, wobei ein markiertes Kohlenstoffatom unter Freisetzung der entsprechenden Menge $^{14}CO_2$ oxidiert wird (14).

Halbwertszeit t_{05}: die für die 50%ige Transformation einer Testsubstanz ermittelte Zeit, wenn die Transformation mittels Kinetik erster Ordnung beschrieben werden kann; sie ist konzentrationsunabhängig

Abbauzeit DT_{50}: Zeitspanne, in der sich die Konzentration der Testsubstanz um 50% reduziert hat; sie unterscheidet sich von der Halbwertszeit $t_{0.5}$, wenn die Transformation nicht nach der Kinetik erster Ordnung erfolgt.

Abbauzeit DT_{75}: Zeitspanne, in der sich die Testsubstanzkonzentration um 75% reduziert hat.

Abbauzeit DT_{90}: Zeitspanne, in der sich die Testsubstanzkonzentration um 90% reduziert hat.

1.3 REFERENZSUBSTANZEN

Referenzsubstanzen sollten zur Charakterisierung und/oder zur Identifizierung von Transformationsprodukten mittels spektroskopischer und chromatographischer Verfahren verwendet werden.

1.4 ANWENDBARKEIT DES TESTS

Die Methode ist auf sämtliche chemischen Substanzen (nichtmarkiert oder radioaktiv markiert) anwendbar, für die ein Analysenverfahren mit hinreichender Genauigkeit und Empfindlichkeit zur Verfügung steht. Sie ist anwendbar auf schwach flüchtige, nichtflüchtige, wasserlösliche oder wasserunlösliche Verbindungen. Bei Chemikalien, die aus Böden hochflüchtig sind (z. B. Begasungsmittel oder organische Lösungsmittel) und somit unter den Testbedingungen dieses Tests nicht im Boden gehalten werden können, sollte der Test nicht angewendet werden.

1.5 INFORMATIONEN ZUR TESTSUBSTANZ

Zur Messung der Transformationsrate kann nichtmarkierte oder markierte Testsubstanz verwendet werden. Markiertes Material ist zur Untersuchung des Umwandlungsweges und zur Aufstellung einer Massenbilanz notwendig. Empfohlen wird die ^{14}C-Markierung, doch auch der Einsatz anderer Isotope wie ^{13}C, ^{15}N, ^{3}H oder ^{32}P kann sinnvoll sein. Die Markierung sollte möglichst im stabilsten Teil, bzw. in den stabilsten Teilen des Moleküls positioniert sein[1]. Der Reinheitsgrad der Testsubstanz sollte mindestens 95% betragen.

Vor der Durchführung eines Tests zur aeroben und anaeroben Transformation im Boden sollten folgende Informationen zur Testsubstanz vorliegen:

(a) Wasserlöslichkeit (Methode A.6);
(b) Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln;
(c) Dampfdruck (Methode A.4) und Henry-Konstante;
(d) n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient (Methode A.8);
(e) chemische Stabilität im Dunkeln (Hydrolyse) (Methode C.7);
(f) pK_a, wenn ein Molekül zur Protonierung oder Deprotonierung neigt|OECD Guideline 112 | (16).

Außerdem können Angaben zur Toxizität der Testsubstanz gegenüber Bodenmikroorganismen sinnvoll sein [Testmethoden C.21 und C.22] (16).

Es sollten Analysenmethoden (einschließlich Extraktions und Reinigungsverfahren) zur Identifizierung und Quantifizierung der Testsubstanz sowie ihrer Transformationsprodukte verfügbar sein.

[1] Wenn beispielsweise die Testsubstanz einen Ring enthält, muss sich die Markierung auf diesem Ring befinden; enthält die Testsubstanz zwei oder mehr Ringe, können gesonderte Untersuchungen erforderlich sein, um den Verbleib jedes markierten Ringes zu erfassen und sachgerechte Informationen zur Bildung von Transformationsprodukten zu gewinnen.

1.6 PRINZIP DER TESTMETHODE

Den Bodenproben wird die Testsubstanz zugefügt und die Proben werden im Dunkeln in einem Biometer-Gefäß oder einem Durchflusssystem unter kontrollierten Laborbedingungen (bei konstanter Temperatur und Bodenfeuchtigkeit) inkubiert. Nach entsprechenden Zeitintervallen werden die Bodenproben extrahiert und auf die Ausgangssubstanz und Transformationsprodukte analysiert. Außerdem werden flüchtige Produkte mit Hilfe geeigneter Absorptionsvorrichtungen für die Analyse gesammelt. Mittels ^{14}C-markiertem Material können die verschiedenen Mineralisationsraten von Testsubstanzen durch Auffangen von entstandenem $^{14}CO_2$ gemessen werden und es kann eine Massenbilanz, einschließlich der Bildung von bodengebundenen Rückständen, aufgestellt werden.

1.7 QUALITÄTSKRITERIEN

1.7.1 **Wiederfindungsraten**

Die Extraktion und Analyse von mindestens zwei parallel angesetzten Bodenproben unmittelbar nach Zugabe der Testsubstanz, geben einen ersten Hinweis auf die Wiederholbarkeit der Analysenmethode und die gleichmäßige Verteilung der Testsubstanz bei der Applikation. Die Wiederfindungsraten für spätere Testphasen ergeben sich aus den jeweiligen Massenbilanzen. Die Wiederfindungsraten sollten im Bereich von 90-110% für markierte Chemikalien (8) und von 70-110% für nichtmarkierte Chemikalien (3) liegen.

1.7.2 **Wiederholbarkeit und Empfindlichkeit der Analysenmethode**

Die Wiederholbarkeit der Analysenmethode (ausgenommen die Effizienz der Extraktion im Anfangsstadium) zur Quantifizierung der Testsubstanz und der Transformationsprodukte kann durch eine parallele Analyse desselben Extrakts einer Bodenprobe, die hinreichend lange zur Bildung von Transformationsprodukten inkubiert wurde, überprüft werden.

Die Nachweisgrenze ("limit of detection; LOD") der Analysenmethode für die Testsubstanz und für die Transformationsprodukte sollte mindestens 0,01 $mg \cdot kg^{-1}$ Boden (als Testsubstanz) oder - falls dieser Wert niedriger ist – 1% der Applikationskonzentration betragen. Die Quantifizierungsgrenze ("limit of quantification; LOQ") sollte ebenfalls spezifiziert werden.

1.7.3 **Genauigkeit der Transformationsdaten**

Geeignete Informationen über die Zuverlässigkeit der Transformationskurve lassen sich mittels Regressionsanalyse aus denTestsubstanzkonzentrationen in Abhängigkeit von der Zeit gewinnen, die auch die Berechnung des Vertrauensbereichs für Halbwertszeiten (im Falle einer Kinetik pseudo-erster Ordnung) bzw. DT_{50}-Werte und ggf. für DT_{75}- und DT_{90}-Werte ermöglicht.

1.8 BESCHREIBUNG DER TESTMETHODE

1.8.1 **Geräte und chemische Reagenzien**

Inkubationssysteme bestehen aus statischen geschlossenen Systemen oder geeigneten Durchflusssystemen (7)(17). Beispiele für eine geeignete Durchfluss-Bodeninkubationsapparatur und ein Biometer-Gefäß sind in den Abb. 1 bzw. 2 dargestellt. Beide Arten von Inkubationssystemen haben Vorteile und Einschränkungen (7)(17).

Erforderlich ist die Standardlaborausstattung, insbesondere folgendes:

— Analysengeräte, z. B. GLC-, HPLC-, TLC-Ausstattung, einschließlich geeigneter Detektionssysteme für die Analyse radioaktiv markierter oder nichtmarkierter Substanzen oder für die inverse Isotopenverdünnungsmethode;
— Geräte für Identifizierungszwecke (z. B. MS, GC-MS, HPLC-MS, NMR);
— Flüssigkeitsszintillationszähler;
— Oxidiser für die Verbrennung von radioaktivem Material;
— Zentrifuge;
— Extraktionsgerät (z. B. Zentrifugengläser für die Kaltextraktion und ein Soxhlet-Apparat für die kontinuierliche Extraktion unter Rückfluss);

— Instrumente zum Einengen von Lösungen und Extrakten (z. B. Rotationsverdampfer);
— Wasserbad;
— Mechanische Mischvorrichtung (z. B. Knetmaschine, Rotationsmischer).

Einzusetzende chemische Reagenzien sind z. B.:

— NaOH, analysenrein, 2 mol · dm^{-3}, oder eine andere geeignete Base (z. B. KOH, Ethanolamin);
— H_2SO_4, analysenrein, 0,05 mol · dm^{-3};
— Ethylenglykol, analysenrein;
— feste Absorptionsmittel wie Natronkalk und Polyurethanstopfen;
— Organische Lösungsmittel, analysenrein, wie Aceton, Methanol usw.;
— Szintillationsflüssigkeit.

1.8.2 **Applikation der Testsubstanz**

Für die Zugabe zum Boden und die Verteilung darin,kann die Testsubstanz in Wasser (entionisiert oder destilliert) oder - falls notwendig - in möglichst geringen Mengen Aceton oder anderen organischen Lösungsmitteln (6) gelöst werden, in denen die Testsubstanz hinreichend löslich und stabil ist. Die gewählte Lösungsmittelmengesollte jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die Aktivität der Bodenmikroorganismen haben (siehe Abschnitte 1.5 und 1.9.2-1.9.3). Die Verwendung von Lösungsmitteln, die die Aktivität der Bodenmikroorganismen hemmen, wie etwa Chloroform, Dichlormethan oder andere halogenierte Lösungsmittel, ist zu vermeiden.

Die Testsubstanz kann auch als Feststoff zugegeben werden, z. B. in Quarzsand (6) eingemischt oder in einer kleinen Teilprobe des Testbodens, die zuvor luftgetrocknet und sterilisiert wurde. Wird die Testsubstanz unter Verwendung eines Lösungsmittels zugegeben, muss das Lösungsmittel verdampfen können, bevor die Teilprobe der ursprünglichen nichtsterilen Bodenprobe zugesetzt wird.

Bei gebräuchlichen Chemikalien, deren Eintrag in den Boden hauptsächlich über Klärschlamm/Anwendung in der Landwirtschaft erfolgt, sollte die Testsubstanz zuerst dem Schlamm zugesetzt werden, der dann in die Bodenprobe eingebracht wird (siehe Abschnitte 1.9.2 und 1.9.3).

Die Verwendung von formulierten Handelsprodukten wird nicht routinemäßig empfohlen. Sie kann jedoch z. B. bei schlecht löslichen Testsubstanzen eine geeignete Alternative sein.

1.8.3 **Böden**

1.8.3.1 Boden*auswahl*

Zur Bestimmung der Transformationswege kann ein repräsentativer Boden verwendet werden; empfohlen werden sandiger Lehm oder schluffiger Lehm oder Lehm oder lehmiger Sand [gemäß FAO und USDA-Klassifikation(18)] mit einem pH-Wert von 5,5-8,0, einem organischen Kohlenstoffgehalt von 0,5-2,5 % und einer mikrobiellen Biomasse von mindestens 1 % des gesamten organischen Kohlenstoffs (10).

Zur Untersuchung der Transformationssraten sollten mindestens drei zusätzliche Böden verwendet werden, die einen Bereich allerrelevanter Böden repräsentieren. Die Böden sollten sich hinsichtlich des organischen Kohlenstoffgehalts, des pH-Werts, des Tongehalts und der mikrobiellen Biomasse voneinander unterscheiden (10).

Alle Böden sollten mindestens hinsichtlich folgender Eigenschaften charakterisiert werden: Textur (% Sand, % Schluff, % Ton) [gemäß FAO und derUSDA-Klassifikation (18)], pH-Wert, Kationenaustauschkapazität, organischer Kohlenstoffgehalt, Bodendichte, Wasserrückhalteeigenschaft[2] und mikrobielle Biomasse (nur für aerobe Untersuchungen). Zusätzliche Informationen über Bodeneigenschaften können für die Interpretation der Ergebnisse von Nutzen sein. Zur Bestimmung der Bodeneigenschaften können die in den Literaturangaben (19)(20)(21)(22)(23) empfohlenen Methoden herangezogen werden. Die mikrobielle Biomasse sollte mit Hilfe der Substrat-induzierten Respirationsmethode (SIR) (25)(26) oder alternativer Verfahren (20) bestimmt werden.

[2] Die Wasserrückhalteeigenschaft eines Bodens lässt sich als Feldkapazität, als Wasserhaltekapazität oder als Wassersaugspannung (pF) messen. Erläuterungen siehe Anhang 1. Im Testbericht ist festzuhalten, ob die Wasserrückhalteeigenschaft und die Bodendichte von Böden bei ungestörten Feldproben oder gestörten (bearbeiteten) Proben ermittelt wurden.

1.8.3.2 *Probenahme, Handhabung und Lagerung von Böden*

Es sind ausführliche Informationen über die Geschichte des Feldstandorts erforderlich, von dem der Testboden entnommen wird. Die Angaben betreffen unter anderem die genaue Lage, den Bewuchs, Behandlungen mit Chemikalien sowie mit organischen und anorganischen Düngemitteln, Zusätze biologischer Materialien oder anderer Verunreinigungen. Böden, die in den vorhergehenden vier Jahren mit der Testsubstanz oder ihren Struktur-Analoga behandelt worden sind, sollten nicht für die Transformationsuntersuchungen verwendet werden (10)(15).

Der Boden sollte feldfrisch entnommen werden (aus dem A-Horizont oder bis zu einer Tiefe von maximal 20 cm) und einen Bodenwassergehalt aufweisen, der das Sieben ermöglicht. Bei Böden, die nicht von Reisfeldern stammen, sollte die Probenahme während oder unmittelbar nach längeren (> 30 Tage) Dürre-, Frost- oder Überschwemmungsperioden vermieden werden (14). Die Proben sollten so transportiert werden, dass der Bodenwassergehalt möglichst unverändert bleibt, und sie sollten unter freiem Luftzutritt dunkel aufbewahrt werden. Im Allgemeinen ist ein locker verschlossener Polyethylenbeutel geeignet.

Der Boden sollte so schnell wie möglich nach der Probenahme bearbeitet werden. Vegetationsreste, größere Bodentiere und Steine sollten entfernt werden, bevor der Boden durch ein Sieb mit 2 mm Maschenweite gegeben wird, um kleine Steine, Bodentiere und Pflanzenteile zu entfernen. Ein übermäßiges Austrocknen und Zerkleinern des Bodens vor dem Sieben ist zu vermeiden (15).

Wenn die Probenahme auf dem Feld im Winter schwierig ist (Boden gefroren oder schneebedeckt), kann auf Boden zurückgegriffen werden, der im Gewächshaus unter einer Pflanzenabdeckung (Gras oder Gras-Klee-Mischung) gelagert wurde. Untersuchungen mit feldfrischen Böden werden in jedem Fall bevorzugt, doch wenn der entnommene und bearbeitete Boden vor Beginn der Untersuchungen gelagert werden muss, dann unter angemessenen Bedingungen und nur für eine begrenzte Dauer (höchstens drei Monate bei 4 ± 2 °C), um die mikrobielle Aktivität zu erhalten[3]. Ausführliche Anweisungen zur Probenahme, Handhabung und Lagerung von Böden für Untersuchungen der Biotransformation sind zu finden in (8)(10)(15)(26)(27).

Bevor der bearbeitete Boden für diesen Test verwendet wird, sollte er vorinkubiert werden, um das Keimen und Entfernen von Samen zu ermöglichen, und im Anschluss an den Wechsel von den Probenahme- oder Lagerungsbedingungen zu den Inkubationsbedingungen wieder ein Gleichgewicht des Mikrobenstoffwechsels herzustellen. Im Allgemeinen ist eine Vorinkubationsdauer von 2 bis 28 Tagen unter annähernder Einhaltung der Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen des eigentlichen Tests ausreichend (15). Lagerung und Vorinkubation sollten zusammengenommen nicht länger als drei Monate dauern.

1.9 DURCHFÜHRUNG DES TESTS

1.9.1 **Testbedingungen**

1.9.1.1 *Testtemperatur*

Während der gesamten Testdauer sollten die Böden im Dunkeln bei einer konstanten Temperatur inkubiert werden, die für die klimatischen Bedingungen, unter denen der Einsatz bzw. die Freisetzung erfolgt, repräsentativ ist. Für alle Testsubstanzen, die in gemäßigten Klimazonen in den Boden gelangen können, wird eine Temperatur von 20 ± 2 °C empfohlen. Die Temperatur sollte überwacht werden.

Bei Chemikalien, die in kälteren Klimazonen angewandt bzw. eingetragen werden (z. B. in nördlichen Ländern oder während des Herbstes/Winters), sollten zusätzlich Bodenproben bei einer niedrigeren Temperatur inkubiert werden (z. B. 10 ± 2 °C).

[3] Aktuelle Forschungsergebnisse deuten darauf hin, dass Böden aus den gemäßigten Klimazonen bei –20 °C sogar mehr als drei Monate gelagert werden können (28)(29), ohne dass die mikrobielle Aktivität wesentlich zurückgeht.

1.9.1.2 *Feuchtegehalt*

Bei Transformationstests unter aeroben Bedingungen sollte der Feuchtegehalt[4] des Bodens auf einen pF-Wert von 2,0 bis 2,5 eingestellt und bei diesem Wert gehalten werden(3). Der Feuchtegehalt des Bodens wird als Masse Wasser pro Masse Boden (Trockengewicht) ausgedrückt und sollte regelmäßig kontrolliert werden (z. B. alle zwei Wochen), indem die Inkubationsgefäße gewogen und Wasserverluste ersetzt werden (vorzugsweise mit sterilfiltriertem Leitungswasser). Es ist darauf zu achten, dass während der Zugabe von Feuchtigkeit Verluste von Testsubstanz und/oder Transformationsprodukten durch Verflüchtigung und/oder ggf. photochemischen Abbau möglichst verhindert oder minimiert werden .

Für Transformationstests unter anaeroben und Reisanbaubedingungen wird der Boden durch Überflutung mit Wasser gesättigt.

1.9.1.3 *Aerobe Inkubationsbedingungen*

Bei Durchflusssystemen werden aerobe Bedingungen durch diskontinuierliches Spülen oder kontinuierliches Belüften mit befeuchteter Luft aufrechterhalten. In Biometer-Gefäßen wird der ständige Austausch von Luft durch Diffusion ermöglicht.

1.9.1.4 *Sterile aerobe Bedingungen*

Um Informationen über die Relevanz der abiotischen Transformation einer Testsubstanz zu gewinnen, können Bodenproben sterilisiert (zu Sterilisationsverfahren vgl. (16) und (29)), mit einer sterilen Testsubstanz behandelt (z. B. Zugabe der Lösung durch ein Sterilfilter) und mit steriler befeuchteter Luft, wie in Abschnitt 1.9.1.3 beschrieben, belüftet werden. Bei Reisböden sollten Boden und Wasser sterilisiert und die Inkubation wie in Abschnitt 1.9.1.6 beschrieben durchgeführt werden.

1.9.1.5 *Anaerobe Inkubationsbedingungen*

Zum Erreichen und Aufrechterhalten anaerober Bedingungen wird der mit der Testsubstanz behandelte und unter aeroben Bedingungen für 30 Tage bzw. eine Halbwertszeit oder DT_{50} (je nachdem, was kürzer ist) inkubierte Boden mit Wasser überflutet (Wassersäule 1-3 cm), und das Inkubationssystem wird mit einem inerten Gas (z. B. Stickstoff oder Argon) gespült[5]. Das Testsystem muss Messungen z. B. des pH-Werts, der Sauerstoffkonzentration und des Redoxpotenzials ermöglichen und Absorptionsfallen für flüchtige Reaktionsprodukte beinhalten. Das Biometersystem muss geschlossen sein, um den Zutritt von Luft durch Diffusion zu vermeiden.

1.9.1.6 *Inkubation unter Reisfeldbedingungen*

Zur Untersuchung der Transformation in Reisfeldböden wird der Boden mit einer Wassersäule von etwa 1-5 cm Höhe überflutet und die Testsubstanz in die Wasserphase appliziert (9). Es wird eine Bodentiefe von mindestens 5 cm empfohlen. Das System wird mit Luft wie unter aeroben Bedingungen belüftet. Der pH-Wert, die Sauerstoffkonzentration und das Redoxpotenzial der Wassersäule sollten überwacht und aufgezeichnet werden. Vor der Aufnahme der Transformationsuntersuchungen ist eine Vorinkubationsdauer von mindestens zwei Wochen erforderlich (siehe Abschnitt 1.8.3.2).

---

[4] Der Boden sollte weder zu feucht noch zu trocken sein, um eine adäquate Belüftung und Ernährung der Bodenmikroflora zu gewährleisten. Für ein optimales Wachstum der Bodenmikroorganismen wird ein Feuchtegehalt von 40 - 60% der Wasserhaltekapazität (WHK) und von 0,1 - 0,33 bar empfohlen (6). Der letztere Bereich entspricht einem pF-Bereich von 2,0 – 2,5. Typische Feuchtegehalte verschiedener Bodenarten sind in Anhang 2 aufgeführt.

[5] Wie ein von der EU gefördertes Forschungsprojekt gezeigt hat, herrschen in Oberböden und selbst in Böden aus Tiefenschichten aerobe Bedingungen vor [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. August 1992, Sigtuna, Schweden]. Anaerobe Bedingungen kommen nur gelegentlich bei Überschwemmungen von Böden nach schweren Niederschlägen oder bei der Herstellung von Anbaubedingungen auf Reisfeldern vor.

1.9.1.7 *Testdauer*

Die Untersuchungen zu Geschwindigkeit und Transformationsverlauf sollten nicht länger als 120 Tage dauern [6] (3)(6)(8), da danach in einem künstlichen Laborsystem, isoliert von natürlichen Revitalisierungsprozessen, eine Abnahme der mikrobiellen Aktivität im Boden mit der Zeit zu erwarten wäre. Falls es für die Charakterisierung des Testsubstanzabbaus sowie der Bildung und des Abbaus der Transformationsprodukte erforderlich ist , können die Untersuchungen über längere Zeiträume fortgesetzt werden (z. B. 6 oder 12 Monate) (8). Längere Inkubationszeiten sollten im Testbericht begründet und durch Biomassemessungen im Verlaufe und am Ende dieser Zeiträume begleitet werden .

1.9.2 **Durchführung des Tests**

In jedes Inkubationsgefäß werden etwa 50 bis 200 g Boden (Bezugsbasis Trockengewicht) gegeben (siehe Abbildungen 1 und 2 in Anhang 3), und der Boden wird nach einem der in Abschnitt 1.8.2 beschriebenen Verfahren mit der Testsubstanz behandelt. Werden organische Lösungsmittel für die Applikation der Testsubstanz verwendet, sollten sie durch Verdampfen aus dem Boden entfernt werden. Anschließend wird der Boden mit einem Spatel und/oder durch Schütteln des Gefäßes gründlich durchmischt. Wird die Untersuchung unter Reisfeldbedingungen durchgeführt, sollten Boden und Wasser nach Applikation der Testsubstanz gründlich gemischt werden. Zur Überprüfung der gleichmäßigen Verteilung sollten kleine Aliquoten (z. B. 1 g) des behandelten Bodens auf die Testsubstanzgehalte analysiert werden. Angaben zu einem alternativen Verfahren siehe unten.

Die Testkonzentration sollte der höchsten Anwendungsrate eines Pflanzenschutzmittels laut den Empfehlungen in der Gebrauchsanleitung und einer gleichmäßigen Einarbeitung in eine geeignete Tiefe im Feld (z. B. bis zu einer Tiefe von 10 cm^7 in den Boden) entsprechen. So beträgt z. B. bei Chemikalien, die auf die Blätter oder den Boden ohne Einarbeitung ausgebracht werden, die geeignete Tiefe für die Berechnung der in jeden Gefäß zu gebenden Chemikalie 2,5 cm. Bei in den Boden eingearbeiteten Chemikalien ist die geeignete Tiefe die in der Gebrauchsanleitung genannte Einarbeitungstiefe. Für Chemikalien im allgemeinen sollte die Applikationsrate basierend auf dem Haupteintragspfad gewählt werden. Wenn z. B. der Eintrag in den Boden hauptsächlich über Klärschlamm erfolgt, sollte die Chemikalie im Schlamm so dosiert werden, dass ihre Konzentration im Verhältnis zu der erwarteten Schlammkonzentration steht, und der dem Boden zugegebene Schlamm sollte im Verhältnis zum üblichen Schlammeintrag in landwirtschaftlich genutzte Böden stehen. Ist diese Konzentration nicht hoch genug, um die wichtigsten Transformationsprodukte nachzuweisen, kann eine Inkubation gesonderter Bodenproben mit höheren Mengen hilfreich sein, doch sollten zu hohe Mengen, die die Funktionen der Bodenmikroorganismen beeinflussen, vermieden werden (siehe Abschnitte 1.5 und 1.8.2).

Alternativ kann eine größere Charge (d. h. 1 bis 2 kg) Boden mit der Testsubstanz behandelt werden; dieser Ansatz wird in einem geeigneten Mischgerät sorgfältig gemischt und anschließend in kleinen Teilen von 50 bis 200 g in die Inkubationsgefäße gegeben (z. B. unter Verwendung von Probenteilern). Zur Überprüfung der gleichmäßigen Verteilung sollten kleine Aliquoten (z. B. 1 g) des behandelten Bodens auf die Testsubstanzgehalte analysiert werden. Ein solches Verfahren wird bevorzugt, da es eine gleichmäßigere Verteilung der Testsubstanz im Boden ermöglicht.

Zusätzlich zu den mit Testsubstanz behandelten Proben werden unbehandelte Bodenproben unter den gleichen Bedingungen (aerob) inkubiert . Diese Proben werden zur Messung der Biomasse im Verlaufe und am Ende der Untersuchungen herangezogen.

---

[6] Aerobe Untersuchungen können weit vor Ablauf von 120 Tagen beendet werden, wenn zu diesem Zeitpunkt der Abbauweg eindeutig identifiziert wurde und die vollständige Mineralisation erreicht worden ist. Beendet werden kann der Test nach 120 Tagen oder wenn mindestens 90% der Testsubstanz umgewandelt sind, jedoch nur, wenn sich mindestens 5 % CO_2 gebildet haben.

[7] Die Berechnung der Ausgangskonzentration eines Standortes beruht auf folgender Gleichung:

$$C_{Boden}[mg/kg_{soil}] = \frac{A[kg/ha] \cdot 10^6[mg/kg]}{l[m] \cdot 10^4[m^2/ha] \cdot d[kg_{soil}/m^3]}$$

C_{soil} = Ausgangskonzentration im Boden $[mg \cdot kg^{-1}]$

A = Aufwandrate $[kg \cdot ha^{-1}]$; l = Dicke der Bodenschicht am Feldstandort [m]; d = Bodendichte des trockenen Bodens $[kg \cdot m^{-3}]$.

Als Faustregel gilt, dass eine Aufwandrate von 1 $kg \cdot ha^{-1}$ in einer Bodenkonzentration von ca. 1 $mg \cdot kg^{-1}$ in einer 10 cm-Schicht resultiert (ausgehend von einer Bodendichte von 1 $g \cdot cm^{-3}$).

Wird die Testsubstanz mit Hilfe eines organischen Lösungsmittels/ mehrerer organischer Lösungsmittel gelöst auf den Boden aufgebracht, werden mit der gleichen Menge des Lösungsmittels (der Lösungsmittel) behandelte Bodenproben unter dengleichen Bedingungen (aerob) inkubiert, wie die mit der Testsubstanz behandelten Proben. Diese Proben werden zur Biomassemessung zu Testbeginn, während des Tests und zu Testende herangezogen, um die Wirkungen des Lösungsmittels/der Lösungsmittel auf die mikrobielle Biomasse zu prüfen.

Die den behandelten Boden enthaltenden Gefäße werden entweder an das in Abbildung 1 dargestellte Durchflusssystem angeschlossen oder mit der in Abbildung 2 gezeigten Absorptionskolonne verschlossen (siehe Anhang 3).

1.9.3 **Probenahme und Messung**

Parallel-Inkubationsgefäße werden in entsprechenden Zeitintervallen entnommen und die Bodenproben mit geeigneten Lösungsmitteln unterschiedlicher Polarität extrahiert und auf die Testsubstanz und/oder Transformationsprodukte analysiert. Bei einer gut konzipierten Untersuchung ist eine ausreichende Zahl von Gefäß vorgesehen, so dass zu jedem Probenahmetermin zwei Gefäße entnommen werden. Zudem werden in verschiedenen Zeitintervallen (7-Tage-Intervalle während des ersten Monats und 17-Tage-Intervalle nach einem Monat) Absorptionslösungen bzw. feste Absorptionsmittel im Verlaufe und am Ende der Inkubation jeder Bodenprobe entfernt und auf flüchtige Produkte analysiert. Abgesehen von einer unmittelbar nach der Applikation (0-Tage-Probe) genommenen Bodenprobe sollten mindestens 5 zusätzliche Probenahmetermine vorgesehen sein. Die Zeitintervalle sollten derart ausgewählt werden, dass ein Abbauschema für die Testsubstanz und ein Bildungs- und Abbauschema für die Transformationsprodukte erstellt werden können (z. B. 0, 1, 3, 7 Tage; 2, 3 Wochen; 1, 2, 3 Monate usw.).

Wird eine ^{14}C-markierte Testsubstanz verwendet, wird die nichtextrahierbare Radioaktivität durch Verbrennung quantifiziert, und für jedes Probenahmeintervall wird eine Massenbilanz berechnet.

Im Falle einer anaeroben Inkubation sowie einer Inkubation unter Reisfeldbedingungen werden die Boden- und Wasserphasen gemeinsam auf die Testsubstanz und Transformationsprodukte analysiert oder vor der Extraktion und Analyse durch Filtrieren oder Zentrifugieren abgetrennt.

1.9.4 **Fakultative Test**

Aerobe, nichtsterile Untersuchungen bei zusätzlichen Temperaturen und Bodenfeuchten können sinnvoll sein, wenn es darum geht, den Einfluss von Temperatur und Bodenfeuchte auf die Transformationsgeschwindigkeit einer Testsubstanz und/oder ihrer Transformationsprodukte im Boden abzuschätzen.

Eine weitere Charakterisierung von nichtextrahierbarer Radioaktivität kann z. B. mittels überkritischer Flüssigextraktion versucht werden.

2 **DATEN**

2.1 AUFBEREITUNG DER ERGEBNISSE

Die Konzentrationen der Testsubstanz, Transformationsprodukte, flüchtigen Substanzen (nur in %) und nichtextrahierbaren Substanzen sollten in % der applizierten Ausgangskonzentration und ggf. in $mg \cdot kg^{-1}$ Boden (Bezugsbasis Trockengewicht) für jedes Probenahmeintervall angegeben werden. Eine Massenbilanz in Prozent, bezogen auf die Ausgangskonzentration sollte für jedes Probenahmeintervall erstellt werden. Eine graphische Darstellung der Testsubstanzkonzentrationen in Abhängigkeit von der Zeit wird eine Einschätzung der Transformationshalbwertszeit bzw. der DT_{50} ermöglichen. Die Haupttransformationsprodukte sollten identifiziert und ihre Konzentrationen ebenfalls über der Zeit aufgetragen werden, um die jeweilige Geschwindigkeit ihrer Bildung und ihres Abbaus aufzuzeigen. Ein Haupttransformationsprodukt ist jedes Reaktionsprodukt, das zu irgendeinem Zeitpunkt des Tests mit einer Konzentration ≥ 10 % der Applikationskonzentration vorliegt.

Die aufgefangenen flüchtigen Produkte geben Hinweise auf das Flüchtigkeitspotenzial einer Testsubstanz und ihrer Transformationsprodukte im Boden.

Eine genauere Bestimmung der Halbwertszeiten bzw. DT_{50}-Werte und ggf. DT_{75}- und DT_{90}-Werte sollte durch die Anwendung geeigneter Kinetikmodellberechnungen möglich sein. Die Halbwertszeiten und DT_{50}-Werte sollten zusammen mit der Beschreibung des verwendeten Modells, der Kinetikordnung und des Determinationskoeffizienten (r^2) angegeben werden. Bevorzugt wird die Kinetik erster Ordnung, sofern nicht $r^2 < 0{,}7$. Ggf. sollten die Berechnungen auch bei den Haupttransformationsprodukten angewendet werden. Beispiele für zweckmäßige Modelle sind in den Literaturangaben 31 bis 35 beschrieben.

Wurden Untersuchungen bei verschiedenen Temperaturen durchgeführt,sollten die Transformationsraten in Abhängigkeit von der Temperatur, innerhalb des eingesetzten experimentellen Temperaturbereichs dargestellt werden, und zwar unter Verwendung der Arrhenius-Gleichung, in der Form:

$$k = A \cdot e^{-B/T} \quad \text{oder} \quad \ln k = \ln A - \frac{B}{T},$$

wobei ln A und B Regressionskonstanten aus dem Achsenabschnitt bzw. der Steigung einer Ausgleichsgeraden sind, die durch lineare Regression von ln k gegen 1/T erzeugt wird. k ist die Geschwindigkeitskonstante bei der Temperatur T und T ist die Temperatur in Kelvin ist. Es ist auf den begrenzten Temperaturbereich zu achten, in dem die Arrhenius-Gleichung gültig ist, wenn die Transformation auf mikrobieller Aktivität beruht.

2.2 EVALUIERUNG UND INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Obwohl die Untersuchungen in einem künstlichen Laborsystem stattfinden, lassen die Ergebnisse doch eine Einschätzung der Transformationsrate der Testsubstanz und auch der Bildungs- und Abbaurate der Transformationsprodukte unter Feldbedingungen zu (36)(37).

Eine Untersuchung der Transformationswege einer Testsubstanz vermittelt Erkenntnisse über die Art und Weise wie die Substanz im Boden in ihrer Struktur durch chemische und mikrobielle Reaktion verändert wird.

3 ABSCHLUSSBERICHT

TESTBERICHT

Der Testbericht muss folgende Angaben enthalten:

Testsubstanz:

- Common Name (Handelsname von Pflanzenschutzmitteln), systematischer chemischer Name, CAS-Nummer, Strukturformel (bei Verwendung radioaktiv markierter Chemikalien Angabe des Markierungsortes) und relevante physikalisch-chemische Eigenschaften (siehe Abschnitt 1.5);
- Reinheit (Verunreinigungen) der Testsubstanz;
- für markierte Chemikalien: radiochemische Reinheit und spezifische Aktivität (falls zutreffend);

Referenzsubstanzen:

- systematischer chemischer Name und Struktur der Referenzsubstanzen, die zur Charakterisierung und/oder Identifizierung von Transformationsprodukten verwendet werden;

Testböden:

- Angaben zum Probenahmeort;
- Datum und Verfahren der Probenahme;
- Bodeneigenschaften, z. B. pH-Wert, organischer Kohlenstoffgehalt, Textur (% Sand, % Schluff, % Ton), Kationenaustauschkapazität, Bodendichte, Wasserrückhalteeigenschaft und mikrobielle Biomasse;
- ggf. Lagerungsdauer und -bedingungen;

Testbedingungen:

— Angabe aller Kalenderdaten in Zusammenhang mit der Testdurchführung;
— Applikationsmenge der Testsubstanz;
— verwendete Lösungsmittel und Art der Testsubstanzapplikation;
— Bodengewicht zu Testbeginn und zu jedem Probenahmetermin, der Analytik einschließt;
— Beschreibung des verwendeten Inkubationssystems;
— Luftdurchflussrate (nur für Durchflusssysteme);
— Versuchstemperatur;
— Bodenfeuchtegehalt während der Inkubation;
— mikrobielle Biomasse zu Beginn, im Verlaufe und am Ende der aeroben Untersuchungen;
— pH-Wert, Sauerstoffkonzentration und Redoxpotenzial zu Beginn, im Verlaufe und am Ende der anaeroben Untersuchungen und der Untersuchungen unter Reisfeldbedingungen;
— Extraktionsverfahren;
— Quantifizierungs- und Identifizierungsverfahren für die Testsubstanz und die Haupttransformationsprodukte im Boden und in den Absorptionsmitteln;
— Anzahl der Replikate und der Kontrollansätze.

Ergebnisse:

— Ergebnis der Bestimmung der mikrobiellen Aktivität;
— Wiederholbarkeit und Empfindlichkeit der herangezogenen Analysenmethoden;
— Wiederfindungsraten (Werte in % für eine valide Untersuchung sind in Abschnitt 1.7.1 angegeben);
— tabellarische Darstellung der Ergebnisse in % der applizierten Ausgangskonzentration und ggf. in $mg \cdot kg^{-1}$ Boden (bezogen auf Trockengewicht);
— Massenbilanz während und am Ende der Untersuchungen;
— Charakterisierung nichtextrahierbarer (gebundener) Radioaktivität bzw. Rückstände im Boden;
— Quantifizierung von freigesetztem CO_2 und anderer flüchtiger Verbindungen;
— graphische Darstellungen von Bodenkonzentrationen in Abhängigkeit von der Zeit für die Testsubstanz und ggf. für die Haupttransformationsprodukte;
— Halbwertszeit oder DT_{50}, DT_{75} und DT_{90} für die Testsubstanz und ggf. für die Haupttransformationsprodukte einschließlich Vertrauensbereichen;
— Einschätzung der der abiotischen Abbaurate unter sterilen Bedingungen;
— Beurteilung der Transformationskinetik für die Testsubstanz und ggf. für die Haupttransformationsprodukte;
— Angabe von Transformationspfaden (falls möglich);
— Diskussion und Interpretation der Ergebnisse;
— Rohdaten (d. h. Chromatogramme der einzelnen Proben, Berechnungen der Transformationsraten sowie Methoden zur Identifizierung von Transformationsprodukten).

4 LITERATURANGABEN

(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) Europäische Union (EU) (1995). Richtlinie 95/36/EG der Kommission vom 14. Juli 1995 zur Änderung der Richtlinie 91/414/EWG über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln. Anhang II, Teil A, und Anhang III, Teil A: Verbleib und Verhalten in der Umwelt.

(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 (1997). Bodenbeschaffenheit – Laboratoriumsinkubationssysteme zur Bestimmung der Mineralisierung von organischen Chemikalien im Boden unter aeroben Bedingungen.

(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, Italien, 18.-20. Januar 1995.

(11) Guth, J.A. (1980). The study of transformations. In Interactions between Herbicides and the Soil (R.J. Hance, Ed.), 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 (angenommen am 12. Mai 1981)

(15) ISO 10381-6 (1993). Bodenbeschaffenheit – Probenahme – Teil 6: Anleitung zur Probenahme, Behandlung und Lagerung von Boden für die Bestimmung aerober mikrobieller Prozesse unter Laborbedingungen.

(16) Anhang V zur Richtlinie 67/548/EWG

(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) und 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 and D.R. Kelney, 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 und 2 (1997). Bodenbeschaffenheit - Bestimmung der mikrobiellen Biomasse von Böden - Teil 1: Substratinduziertes Respirationsverfahren. Teil 2: Fumigations-Extraktionsverfahren.

(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., Sjödahl-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 and 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) Hurle K., Walker A. (1980). Persistence and its prediction. In Interactions between Herbicides and the Soil (R.J. Hance, Ed.), Academic Press, 83-122.

ANHANG 1

WASSERSPANNUNG, FELDKAPAZITÄT (FK) UND WASSERHALTEKAPAZITÄT (WHK)(1)

Höhe der Wassersäule [cm]	pF[(a)]	bar[(b)]	Bemerkungen
10^7	7	10^4	trockener Boden
$1{,}6 \cdot 10^4$	4,2	16	Welkepunkt
10^4	4	10	
10^3	3	1	
$6 \cdot 10^2$	2,8	0,6	
$3{,}3 \cdot 10^2$	2,5	0,33[(c)]	
10^2	2	0,1	Bereich der Feldkapazität[(d)]
60	1,8	0,06	
33	1,5	0,033	
10	1	0,01	WHK (Näherungswert)
1	0	0,001	wassergesättigter Boden

(a) pF = dekadischer Logarithmus der Wasserspannung (in cm Wassersäule)
(b) 1 bar = 10^5 Pa.
(c) entspricht einem angenäherten Wassergehalt von 10 % in Sand, 35 % in Lehm und 45 % in Ton.
(d) Feldkapazität ist nicht konstant, sondern schwankt je nach Bodentyp zwischen pF 1,5 und 2,5.

Die *Wasserspannung(Saugspannung)* wird in cm Wassersäule oder in bar gemessen. Aufgrund des großen Saugspannungsbereichs wird sie einfach als pF-Wert angegeben, der dem Logarithmus der in cm Wassersäule angegebenen Wasserspannung entspricht.

Die *Feldkapazität (Speicherfeuchte)* wird definiert als die Wassermenge, die ein natürlicher Boden nach längeren Niederschlägen oder nach ausreichender Bewässerung zwei Tage gegen die Gravitation speichern kann. Sie wird in ungestörtem Boden in situ im Feld bestimmt. Daher ist die Messung nicht auf gestörte Laborbodenproben anwendbar. In gestörtem Boden bestimmte FK-Werte können erhebliche systematische Varianzen aufweisen.

Die *Wasserhaltekapazität* (WHK) wird im Labor für ungestörten und gestörten Boden durch Sättigung einer Bodensäule mit Wasser durch Kapillaraufstieg bestimmt. Sie ist besonders für gestörte Böden nützlich und kann bis zu 30 % größer sein als die Feldkapazität (1). Sie ist im Test auch leichter zu bestimmen als verlässliche FK-Werte.

(1) Mückenhausen, E. (1975). Die Bodenkunde und ihre geologischen, geomorphologischen, mineralogischen und petrologischen Grundlagen. DLG-Verlag, Frankfurt, Main.

ANHANG 2

BODENFEUCHTEGEHALT (in g Wasser je 100 g Boden TG[1]) VERSCHIEDENER BODENARTEN AUS UNTERSCHIEDLICHEN LÄNDERN

Bodenart	Land	Bodenfeuchtegehalt bei		
		WHK[2]	pF = 1,8	pF = 2,5
Sand	Deutschland	28,7	8,8	3,9
Lehmiger Sand	Deutschland	50,4	17,9	12,1
Lehmiger Sand	Schweiz	44,0	35,3	9,2
Schluffiger Lehm	Schweiz	72,8	56,6	28,4
Toniger Lehm	Brasilien	69,7	38,4	27,3
Toniger Lehm	Japan	74,4	57,8	31,4
Sandiger Lehm	Japan	82,4	59,2	36,0
Schluffiger Lehm	USA	47,2	33,2	18,8
Sandiger Lehm	USA	40,4	25,2	13,3

[1] TG: Trockengewicht
[2] Wasserhaltekapazität

ANHANG 3

Abbildung 1

Beispiel eines Durchflussapparats für die Untersuchung der Transformation von Chemikalien im Boden (1)(2)

1: Nadelventil

2: mit Wasser gefüllte Gaswaschflasche

3: Ultramembran (nur sterile Bedingungen), Porengröße 0,2 µm

4: Bodenstoffwechselgefäß (mit Wasserüberstand nur für anaerobe und Reisfeldbedingungen;)

5: Ethylenglykolabscheider für flüchtige organische Verbindungen

6: Schwefelsäureabscheider für flüchtige Alkalien

7, 8: Natriumhydroxidabscheider für CO_2 und andere flüchtige saure Verbindungen

9: Durchflussmesser

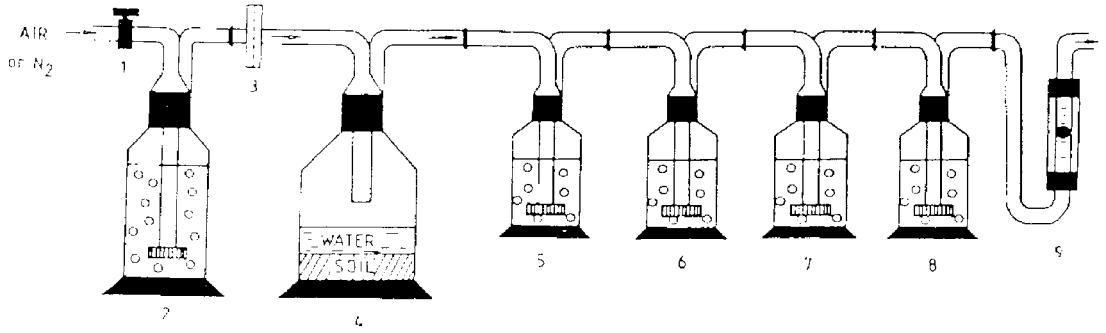
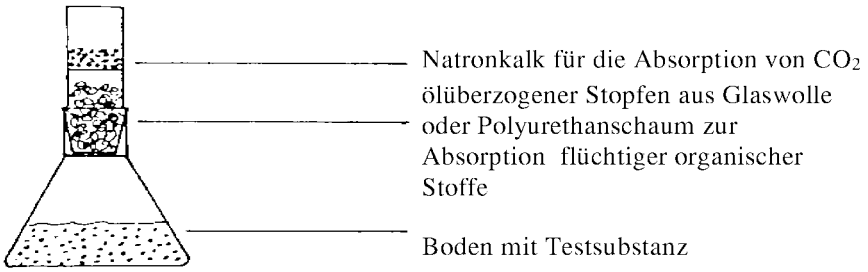


Abbildung 2

Beispiel eines Biometer-Gefäßes für die Untersuchung der Transformation von Chemikalien im Boden (3)



(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. AEROBE UND ANAEROBE TRANSFORMATION IN WASSER/SEDIMENT-SYSTEMEN

1. METHODE

Diese Testmethode entspricht der Prüfrichtlinie OECD TG 308 (2002).

1.1 EINLEITUNG

Chemikalien gelangen in flache oder tiefe Oberflächengewässer auf folgenden Wegen: direkte Applikation, Sprühmittelabdrift, Ablauf, Entwässerung, Abfallentsorgung, Industrie-, Haushalts- oder Landwirtschaftsabwässer und über atmosphärische Ablagerung. Die Testmethode beschreibt eine Labormethode zur Beurteilung der aeroben und anaeroben Transformation von organischen Chemikalien in Wasser/Sediment-Systemen. Sie basiert auf bestehenden Richtlinien (1)(2)(3)(4)(5)(6). Auf einem OECD-Workshop zur Boden-/Sedimentauswahl, der 1995 im italienischen Belgirate stattfand (7), wurden insbesondere die Anzahl und Arten der bei diesem Test zu verwendenden Sedimente vereinbart. Des Weiteren gab der Workshop Empfehlungen zur Entnahme, Handhabung und Lagerung von Sedimentproben basierend auf den ISO-Hinweisen (8). Derartige Untersuchungen sind bei Chemikalien erforderlich, bei denen davon auszugehen ist, dass sie unmittelbar in wasser angewandt werden oder auf den oben aufgeführten Eintragspfaden in den aquatischen Bereich gelangen.

Die Bedingungen in natürlichen Wasser/Sediment-Systemen sind in der oberen Wasserphase häufig aerob. Die Oberflächenschicht des Sediments kann entweder aerob oder anaerob sein, während die tieferen Sedimentschichten in der Regel anaerob sind. Um sämtlichen Möglichkeiten Rechnung zu tragen, werden in diesem Dokument sowohl aerobe als auch anaerobe Tests beschrieben. Der aerobe Test simuliert eine aerobe Wassersäule über einer aeroben Sedimentschicht, die mit einem anaeroben Gradienten unterschichtet ist. Der anaerobe Test simuliert ein vollständig anaerobes Wasser/Sediment-System. Deuten die Umstände darauf hin, dass es notwendig ist, von diesen Empfehlungen deutlich abzuweichen, indem z. B. intakte Sedimentkerne oder Sedimente verwendet werden, die möglicherweise gegenüber der Testsubstanz exponiert waren, können andere, zu diesem Zweck verfügbare Methoden zur Anwendung kommen (9).

1.2 DEFINITIONEN

In jedem Falle ist das Internationale Einheitensystem (SI-System) anzuwenden.

Testsubstanz: jede Substanz, ob Ausgangsverbindung oder relevante Transformationsprodukte.

Transformationsprodukte: alle Substanzen, die das Ergebnis von biotischen oder abiotischen Transformationsreaktionen der Testsubstanz sind, einschließlich CO_2 und Reaktionsprodukte in gebundenen Rückständen.

Gebundene Rückstände: „Gebundene Rückstände" sind Verbindungen in Böden, Pflanzen oder Tieren, die nach einer Extraktion in der Matrix in Form der Ausgangssubstanz oder deren Metaboliten verbleiben. Die Extraktionsmethode darf die Verbindungen selbst oder die Matrixstruktur nicht wesentlich verändern. Die Art der Bindung kann zum Teil durch matrixverändernde Extraktionsmethoden und hochentwickelte Analysenverfahren geklärt werden. Bislang werden z. B. kovalente Ionen- und Sorptionsbindungen sowie Einschlüsse auf diese Weise nachgewiesen. In aller Regel bedeutet die Bildung von gebundenen Rückständen eine deutliche Verminderung der Bioverfügbarkeit (10) [modifiziert nach IUPAC 1984 (11)].

Aerobe Transformation: (oxidierend): in Gegenwart von molekularem Sauerstoff ablaufende Reaktionen (12).

Anaerobe Transformation: (reduzierend): unter Ausschluss von molekularem Sauerstoff ablaufende Reaktionen (12).

Natürliche Gewässer: Oberflächengewässer, die aus Teichen, Flüssen, Strömen usw. stammen.

Sediment: ein Gemisch mineralischer und organisch-chemischer Bestandteile. Letztere enthalten Verbindungen mit hohem Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt und mit hoher Molekularmasse . Das Sediment lagert sich in natürlichen Gewässern ab und bildet eine Grenzfläche zu diesem Wasser.

Mineralisation: vollständiger Abbau einer organischen Verbindung zu CO_2 und H_2O unter aeroben Bedingungen, und zu CH_4, CO_2 und H_2O unter anaeroben Bedingungen. Im Zusammenhang mit dieser Testmethode, bei der eine radioaktiv markierte Verbindung verwendet wird, bedeutet Mineralisation einen extensiven Abbau eines Moleküls, wobei ein markiertes Kohlenstoffatom unter Freisetzung der entsprechenden Menge $^{14}CO_2$ bzw. $^{14}CH_4$ quantitativ oxidiert oder reduziert wird .

Halbwertszeit $t_{0.5}$: die für die 50% ige Transformation einer Testsubstanz ermittelte Zeit, wenn die Transformation mittels Kinetik erster Ordnung beschrieben werden kann; sie ist unabhängig von der Ausgangskonzentration.

Abbauzeit DT_{50}: Zeitspanne, in der sich die Ausgangskonzentration der Testsubstanz um 50 % reduziert hat.

Abbauzeit DT_{75}: Zeitspanne, in der sich die Ausgangskonzentration der Testsubstanz um 75 % reduziert hat.

Abbauzeit DT_{90}: Zeitspanne, in der sich die Ausgangskonzentration der Testsubstanz um 90 % reduziert hat.

1.3 REFERENZSUBSTANZEN

Referenzsubstanzen ollten zur Identifizierung und Quantifizierung von Transformationsprodukten mittels spektroskopischer und chromatographischer Verfahren verwendet werden.

1.4 INFORMATIONEN ZUR TESTSUBSTANZ

Zur Messung der Transformationsrate kann eine nichtmarkierte oder markierte Testsubstanz verwendet werden, jedoch werden markierte Substanzen bevorzugt. Markierte Substanzen sind notwendig zur Untersuchung des Transformationsweges und zur Aufstellung einer Massenbilanz. Empfohlen wird die ^{14}C-Markierung, doch auch der Einsatz anderer Isotope wie ^{13}C, ^{15}N, ^{3}H oder ^{32}P kann sinnvoll sein. Die Markierung sollte möglichst im stabilsten Teil/in den stabilsten Teilen des Moleküls positioniert sein[1]. Die chemische und/oder radiochemische Reinheit der Testsubstanz sollte mindestens 95% betragen.

Vor der Durchführung eines Tests sollten folgende Informationen zur Testsubstanz vorliegen:

(a) Wasserlöslichkeit (Methode A.6);

(b) Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln;

(c) Dampfdruck (Methode A.4) und Henry-Konstante;

(d) n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient (Methode A.8);

(e) Adsorptionskoeffizient (K_d, K_f oder K_{oc}) (Methode C.18);

(f) Hydrolyse (Methode C.7);

(g) Dissoziationskonstante (pK_a) [OECD Guideline 112] (13);

(h) chemische Struktur der Testsubstanz und Ort der Isotopenmarkierung(en), falls zutreffend.

Hinweis: Die Temperatur, bei der diese Messungen vorgenommen werden, sollte angegeben werden.

Sinnvoll können u.a. auch folgende Angaben sein: Toxizität der Testsubstanz gegenüber Mikroorganismen, Daten zur leichten und/oder potenziellen biologischen Abbaubarkeit sowie Daten zur aeroben und anaeroben Transformation im Boden.

[1] Wenn beispielsweise die Testsubstanz einen Ring enthält, muss sich die Markierung auf diesem Ring befinden; enthält die Testsubstanz zwei oder mehr Ringe, können gesonderte Untersuchungen erforderlich sein, um den Verbleib jedes markierten Rings zu erfassen und sachgerechte Informationen zur Bildung von Transformationsprodukten zu gewinnen.

Analysenmethoden (einschließlich Extraktions- und Reinigungsverfahren) zur Identifizierung und Quantifizierung der Testsubstanz und ihrer Transformationsprodukte in Wasser und Sediment sollten verfügbar sein (siehe Abschnitt 1.7.2).

1.5 PRINZIP DER TESTMETHODE

Bei der hier beschriebenen Methode werden ein aerobes und ein anaerobes Wassersediment verwendet (siehe Anhang 1), das folgende Untersuchungen erlaubt:

(i) Messung der Transformationsrate der Testsubstanz in einem Wasser/Sediment-System,

(ii) Messung der Transformationsrate der Testsubstanz im Sediment,

(iii) Messung der Mineralisationsrate der Testsubstanz und/oder ihrer Transformationsprodukte (bei Verwendung einer ^{14}C-markierten Testsubstanz),

(iv) Identifizierung und Quantifizierung von Transformationsprodukten in Wasser- und Sedimentphasen einschließlich einer Massenbilanz (bei Verwendung einer markierten Testsubstanz),

(v) Messung der Verteilung der Testsubstanz und ihrer Transformationsprodukte auf die beiden Phasen während einer Inkubation im Dunkeln (um z. B. Algenblüten zu vermeiden) bei konstanter Temperatur. Halbwertszeiten, DT_{50}-, DT_{75}- und DT_{90}-Werte werden bestimmt, wenn es die entsprechenden Daten hergeben, sollten jedoch nicht weit über den Versuchszeitraum hinaus extrapoliert werden (siehe Abschnitt 1.2).

Sowohl für die aerobe als auch für die anaerobe Untersuchung sind jeweils mindestens zwei Sedimente sowie die dazugehörigen Wasserphasen erforderlich (7). In bestimmten Fällen sollten jedoch mehr als zwei Sedimente verwendet werden, z. B. bei Chemikalien, die in Binnengewässern und/oder in Meeresgewässern vorkommen können.

1.6 ANWENDBARKEIT DES TESTS

Die Methode ist allgemein anwendbar auf chemische Substanzen (nichtmarkiert oder markiert), für die ein Analysenverfahren mit hinreichender Genauigkeit und Empfindlichkeit zur Verfügung steht. Es ist anwendbar auf schwach flüchtige, nichtflüchtige, wasserlösliche oder schlecht wasserlösliche Verbindungen. Der Test sollte nicht angewendet werden bei Chemikalien, die aus Wasser stark flüchtig sind (z. B. Begasungsmittel oder organische Lösungsmittel) und somit unter den Versuchsbedingungen dieses Tests nicht im Wasser und/oder Sediment gehalten werden können.

Bisher wird diese Methode zur Untersuchung der Transformation von Chemikalien in Binnengewässern und Sedimenten genutzt, aber im Prinzip ist sie auch für Ästuar-/Meeressysteme anwendbar. Sie ist nicht geeignet zur Simulation von Bedingungen in strömendem Wasser (z. B. Flüssen) oder auf hoher See.

1.7 QUALITÄTSKRITERIEN

1.7.1 **Wiederfindungsraten**

Die Extraktion und Analyse von mindestens jeweils zwei parallel angesetzten Wasser- und Sedimentproben unmittelbar nach Zugabe der Testsubstanz geben einen ersten Hinweis auf die Wiederholbarkeit der Analysenmethode und die gleichmäßige Verteilung der Testsubstanz bei der Applikation . Die Wiederfindungsraten für spätere Versuchsphasen ergeben sich aus den jeweiligen Massenbilanzen (bei Verwendung markierter Substanzen). Die Wiederfindungsraten sollten im Bereich von 90-110% für markierte Chemikalien (6) und von 70-110 % für nichtmarkierte Chemikalien liegen.

1.7.2 **Wiederholbarkeit und Empfindlichkeit der Analysenmethode**

Die Wiederholbarkeit der Analysenmethode (ausgenommen die Effizienz der Extraktion im Anfangsstadium) zur Quantifizierung der Testsubstanz und der Transformationsprodukte kann durch eine parallele Analyse desselben Extrakts der Wasser- bzw. der Sedimentproben, die hinreichend lange zur Bildung von Transformationsprodukten inkubiert wurden, überprüft werden.

Die Nachweisgrenze ("limit of detection; LOD") der Analysenmethode für die Testsubstanz und für die Transformationsprodukte sollte mindestens 0,01 $mg \cdot kg^{-1}$ in Wasser oder Sediment (als Testsubstanz) oder - falls dieser Wert niedriger ist - 1% der in ein Testsystem applizierten Ausgangsmenge betragen. Die Quantifizierungsgrenze ("limit of quantification; LOQ") sollte ebenfalls spezifiziert werden.

1.7.3 **Genauigkeit der Transformationsdaten**

Geeignete Informationen über die Zuverlässigkeit der Transformationskurve lassen sich mittels einer Regressionsanalyse aus den Testsubstanzkonzentrationen in Abhängigkeit von der Zeit gewinnen, die auch die Berechnung des Vertrauensbereiche für Halbwertszeiten (im Falle einer Kinetik pseudo-erster Ordnung) bzw. DT_{50}-Werte und ggf. für DT_{75}- und DT_{90}-Werte ermöglicht.

1.8 BESCHREIBUNG DER METHODE

1.8.1 **Testsystem und Geräte**

Die Untersuchung sollte in Glasgefäßen (z. B. Flaschen oder Zentrifugengläsern) durchgeführt werden, sofern nicht bereits vorliegende Informationen (wie der n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient, Sorptionsdaten usw.) darauf hindeuten, dass die Testsubstanz möglicherweise an Glas anhaftet. In diesem Fall kann es erforderlich sein, andere Materialien (wie Teflon) in Betracht zu ziehen. Wenn bekannt ist, dass die Testsubstanz an Glas anhaftet, könnte eine Lösung darin bestehen, eine oder mehrere der folgenden Methoden anzuwenden:

— Bestimmung der Masse der am Glas sorbierten Testsubstanz und Transformationsprodukte;

— Obligatorische Spülung aller Glasgegenstände mit einem Lösungsmittel zu Testende;

— Verwendung formulierter Handelsprodukte (siehe auch Abschnitt 1.9.2);

— Verwendung einer größeren Menge eines Hilfslösungsmittels für die Zugabe der Testsubstanz in das System; das eingesetzte Hilfslösungsmittel sollte die Testsubstanz nicht durch Solvolyse aufspalten.

Beispiele für typische Testgeräte, d. h. Durchfluss- und Biometersysteme, sind in Anhang 2 bzw. 3 dargestellt (14). Weitere geeignete Inkubationssysteme sind in der Literaturangabe 15 beschrieben. Die Anordnung der Versuchsgeräte sollte den Austausch von Luft oder Stickstoff und das Auffangen flüchtiger Produkte ermöglichen. Die Geräte müssen so bemessen sein, dass sie den Anforderungen des Tests entsprechen (siehe Abschnitt 1.9.1). Die Belüftung kann entweder durch schonendes Durchperlen oder durch das Leiten von Luft oder Stickstoff über die Wasseroberfläche erfolgen. Im letzteren Fall kann ein vorsichtiges Umrühren des Wassers von oben angeraten sein, um eine bessere Verteilung des Sauerstoffs bzw. Stickstoffs im Wasser zu erreichen. CO_2-freie Luft sollte nicht verwendet werden, da dies zu einem Anstieg des pH-Werts des Wassers führen kann. In jedem Falle ist eine Störung des Sediments nicht wünschenswert und sollte weitestgehend vermieden werden. Schwach flüchtige Chemikalien sollten in einem Biometersystem unter vorsichtigem Rühren der Wasseroberfläche getestet werden. Ebenfalls können geschlossene Gefäße mit einer Gasphase aus atmosphärischer Luft oder Stickstoff sowie mit innen befindlichen Röhrchen zum Auffangen flüchtiger Produkte verwendet werden (16). Beim aeroben Test ist ein regelmäßiger Austausch der Gasphase im oberen Teil des Gefäßes erforderlich, um den Sauerstoffverbrauch durch die Biomasse auszugleichen.

Geeignete Abscheider für das Sammeln flüchtiger Transformationsproduktesind u. a. Kaliumhydroxid- oder Natriumhydroxidlösungen (1 $mol \cdot dm^{-3}$) für Kohlendioxid[2] und Ethylenglykol, Ethanolamin oder 2%iges Paraffin in Xylol für organische Verbindungen. Flüchtige Verbindungen wie Methan, die unter anaeroben Bedingungen entstehen, können z. B. mittels Molekularsieben aufgefangen werden. Solche flüchtigen Verbindungen können z. B. zu CO_2 verbrannt werden, indem das Gas bei einer Temperatur von 900 °C durch eine CuO enthaltende Quarzröhre geführt und das gebildete CO_2 in einem Abscheider mit Alkali aufgefangen wird (17).

[2] Da diese basischen Absorptionslösungen auch das Kohlendioxid aus der Belüftungsluft und das bei den aeroben Versuchen durch die Atmung gebildete Kohlendioxid absorbieren können, müssen sie in regelmäßigen Zeitabständen ausgewechselt werden, um ihre Sättigung und damit einen Verlust ihres Absorptionsvermögens zu verhindern.

Erforderlich ist eine Laborausstattung für die chemische Analyse der Testsubstanz und von Transformationsprodukten (z. B. Gas-flüssig-Chromatographie (GLC), Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC), Dünnschichtchromatographie (TLC), Massenspektroskopie (MS), Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS), Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS), kernmagnetische Resonanz (NMR) u. a.), sowie ggf. Detektionssysteme für radioaktiv markierte oder nichtmarkierte Chemikalien. Bei Verwendung radioaktiv markierter Substanzen werden darüber hinaus ein Flüssigkeitsszintillationszähler und ein Oxidationsmittel (für die Verbrennung von Sedimentproben vor der Analyse auf Radioaktivität) benötigt.

Weitere Standardlaborgeräte für physikalisch-chemische und biologische Bestimmungen (siehe Tabelle 1, Abschnitt 1.8.2.2), Glasgegenstände, Chemikalien und Reagenzien sind je nach Bedarf erforderlich.

1.8.2 **Auswahl und Anzahl von Wassersedimenten**

Die Probenahmestellen sollten entsprechend dem Zweck des Tests je nach gegebener Situation gewählt werden. Bei der Auswahl der Probenahmestellen ist die Vorgeschichte möglicher landwirtschaftlicher, industrieller oder häuslicher Einträge in das Einzugsgebiet und die Oberläufe zu berücksichtigen. Es sollten nur Sedimente verwendet werden, die in den 4 vorhergehenden Jahren nicht mit der Testsubstanz oder ihren Struktur-Analoga verunreinigt worden sind.

1.8.2.1 *Sedimentauswahl*

Für die aeroben Tests werden üblicherweise zwei Sedimente verwendet (7). Die beiden ausgewählten Sedimente sollten sich hinsichtlich ihres organischen Kohlenstoffgehalts und ihrer Textur voneinander unterscheiden. Ein Sediment sollte einen hohen organischen Kohlenstoffgehalt (2,5 - 7,5 %) aufweisen und feinkörnig sein, das andere Sediment sollte einen niedrigen organischen Kohlenstoffgehalt (0,5 - 2,5 %) haben und grobkörnig sein. Der Unterschied zwischen den organischen Kohlenstoffgehalten sollte im Regelfall mindestens 2 % betragen. „Feinkörnigkeit" wird definiert als ein [Ton und Schluff][3]-Gehalt von > 50 %, und „Grobkörnigkeit" wird definiert als ein [Ton und Schluff]-Gehalt von < 50 %. Die Differenz zwischen den [Ton und Schluff]-Gehalten beider Sedimente sollte in aller Regel mindestens 20 % betragen. In Fällen, in denen eine Chemikalie auch in Meerwasser gelangen kann, sollte mindestens eines der Wasser/Sediment-Systeme marinen Ursprungs sein .

Für die strikt anaerobe Untersuchung sollten Proben von zwei Sedimenten (einschließlich des jeweils dazugehörigen Wassers) aus den anaeroben Bereichen der Oberflächenwasserkörper genommen werden (7). Handhabung und Transport von Sediment- und Wasserphasen sollten vorsichtig unter Ausschluss von Sauerstoff erfolgen.

Für die Auswahl von Sedimenten können noch andere Parameter von Bedeutung sein und sollten je nach Ausgangslage berücksichtigt werden. So wäre z. B. der pH-Bereich von Sedimenten wichtig für die Untersuchung von Chemikalien, bei denen die Transformation und/oder Sorption pH-abhängig sein könnte . Die pH-Abhängigkeit der Sorption kann im pK_a-Wert der Testsubstanz zum Ausdruck kommen.

1.8.2.2 *Charakterisierung von Wasser-Sediment-Proben*

In der folgenden Tabelle sind die wichtigsten Parameter, die für Wasser und Sediment zu messen und zu protokollieren sind (unter Verweis auf die verwendete Methode) sowie die Testphase, in der diese Parameter zu bestimmen sind, aufgeführt. Informationen über die Methoden zur Bestimmung dieser Parameter sind inder Literatur (18)(19)(20)(21) zu finden.

Unter Umständen sind je nach Ausgangslage noch weitere Parameter zu messen und zu protokollieren (z. B. für Süßwasser: Partikel, Alkalinität, Härte, Leitfähigkeit, NO_3/PO_4 (Verhältnis und Einzelwerte); für Sedimente: Kationenaustauschkapazität, Wasserhaltekapazität, Carbonat, Gesamtstickstoff und -phosphor; und für Meeressysteme: Salzgehalt). Zur Messung der Redoxbedingungen, insbesondere im Hinblick auf die anaerobe Transformation, kann auch eine Analyse von Sedimenten und Wasser auf Nitrat, Sulfat, bioverfügbares Eisen und evtl. andere Elektronenakzeptoren sinnvoll sein.

[3] [Ton und Schluff] ist die mineralische Fraktion des Sediments mit einer Partikelgröße von < 50 µm.

Messung von Parametern zur Charakterisierung von Wasser/Sediment-Proben (7)(22)(23)

Parameter	Phase des Testverfahrens					
	Feld-probenahme	Hand-habung	Beginn der Akklima-tisierung	Testbeginn	laufender Test	Testende
Wasser						
Herkunft/Quelle	x					
Temperatur	x					
pH-Wert	x		x	x	x	x
TOC			x	x		x
O_2-Konzentration*	x		x	x	x	x
Redoxpotenzial*			x	x	x	x
Sediment						
Herkunft/Quelle	x					
Tiefe der Schicht	x					
pH-Wert		x	x	x	x	x
Korngrößenverteilung		x				
TOC		x	x	x		x
Mikrobielle Biomasse**		x		x		x
Redoxpotenzial *	Beobachtung (Farbe / Geruch)		x	x	x	x

* Aktuelle Forschungsergebnisse haben gezeigt, dass Messungen der Sauerstoffkonzentrationen im Wasser und der Redoxpotenziale für das Wachstum und die Entwicklung von mikrobiellen Populationen in Oberflächengewässern weder einen mechanistischen noch einen prognostischen Wert besitzen (24)(25). Zur Interpretation und Beurteilung der aeroben biologischen Transformationsraten und -pfade besser geeignete Hilfsmittel sind möglicherweise die Bestimmung des Biochemischen Sauerstoffbedarfs (BSB bei der Feldprobenahme sowie zu Testbeginn und -ende) und die Konzentrationsbestimmung der Mikro-/Makronährstoffe Ca^{2+}, Mg^{2+} und Mn^{2+} (zu Testbeginn und -ende) in Wasser sowie die Messung des Gesamt-N und Gesamt-P in Sedimenten (bei der Feldprobenahme und zu Testende).

** Die Methode der mikrobiellen Respirationsrate (26), die Fumigationsmethode (27) oder die Bestimmung der Lebendkeimzahl (z. B. Bakterien, Aktinomyceten, Pilze und Gesamtzahl der Kolonien) für aerobe Untersuchungen; Methanogeneserate bei anaeroben Untersuchungen.

1.8.3 **Probenahme, Handhabung und Lagerung**

1.8.3.1 *Probenahme*

Für die Entnahme von Sedimentproben sollte der Entwurf der ISO-Hinweise zur Probenahme vonSedimenten (8) herangezogen werden. Sedimentproben sollten von der gesamten oberen, 5 bis 10 cm starke Sedimentschicht genommen werden. Am selben Standort und zum selben Zeitpunkt sollte das dazugehörige Wasser entnommen werden. Für die anaerobe Studie sollte die Probenahme und der Transport desSedimentes und des dazugehörigen Wassers unter Ausschluss von Sauerstoff erfolgen (28)(siehe Abschnitt 1.8.2.1). Einige Probenahmegeräte sind in der Literatur beschrieben (8)(23).

1.8.3.2 *Handhabung*

Das Sediment wird durch Filtration vom Wasser getrennt und dann mit überschüssigem Standortwasser, das anschließend verworfen wird, durch ein Sieb mit einer Maschenweite von 2 mm feuchtgesiebt. Dann werden bekannte Mengen Sediment und Wasser im gewünschten Verhältnis (siehe Abschnitt 1.9.1) in Inkubationsgefäßen vermischt und für die Akklimatisierung vorbereitet (siehe Abschnitt 1.8.4). Bei der anaeroben Studie sind alle Schritte unter Ausschluss von Sauerstoff durchzuführen (29)(30)(31)(32)(33).

1.8.3.3 *Lagerung*

In jedem Falle wird die Verwendung frischer Sediment- und Wasserproben empfohlen; ist jedoch eine Lagerung erforderlich, sollten Sediment und Wasser wie zuvor beschrieben gesiebt und zusammen gelagert werden, und zwar mit einem Wasserüberstand (6-10 cm Wassersäule), im Dunkeln, bei 4 ± 2 °C[4] und für einen Zeitraum von höchstens 4 Wochen (7)(8)(23). Für aerobe Untersuchungen vorgesehene Proben sollten bei freiem Luftzutritt gelagert werden (z. B. in offenen Behältern), die für anaerobe Untersuchungen vorgesehenen Proben hingegen unter Ausschluss von Sauerstoff. Während des Transports und der Lagerung dürfen Sediment und Wasser nicht gefrieren und das Sediment darf nicht austrocknen.

1.8.4 **Vorbereitung der Sediment-/Wasserproben für den Test**

Der Testsubstanzzugabe sollte eine Akklimatisierungsperiode vorangehen, während der sich jede Sediment-/Wasserprobe in dem im Haupttest zu verwendenden Inkubationsgefäß befindet. Die Bedingungen der Akklimatisierungsperiode müssen exakt denen der Inkubation beim Haupttest entsprechen (siehe Abschnitt 1.9.1). Die Akklimatisierungsperiode ist die Zeit, die benötigt wird, um eine hinreichende Stabilität des Systems zu erreichen, die sich am pH-Wert, an der Sauerstoffkonzentration im Wasser, am Redoxpotenzial des Sedimentes und Wassers sowie an der makroskopischen Phasentrennung ablesen lässt. Die Akklimatisierungsperiode beträgt in aller Regel ein bis zwei Wochen und sollte vier Wochen nicht überschreiten. Die Ergebnisse der während dieser Zeit durchgeführten Bestimmungen sind zu protokollieren.

1.9 DURCHFÜHRUNG DES TESTS

1.9.1 **Testbedingungen**

Der Test sollte im Inkubationsgefäß (siehe Abschnitt 1.8.1) mit einem Wasser/Sediment-Volumenverhältnis zwischen 3:1 und 4:1 und einer Sedimentschicht von 2,5 cm (± 0,5 cm) durchgeführt werden.[2] Eine Mindestmenge von 50 g Sediment (Trockengewicht) pro Inkubationsgefäß wird empfohlen.

Der Test sollte im Dunkeln bei einer konstanten Temperatur im Bereich von 10 bis 30 °C durchgeführt werden. Angemessen ist eine Temperatur von (20 ± 2) °C. Falls notwendig, kann zusätzlich eine niedrigere Temperatur (im allgemeinen 10 °C) gewählt werden, als Einzelfallentscheidung in Abhängigkeit von den zu ermittelnden Testergebnissen.. Die Inkubationstemperatur sollte überwacht und protokolliert werden.

[4] Aktuelle Studien haben gezeigt, dass eine Lagerung bei 4°C zu einer Verminderung des organischen Kohlenstoffgehalts des Sediments führen kann, was unter Umständen einen Rückgang der mikrobiellen Aktivität zur Folge hat (34).

1.9.2 **Behandlung und Applikation der Testsubstanz**

Es wird eine Testkonzentration der Chemikalie verwendet[5]. Für Pflanzenschutzmittel, die direkt auf den Wasserkörper appliziert werden, sollte die auf dem Etikett angegebene Höchstdosierung als maximale Applikationsrate, die bezogen auf die Wasseroberfläche des Testgefäßes errechnet wird, eingesetzt werden. In allen anderen Fällen sollte die einzusetzende Konzentration auf Berechnungen aus Umweltemissionen basieren. Es ist darauf zu achten, dass eine ausreichende Testsubstanzkonzentration appliziert wird, um den Transformationspfad und die Bildung und den Rückgang der Transformationsprodukte erfassen zu können. Es kann erforderlich sein, höhere Dosen zu applizieren (z. B. das Zehnfache), wenn z.B. die Testsubstanzkonzentration zu Testbeginn dicht an der Nachweisgrenze liegt und/oder wenn die Haupttransformationsprodukte nicht ohne weiteres nachgewiesen werden können, obwohl ihr Anteil 10 % der Applikationsrate der Testsubstanz ausmacht. Werden höhere Testkonzentrationen verwendet, sollten diese allerdings keine erhebliche Beeinträchtigung der mikrobiellen Aktivität des Wasser/Sediment-Systems bewirken. Um eine konstante Testsubstanzkonzentration in verschieden großen Gefäßen zu erreichen, kann eine Anpassung der applizierten Substanzmenge als sinnvoll angesehen werden, basierend auf der Höhe der Wassersäule im Gefäß im Verhältnis zur Höhe der Wassersäule am Probenahmestandort (die mit 100 cm angenommen wird, doch auch andere Höhen sind möglich). Siehe die Beispielrechnung in Anhang 4.

Idealerweise sollte die Testsubstanz als wässrige Lösung in die Wasserphase des Testsystems gegeben werden. Falls es sich nicht vermeiden lässt, ist der Einsatz geringer Mengen von mit Wasser mischbaren Lösungsmitteln (wie Aceton oder Ethanol) für die Applikation und Verteilung der Testsubstanz zulässig, sollte jedoch 1 % v/v nicht überschreiten und die mikrobielle Aktivität des Testsystems nicht beeinträchtigen. Die Herstellung der wässrigen Lösung der Testsubstanz ist mit Sorgfalt vorzunehmen - zur Sicherstellung einer vollständigen Homogenität kann die Verwendung von Generatorsäulen und das Mischen vor Testbeginn sinnvoll sein. Nach Zugabe der wässrigen Lösung in das Testsystem wird ein vorsichtiges Mischen der Wasserphase empfohlen, wobei das Sediment so wenig wie möglich gestört werden sollte.

Die Verwendung von formulierten Handelsprodukten wird routinemäßig nicht empfohlen, da die Formulierungsbestandteile die Verteilung der Testsubstanz und/oder der Transformationsprodukte zwischen der Wasser- und der Sedimentphase beeinflussen können. Bei schlecht wasserlöslichen Testsubstanzen kann der Einsatz von formulierten Handelsprodukten jedoch eine geeignete Alternative darstellen.

Die Anzahl der Inkubationsgefäße richtet sich nach der Anzahl der Probenahmezeitpunkte (siehe Abschnitt 1.9.3). Es sollte eine ausreichende Anzahl von Testansätzen vorgesehen werden, so dass zwei Ansätze zu jedem Probenahmezeitpunkt ausgewertet werden können. Werden Kontrollansätze für die verschiedenen Wasser/Sediment-Systeme eingesetzt, sollten sie nicht mit der Testsubstanz behandelt werden. Die Kontrollansätze können zur Bestimmung der mikrobiellen Biomasse des Sediments und der Gesamtmenge an organisch gebundenem Kohlenstoff des Wassers und Sedimentes zu Testende herangezogen werden. Zwei der Kontrollansätze (d. h. ein Kontrollansatz pro Wassersedimentansatz) können zur Überwachung der erforderlichen Parameter im Sediment und im Wasser während der Akklimatisierungsphase genutzt werden (siehe Tabelle in Abschnitt 1.8.2.2). Es sind zwei zusätzliche Kontrollansätze für den Fall vorzusehen, dass die Testsubstanz mittels eines Lösungsmittels appliziert wird, um Beeinträchtigungen der mikrobiellen Aktivität des Testsystems zu erfassen.

1.9.3 **Testdauer und Probenahme**

Der Versuch sollte im Normalfall nicht länger als 100 Tage dauern (6) und sollte jedoch solange fortgesetzt werden, bis der Abbauweg und das Wasser-/Sedimentverteilungsmuster ermittelt sind bzw. der Verlust der Testsubstanz durch Transformation und/oder Verflüchtigung 90 % erreicht hat. Die Anzahl der Probenahmezeitpunkte sollte mindestens sechs (einschließlich des Nullzeitpunkts) betragen, wobei fakultativ eine Voruntersuchung (siehe Abschnitt 1.9.4) durchgeführt werden kann, um ein geeignetes Probenahmeschema und die optimale Testdauer zu ermitteln, sofern nicht genügend Daten zur Testsubstanz aus früheren Untersuchungen vorliegen. Bei hydrophoben Testsubstanzen können zusätzliche Probenahmen während der Anfangsphase der Untersuchung erforderlich sein, um die Verteilungsrate zwischen der Wasser-/Sedimentphase zu bestimmen.

[5] Ein Test mit einer zweiten Konzentrationsstufe kann bei Chemikalien von Nutzen sein, die auf verschiedenen Eintragspfaden in Oberflächengewässer gelangen und somit signifikant unterschiedliche Konzentrationen aufweisen, sofern die niedrigere Konzentration mit hinreichender Genauigkeit analytisch bestimmt werden kann.

Zu entsprechenden Probenahmezeitpunkten werden komplette Inkubationsgefäße (im Replikat) zur Analyse entnommen. Das Sediment und das darüber liegende Wasser werden getrennt analysiert[6]. Das Oberflächenwasser sollte vorsichtig entnommen werden, um das Sediment so wenig wie möglich zu stören. Die Extraktion und Charakterisierung der Testsubstanz und der Transformationsprodukte sollte nach geeigneten Analysenverfahren erfolgen. Substanzen, die sich unter Umständen am Inkubationsgefäß oder an den Verbindungsleitungen, die zum Auffangen flüchtiger Verbindungen dienen, angelagert haben, sollten vorsichtig abgelöst und gesammelt werden.

1.9.4 **Fakultative Voruntersuchung**

Können Dauer und Probenahmeschema nicht auf der Grundlage anderer relevanter Untersuchungen zur Testsubstanz abgeschätzt werden, kann fakultativ eine Voruntersuchung als sinnvoll angesehen werden, die unter den gleichen Testbedingungen durchzuführen ist, wie sie für den endgültigen Hauptversuch geplant sind. Die relevanten Versuchsbedingungen und Ergebnisse aus der Voruntersuchung, falls sie durchgeführt wurde, sollten in Kurzform protokolliert werden.

1.9.5 **Messungen und Analyse**

Die Konzentration der Testsubstanz und der Transformationsprodukte ist zu jedem Probenahmezeitpunkt im Wasser und im Sediment zu messen und zu protokollieren (als Konzentrationsangabe und als prozentualer Anteil der Applikationsmenge). Allgemein sollten Transformationsprodukte, die ≥10% der applizierten Radioaktivität im gesamten Wasser/Sediment-System zu irgendeinem Probenahmezeitpunkt aufweisen, identifiziert werden, sofern nicht hinreichende Gründe dagegen sprechen. Ebenfalls für eine Identifizierung in Betracht gezogen werden sollten Transformationsprodukte, deren Konzentrationen während des Tests kontinuierlich steigen, da dies ein Hinweis auf Persistenz ist, auch wenn ihre Konzentrationen die o.g. Grenzen nicht überschreiten. Dieses Vorgehen sollte im Einzelfall erwogen und im Abschlussbericht begründet werden.

Zu jedem Probenahmezeitpunkt sollten die Ergebnisse aus den Abscheidesystemen für Gase/flüchtige Verbindungen (CO_2 und andere, d.h. flüchtige organische Verbindungen) protokolliert werden. Die Mineralisationsraten sind zu protokollieren. Nichtextrahierbare (gebundene) Rückstände im Sediment sind zu jedem Probenahmezeitpunkt zu protokollieren.

2 DATEN

2.1 AUFBEREITUNG DER ERGEBNISSE

Die Gesamtmassenbilanz bzw. die Wiederfindungsrate (siehe Abschnitt 1.7.1) der zugegebenen Radioaktivität ist zu jedem Probenahmezeitpunkt zu berechnen. Die Ergebnisse sind als Anteile (in %) der applizierten Radioaktivität zu protokollieren. Die Verteilung der Radioaktivität im Wasser und Sediment sollte als Konzentration und prozentualer Anteil zu jedem Probenahmezeitpunkt protokolliert werden.

Die Halbwertszeit, DT_{50}- und ggf. DT_{75}- und DT_{90}-Werte der Testsubstanz sollten zusammen mit ihren Vertrauensbereichen berechnet werden (siehe Abschnitt 1.7.3). Informationen zur Verlustrate der Testsubstanzkonzentration im Wasser und im Sediment lassen sich mittels geeigneter Berechnungsprogramme gewinnen. Dazu können gehören: die Anwendung einer Kinetik nach pseudo-erster Ordnung, empirische Kurvenanpassungsverfahren unter Anwendung graphischer oder numerischer Lösungen sowie komplexere Berechnungen z.B. unter Anwendung von Einzel- oder Mehrkompartimentmodellen. Weitere Einzelheiten sind in der relevanten Literatur zu finden (35)(36)(37).

[6] Falls es ohne weiteres zu einer schnellen Reoxidation anaerober Transformationsprodukte kommen kann, sollten während der Probenahme und Analyse anaerobe Bedingungen sichergestellt werden.

Alle Ansätze haben Stärken und Schwächen und weisen hinsichtlich ihrer Komplexität erhebliche Unterschiede auf. Die Annahme einer Kinetik erster Ordnung kann eine zu starke Vereinfachung der Abbau- und Verteilungsprozesse bedeuten, ergibt jedoch - falls möglich - ein Wert (die Geschwindigkeitskonstante oder Halbwertszeit), der leicht zu verstehen und für Simulationsmodellierungen und Berechnungen von Umweltkonzentrationen relevant ist. Empirische Ansätze oder lineare Transformationen können bessere Anpassungen von Kurven an Daten und damit eine optimalere Abschätzung von Halbwertszeiten, DT_{50}- und ggf. DT_{75}- und DT_{90}-Werten ermöglichen. Allerdings ist der Nutzen dieser abgeleiteten Konstanten begrenzt. Mit Kompartimentmodellen lassen sich eine Reihe nützlicher Konstanten berechnen, die wichtig für die Risikoabschätzung sind und die die Abbaugeschwindigkeit in den verschiedenen Kompartimenten, sowie die Verteilung der Chemikalie beschreiben. Sie sollten ferner zur Ermittlung der Geschwindigkeitskonstanten für die Bildung und den Abbau von Haupttransformationsprodukten herangezogen werden. In allen Fällen muss die Auswahl der Methode begründet werden und der Versuchsleiter sollte die Güte der Anpassung graphisch und/oder statistisch nachweisen.

3 ABSCHLUSSBERICHT

3.1 TESTBERICHT

Der Testbericht muss folgende Angaben enthalten:

Testsubstanz:

— Common Name (Handelsname von Pflanzenschutzmitteln), systematischer chemischer Name, CAS-Nummer, Strukturformel (bei Verwendung radioaktiv markierter Chemikalien mit Angabe des Markierungsorts) und relevante physikalisch-chemische Eigenschaften;

— Reinheit (Verunreinigungen) der Testsubstanz;

— radiochemische Reinheit der markierten Chemikalie und molare Aktivität (falls zutreffend).

Referenzsubstanzen:

— Systematischer chemischer Name und Struktur von Referenzsubstanzen, die zur Charakterisierung und/oder zur Identifizierung von Transformationsprodukten verwendet werden

Testsedimente und -wasser:

— Ort und Beschreibung der Probenahmestelle(n) für das Wassersediment, einschließlich etwaiger früherer Kontaminationen

— alle Informationen zur Probenahme, (ggf.) Lagerung und Akklimatisierung von Wasser/Sediment-Systemen;

— Eigenschaften der Wasser/Sediment-Proben gemäß der Tabelle in Abschnitt 1.8.2.2.

Testbedingungen:

— verwendetes Testsystem (z. B. Durchflusssystem, Biometersystem, Art der Belüftung, Rührmethode, Wasservolumen, Sedimentmasse, Höhe der Wasser- und der Sedimentschicht, Abmessungen der Testgefäße usw.)

— Applikation der Testsubstanz in das Testsystem: verwendete Testkonzentration, Anzahl der Replikat- und Kontrollproben, Art der Applikation der Testsubstanz (z. B. Verwendung eines Lösungsmittels, falls zutreffend) usw.

— Inkubationstemperatur;

— Probenahmezeitpunkte;

— Extraktionsmethoden und -effizienz sowie Analysenmethoden und Nachweisgrenzen;

— Verfahren für die Charakterisierung/ Identifizierung von Transformationsprodukten;

— Abweichungen von der Testvorschrift oder den Testbedingungen während der Untersuchung.

Ergebnisse:

— Rohdaten-Zahlenwerte repräsentativer Analysen (sämtliche Rohdaten sind im GLP-Archiv zu speichern);

— Wiederholbarkeit und Empfindlichkeit der herangezogenen Analysenverfahren;

— Wiederfindungsraten (prozentuale Werte für eine valide Studie sind in Abschnitt 1.7.1 angegeben);

— tabellarische Darstellung der Ergebnisse ausgedrückt in % der applizierten Menge und in $mg \cdot kg^{-1}$ im Wasser, im Sediment und im Gesamtsystem (nur in %) für die Testsubstanz und ggf. für Transformationsprodukte und nichtextrahierbare Radioaktivität;

— Massenbilanz während und am Ende der Untersuchungen;

— graphische Darstellung der Transformation in den Wasser- und Sedimentfraktionen sowie im Gesamtsystem (einschließlich Mineralisation);

— Mineralisationsraten;

— Halbwertszeit, DT_{50}- sowie ggf. DT_{75}- und DT_{90}-Werte für die Testsubstanz und ggf. Haupttransformationsprodukte einschließlich derVertrauensbereiche im Wasser, Sediment und im Gesamtsystem;

— Beurteilung der Transformationskinetik der Testsubstanz und ggf. der Haupttransformationsprodukte;

— Vorschlag für einen Transformationspfad, falls möglich;

— Diskussion der Ergebnisse.

4 LITERATURANGABEN

(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. pp 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 (adopted 12 May 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. and 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 (D.H. Hutson, T.R. Roberts, Eds.), 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 ^{14}C-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 (17th edition). 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. Chemistry 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 July 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 November 1993. Eds.: I.R. Hill, P. Matthiessen and 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 and 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. and 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. and Bontinck, W.J. (1989). Screening of chemicals for anaerobic biodegradation. Chemosphere 19, 1527-1550.

(31) Pagga, U. and Beimborn, D.B. (1993). Anaerobic biodegradation tests for organic compounds. Chemoshpere 27, 1499-1509.

(32) Nuck, B.A. and Federle, T.W. (1986). A batch test for assessing the mineralisation of ^{14}C-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 and 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. and 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. and 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, pp 1349-1354.

ANHANG 1

ANLEITUNG ZU DEN AEROBEN UND DEN ANAEROBEN TESTSYSTEMEN

Aerobes Testsystem

Das in dieser Testmethode beschriebene aerobe Testsystem besteht aus einer aeroben Wassersäule (typische Sauerstoffkonzentrationen im Bereich von 7 bis 10 $mg \cdot l^{-1}$) und einer Sedimentschicht, die an der Oberfläche aerob und unter der Oberfläche anaerob ist (typische mittlere Redoxpotenziale (E_h) der anaeroben Sedimentzone liegen im Bereich von –80 bis –190 mV). In jedem Inkubationsgefäß wird angefeuchtete Luft über die Wasseroberfläche geführt, um im oberen Teil des Gefäßes eine ausreichende Menge Sauerstoff zu gewährleisten.

Anaerobes Testsystem

Das Testverfahren des anaeroben Testsystems gleicht im Wesentlichen dem für das aerobe System beschriebenen, mit dem Unterschied, dass in jedem Inkubationsgefäß angefeuchteter Stickstoff über die Wasseroberfläche geführt wird, um eine ausreichende Stickstoffmenge im oberen Gefäßteil zu gewährleisten. Sediment und Wasser werden als anaerob betrachtet, wenn das Redoxpotenzial (E_h) niedriger ist als –100 mV.

Im anaeroben Test beruht die Beurteilung der Mineralisation auf der Messung des gebildeten Kohlendioxids und Methans.

ANHANG 2

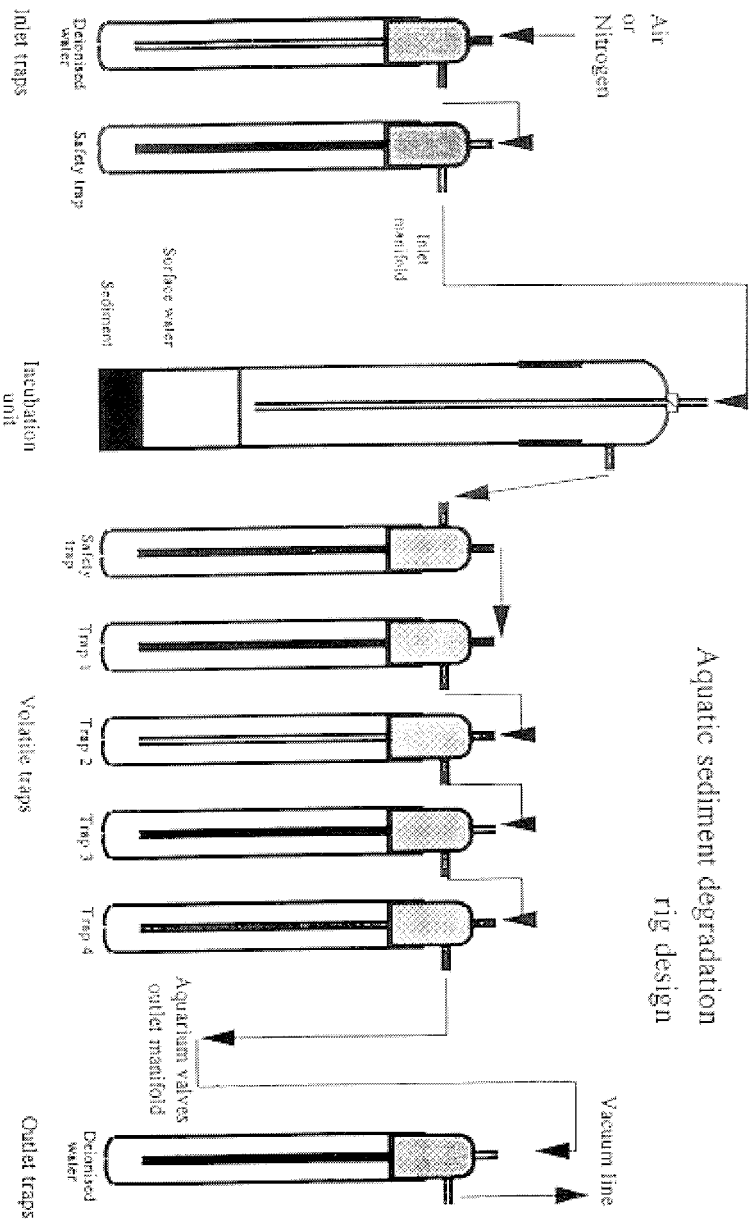
BEISPIEL EINES DURCHFLUSSSYSTEMS

Sicherheitsabscheider, leer

Abscheider 1:
Ethylenglykol für die Abscheidung flüchtiger organischer Stoffe

Abscheider 2:
0,1M Schwefelsäure für die Abscheidung flüchtiger alkalischer Stoffe

Abscheider 3 und 4:
2M Natriumhydroxid für die Abscheidung von CO_2 und anderen flüchtigen sauren Stoffen

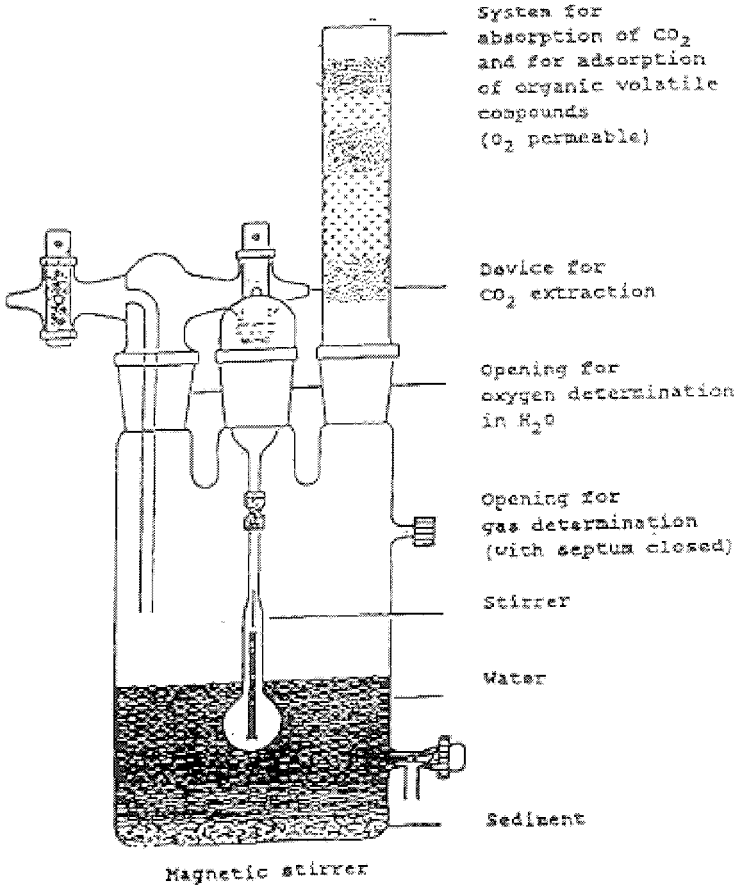


LEGEND (Anhang 2)

Air or nitrogen: Luft oder Stickstoff
Deionised water: deionisiertes Wasser
Inlet traps: Zuleitungsabscheider
Inlet manifold: Zufluß
Surface water: Oberflächenwasser
Sediment: Sediment
Incubation unit: Inkubationsgefäß
Safety trap: Sicherheitsabscheider
Volatile trap: Abscheider für flüchtige Produkte
Acquatic sediment degradation: Wasser/Sediment Abbau
Rig design: Versuchsaufbau
Aquarium valves: Ventil
Outlet manifold: Abfluß
Vacuum line: Vakuumleitung
Outlet traps: Abflußabscheider

ANHANG 3

BEISPIEL EINES BIOMETERSYSTEMS



LEGEND (Anhang 3)

System for absorption of CO_2 and for adsorption of volatile compounds (O_2 permeable): System zur Absorption von CO_2 und zur Adsorption flüchtiger Verbindungen (sauerstoffdurchlässig)
Device for CO_2 extraction: Gerät zur CO_2-Abscheidung
Opening for oxygen determination in H_2O: Öffnung zur Sauerstoffbestimmung im Wasser
Opening for gas determination (with septum closed): Öffnung zur Gasbestimmung (mit geschlossenem Septum)
Magnetic stirrer: Magnetrührer

ANHANG 4

BEISPIELRECHNUNG FÜR DIE APPLIKATIONSDOSIS IN TESTGEFÄSSEN

Zylinderinnendurchmesser:	= 8 cm
Höhe der Wassersäule ohne Sediment:	= 12 cm
Oberfläche: 3,142 x 4^2	= 50,3 cm^2
Applikationsrate: 500 g Testsubstanz/ha entspricht 5 µg/cm^2	
Gesamtmenge [µg]: 5 x 50,3	= 251,5 µg
Bezug der Gesamtmenge auf eine Wassersäulenhöhe von 100 cm: 12 x 251,5 ÷ 100	= 30,18 µg
Volumen der Wassersäule: 50,3 x 12	= 603 ml
Konzentration in Wasser: 30,18 ÷ 603	= 0,050 µg/ml oder 50 µg/l