

## I

*(Säädökset, jotka on julkaistava)*

**KOMISSION DIREKTIIVI 2004/73/EY,****annettu 29 päivänä huhtikuuta 2004,****vaarallisten aineiden luokitusta, pakkaamista ja merkintöjä koskevien lakien, asetusten ja hallinnollisten määräysten lähentämisestä annetun neuvoston direktiivin 67/548/ETY mukauttamisesta tekniikan kehitykseen kahdennenkymmenennenyhdeksännen kerran****(ETA:n kannalta merkityksellinen teksti)**

EUROOPAN YHTEISÖJEN KOMISSIO, joka

ottaa huomioon Euroopan yhteisön perustamissopimuksen,

ottaa huomioon vaarallisten aineiden luokitusta, pakkaamista ja merkintöjä koskevien lakien, asetusten ja hallinnollisten määräysten lähentämisestä 27 päivänä kesäkuuta 1967 annetun neuvoston direktiivin 67/548/ETY<sup>1</sup> ja erityisesti sen 28 artiklan,

sekä katsoo seuraavaa:

- (1) Direktiivin 67/548/ETY liite I sisältää vaarallisten aineiden luettelon sekä kunkin aineen luokitusta ja merkintöjä koskevat vaatimukset. Kyseistä luetteloa olisi ajantasaistettava siten, että se sisältäisi ilmoitetut uudet aineet ja muita olemassa olevia aineita, ja siinä olevia nimikkeitä olisi mukautettava tekniikan kehitykseen esimerkiksi vahvistamalla rajat tiettyjen aineiden pitoisuuksille ympäristössä. Lisäksi on tarpeen poistaa luettelosta tiettyjä aineita koskevat nimikkeet ja jakaa tietyt nimikkeet, koska luokitus ei koske enää kaikkia kyseisiin nimikkeisiin kuuluvia aineita. 1,3-butadieenia sisältävien aineiden merkintöjä olisi muutettava, koska kyseinen aine luokitellaan tässä direktiivissä mutageeniksi.
- (2) Direktiivin 67/548/ETY liitteessä V säädetään menetelmistä aineiden ja valmisteiden fysikaalis-kemiallisten ominaisuuksien, toksisuuden ja ekotoksisuuden määrittämiseksi. Kyseistä liitettä on syytä muuttaa koetarkoituksiin käytettävien eläinten määrän minimoimiseksi kokeisiin ja muihin tieteellisiin tarkoituksiin käytettävien eläinten suojelua koskevien jäsenvaltioiden lakien, asetusten ja hallinnollisten määräysten lähentämisestä 24 päivänä marraskuuta 1986 annetun neuvoston direktiivin 86/609/ETY<sup>2</sup> mukaisesti. Luvuissa B.1, B.4, B.5, B.31 ja B.35

<sup>1</sup> EYVL 196, 16.8.1967, s. 1. Direktiivi sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna komission direktiivillä 2001/59/EY (EYVL L 225, 6.8.2001, s. 1).

<sup>2</sup> EYVL L 358, 18.12.1986, s. 1. Direktiivi sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna Euroopan parlamentin ja neuvoston direktiivillä 2003/65/EY (EYVL L 230, 16.9.2003, s. 32).

esitettyjä subkroonista oraalista toksisuutta koskevia menetelmiä olisi tarkistettava. Lisäksi liitteeseen V olisi lisättävä luku B.42, jotta käyttöön saataisiin parannettu subkroonista oraalista toksisuutta koskeva menetelmä. Lopuksi liitteeseen V olisi lisättävä fysikaalis-kemiallisia ominaisuuksia käsittelevä luku A.21, subkroonista oraalista toksisuutta käsittelevä luku B.43 ja ekotoksisuutta käsittelevät luvut C.21–C.24, jotta voitaisiin määrittää ominaisuudet, joiden määrittämiseen liitteessä V tarkoitettujen menetelmät eivät vielä riitä.

- (3) Tässä direktiivissä säädetyt toimenpiteet ovat vaarallisten aineiden ja valmisteiden kaupan teknisten esteiden poistamiseksi annettujen direktiivien mukauttamista tekniikan kehitykseen käsittelevän komitean lausunnon mukaiset,

ON ANTANUT TÄMÄN DIREKTIIVIN:

*I artikla*

Muutetaan direktiivi 67/548/ETY seuraavasti:

- (1) Muutetaan liite I seuraavasti:

- a) korvataan yleisjohdannon huomautus K liitteen 1A tekstillä;
- b) korvataan tämän direktiivin liitteessä 1B olevia nimikkeitä vastaavat nimikkeet kyseisen liitteen tekstillä;
- c) lisätään tämän direktiivin liitteessä 1C olevat nimikkeet direktiivin 67/548/ETY liitteessä I olevien nimikkeiden järjestyksen mukaisesti;
- d) poistetaan nimikkeet, joiden indeksinumerot ovat 604-050-00-X, 607-050-00-8, 607-171-00-6 ja 613-130-00-3;
- e) korvataan nimike, jonka indeksinumero on 048-002-00-0, tämän direktiivin liitteessä 1D olevilla nimikkeillä, joiden indeksinumerot ovat 048-002-00-0 ja 048-011-00-X;
- f) korvataan nimike, jonka indeksinumero on 609-006-00-3, tämän direktiivin liitteessä 1D olevilla nimikkeillä, joiden indeksinumerot ovat 609-006-00-3 ja 609-065-00-5;
- g) korvataan nimike, jonka indeksinumero on 612-039-00-6, liitteessä 1D olevilla nimikkeillä, joiden indeksinumerot ovat 612-039-00-6 ja 612-207-00-9.

- (2) Muutetaan liite V seuraavasti:

- a) lisätään tämän direktiivin liitteen 2A teksti luvuksi A.21;
- b) korvataan luku B.1 bis tämän direktiivin liitteen 2B tekstillä;
- c) korvataan luku B.1 tris tämän direktiivin liitteen 2C tekstillä;
- d) korvataan luku B.4 tämän direktiivin liitteen 2D tekstillä;
- e) korvataan luku B.5 tämän direktiivin liitteen 2E tekstillä;

- f) korvataan luku B.31 tämän direktiivin liitteen 2F tekstillä;
- g) korvataan luku B.35 tämän direktiivin liitteen 2G tekstillä;
- h) lisätään tämän direktiivin liitteen 2H teksti luvuiksi B.42 ja B.43;
- i) lisätään tämän direktiivin liitteen 2I teksti luvuiksi C.21–C.24.

### *2 artikla*

1. Jäsenvaltioiden on saatettava tämän direktiivin noudattamisen edellyttämät lait, asetukset ja hallinnolliset määräykset voimaan viimeistään 31 päivänä lokakuuta 2005. Niiden on viipymättä toimitettava komissiolle kyseiset säädöstekstit sekä mainittujen säädösten ja tämän direktiivin säännösten välinen vastaavuustaulukko. Näissä jäsenvaltioiden antamissa säädöksissä on viitattava tähän direktiiviin tai niihin on liitettävä tällainen viittaus, kun ne virallisesti julkaistaan. Jäsenvaltioiden on säädettävä siitä, miten viittaukset tehdään.
2. Jäsenvaltioiden on toimitettava tässä direktiivissä tarkoitetuista kysymyksistä antamansa keskeiset kansalliset säännökset komissiolle.

### *3 artikla*

Tämä direktiivi tulee voimaan kahdentenakymmenentenä päivänä sen jälkeen, kun se on julkaistu *Euroopan unionin virallisessa lehdessä*.

### *4 artikla*

Tämä direktiivi on osoitettu kaikille jäsenvaltioille.

Tehty Brysselissä 29 päivänä huhtikuuta 2004.

*Komission puolesta*  
Margot WALLSTRÖM  
*Komission jäsen*

## **LIITE 1A**

**Huomautus K:**

Ainetta ei luokitella syöpää aiheuttavaksi tai perimää vaurioittavaksi, jos voidaan osoittaa, että aine sisältää alle 0,1 painoprosenttia 1,3-butadieenia (Einecs-nro 203-450-8). Jos ainetta ei luokitella syöpää aiheuttavaksi tai perimää vaurioittavaksi, siihen sovelletaan vähintään S-lausekkeita (2-)9-16. Tämä huomautus koskee tiettyjä liitteessä I mainittuja öljystä johdettuja monimutkaisia aineita.

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
006-005-00-4	Tiraami Tetrametyyliuraamidisulfidi		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	syaanivety ...%	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	Ziraami (ISO) Sinkkibis(dimetyyliiditiokarbamaa tti)		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	linuroni (ISO) 3-(3,4-dikloorifenyyli)-1-	E	206-356-5	330-55-2	Repr. Cat. 2; R61 Repr. Cat. 3; R62	T; N R: 61-22-40-48/22-62-		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	metoksi-1-metyyliurea				Carc. Cat. 3; R40 Xn; R22-48/22 N; R50-53	50/53 S: 53-45-60-61		
006-044-00-7	3-(4-isopropyylifenyyli)-1,1-dimetyyliurea isoproturoni		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-Bentsyyli-N,N-dipropyliiokarbamaatti Prosulfokarbi		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	klooridioksidi		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	klooridioksidi . . . %	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	ammoniaikki, vedetön		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; R23-34-50 0,5 % ≤ C < 5 %; Xn; R20-36/37/38	
007-008-00-3	hydratsiini	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	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
007-010-00-4	natriumnitriitti		231-555-9	7632-00-0	O; R8 T; R25 N; R50	O; T; N R: 8-25-50 S: (1/2-)45-61	0,1 % ≤ C < 0,25 %; T; R45 C ≥ 25 %; T; N; R25-50 5 % ≤ C < 25 %; T; R25 1 % ≤ C < 5 %; Xn; R22	
007-011-00-X	kaliiumnitriitti		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-dimetyylihydraatti	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	Isobutyylimitriitti	E	208-819-7	542-56-3	F; R11 Xn; R20/22 Carc. Cat. 2; R45 Mutat. Cat. 3; R68	F; T R: 11-20/22-45-68 S: 53-45		
007-027-00-7	1,6-bis(3,3-bis((1-Metyylipentyyli-idenimino)propyyli)ureido)heksaani		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	Vetyperoksidiliuos ... %	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	Sulfuryliidifluoridi		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	Fosfori, punainen		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	Tributyylifosfaatti		204-800-2	126-73-8	Carc. Cat. 3; R40 Xn; R22	Xn R: 22-38-40		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
015-015-00-8	Trikresyylifosfaatti; Tritolylifosfaatti o-o-o, o-o-m, o-o-p, o-m-m, o-m-p, o-p-p	C	201-103-5	78-30-8	Xi; R38 T; R39/23/24/25 N; R51-53	S: (2-)36/37-46 T; N R: 39/23/24/25-51/53 S: (1/2-)20/21-28-45-61	C ≥ 2,5 %; T; N; R39/23/24/25-51/53 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	Trikresyylifosfaatti; Tritolylifosfaatti 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 ≥ 2,5 %; Xn, N; R21/22-51/53 5 % ≤ C < 25 %; Xn; R21/22-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %; R52/53	
015-020-00-5	Mevinfossi 2-Metoksikarbonyyli 1-metyylivinyylidimetyylifosfaatti		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	Triklloorifoni Dimetyyli-2,2,2-trikloori-1-hydroksietyyliifosfaatti		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	Sulfoteppi O.O.O.O- Tetraetyyliiditiopyrofosfaatti		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	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnot	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
015-032-00-0	Protoaatti (ISO) <i>O,O</i> -Dietyyli- isopropylikarbamoyylimetyyli- sforiditioaatti		218-893-2	2275-18-5	T+; R27/28 R52-53	T+ R: 27/28-52/53 S: (1/2-)28-36/37-45- 61	0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-033-00-6	Foraatti (ISO) <i>O,O</i> - Dietyyliitiometyyli- fosforiditioaatti		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	Paratiioni (ISO) <i>O,O</i> -Dietyyli- <i>O</i> -4- nitrofenyyli- fosforitioaatti		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- 26/28-48/25-50-53 3 % ≤ C < 7 %: T; N; R21- 23/25-48/25-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T; N; R23/25- 48/25-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; N; R20/22-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; N; R20/22-51-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51- 53 0,00025 % ≤ C < 0,025 %: R52- 53	
015-035-00-7	Paratiioni- metyyli (ISO) <i>O,O</i> -Dimetyyli- <i>O</i> -4- nitrofenyyli- fosforitioaatti <i>O,O</i> -Dimetyyli		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	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinntät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
015-041-00-X	Malationi (ISO) 1,2-bis(Etoksikarbonsyyl)etyyli- <i>O,O</i> -dimetyyliifosforiditioaatti		204-497-7	121-75-5	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)24-60-61	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	
015-042-00-5	Klorioni <i>O</i> -(3-Kloori-4-nitrofenyyli)- <i>O,O</i> -dimetyyliifosforitioaatti		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; 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	
015-047-00-2	Etioni <i>S,S'</i> -metyleenidi(fosforiditioaatti)		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 0,00025 % ≤ C < 0,00025 %: R52-53	
015-052-00-X	Fenklorfossi <i>O,O</i> -Dimetyyli- <i>O</i> -2,4,5-trikloorifenyyliifosforitioaatti		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	Naledi 1,2-Dibromi-2,2-dikloorietylidimetyyliifosfaatti		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	Dioksationi 1,4-Dioksaani-2,3-diyyli- <i>O,O,O',O'</i> -tetraetylidifosforiditioaatti		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-	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
015-065-00-0	S-[2-(Etyylisulfoniyyl)etyyli]- O,O-dimetyylifosforiditioaatti		-	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	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; R50-53 0,0025% ≤ C < 0,025%: N; R51-53 0,00025% ≤ C < 0,0025%: R52-53	
015-076-00-0	O,O-Dietyyli-O-(4- metyylidikumarini-7- yyl)fosforitioaatti O,O-dimetyylifosforiditioaatti		-	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	Demetoni-S-metyylisulfoni S-2-Etyylisulfoniyylityyli O,O-dimetyylifosforitioaatti		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	Bensulidi O,O-Di-isopropyyli-2- fenyylisulfoniyyliaminoetyylifosf oriditioaatti		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	Klooriprifossi O,O-Dietyyli-O-3,5,6-trikloori-2- pyridyylifosforitioaatti		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 0,00025% ≤ C < 0,00025%: R52-53	
015-095-00-4	Metamidofossi (ISO);		233-606-0	10265-92-6	T+; R26/28	T+; N		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
015-096-00-X	<i>O,S</i> -Dimetyyliifosforiamiditrioaatti		219-679-1	2497-07-6	T; R24 N; R50	R: 24-26/28-50 S: (1/2-)28-36/37-45-61	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 < 0,1 %: R52-53	
015-097-00-5	Fentoaatti Etyyli-2- (dimetoksisofinotioyylitio)-2- fenyyliasetaatti		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	Foksimi a-(Dietoksisofinotioyylloksi- imino)fenyyliasetonitriili		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	Fosmetti <i>O,O</i> -Dimetyyliifaali- imidometyyli-S-fosforditrioaatti		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	trifenyylifosfiitti		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	Etoprofossi		236-152-1	13194-48-4	T+; R26/27	T+; N		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	Etyyli- <i>S,S</i> -dipropyliifosforiditioaatti				T; R25 R43 N; R50-53	R: 25-26/27-43-50/53 S: (1/2-)27/28-36/37/39-45-60-61		
015-108-00-3	Bromofossi <i>O</i> -4-Bromi-2,5-dikloorifenylyli- <i>O,O</i> -dimetyyliifosforitioaatti		218-277-3	2104-96-3	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)36-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,25 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-109-00-9	Krotoksifossi 1-Fenylytietyyli-3-(dimetoksisfosfinyylifloksi)isokrotonaatti		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	Syanofenfossi <i>O</i> -4-Syanofenylyli- <i>O</i> -etyyliifenyliifosfonotioaatti		-	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	Klornefossi <i>S</i> -Kloorimetyyli- <i>O,O</i> -dietyyliifosforiditioaatti		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	Kloritofossi		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	Etrimfossi <i>O</i> -6-Etoksi-2-etyylipyrimidin-4-yyli- <i>O,O</i> -dimetyyliifosforitioaatti		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	Fenamifossi Etyyli-4-metyylitio- <i>m</i> -tolyyliisopropyliifosforiamidaatti		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-	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
015-126-00-1	Heptenofossi 7-Klooribis(2,3,6-dien-2,6-dien-6-yyliidimetyylifosfaatti)		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	53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; R52-53	
015-127-00-7	Ipobenfossi S-Bentsyyli-O,O-di-isopropyylifosforitoaatti		247-449-0	26087-47-8	Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)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	
015-128-00-2	IPSP S-Etyylisulfinyylimetyyli-O,O-di-isopropyylifosforiditioaatti		-	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	Isopenfossi O-Etyyli-O-2-isopropoksisikarbonyylimetyyli-isopropyylifosforiamiditioaatti		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	Isoksattoni O,O-Dietyyli-O-5-fenyylimisoksaatsol-3-yyliifosforitioaatti		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	Metyylidikarbofenotioni S-(Kloorifenyylimetyyli)-O,O-		-	953-17-3	T; R24/25 N; R50-53	T; N R: 24/25-50/53	C ≥ 25 %; T; N; R24/25-50-53 3 % ≤ C < 25 %; Xn, N;	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	dimetyylifosforiditioaatti					S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	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	Piperofossi S-2- Metyylipiperidiinokarbonyyliimet yyli-O-O- dipropyylifosforiditioaatti		-	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 0,025 % ≤ C < 0,25 %; R52-53	
015-134-00-5	Pirimifossi-metyyli O-(2-Dietyyliamino-6- metyylipyrimidin-4-yyli)-O-O- dimetyylifosforitioaatti		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	Profenofossi (ISO) O-(4-Bromi-2-kloorifenyyli)-O- etyyli-5-propyyliifosforitioaatti		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	Propetamfossi Propetamfossi <i>trans</i> -Isopropyyli- 3-    (etyyliamino)metoksisfifinotio yyli oksi krotonaatti		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	Kinalfossi O,O-Dietyyli-O-kinoksalin-2- yyliifosforitioaatti		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	Terbufossi (ISO) S- <i>tert</i> -Butyylitiometyyli-O-O- dietyylifosforiditioaatti		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-	C ≥ 7 %; T+; N; R27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %; T; N; R24/25- 50-53	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
						61	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-kloorietyyliifosfonihappo etefoni		240-718-3	16672-87-0	Xn; R20/21 C; R34 R52-53	C R: 20/21-34-52/53 S: (1/2-)26-28-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: C; R20/21-34-52/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R34 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38	
015-179-00-0	UVCB kondensointituote: tetrakis-hydroksimetyyliifosfoniumkloridi, urea ja tiilattu, hydrogenoitu C16-18 näntyöljyn alkyyliaminiini		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	rikkivety vetysulfidi		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	ammoniumsulfidi ((NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S <sub>x</sub> ) ammoniumpolysulfidit		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	rikkikloridi, dimikkidikloridi		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	rikkidikloridi		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	rikkitetraakloridi		-	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	metaamitoli Metyylimerkaptaani		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	C ≥ 25 %: C; N; R34-50 10 % ≤ C < 25 %: C; R34 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
016-023-00-4	dimetyylisulfaatti	E	201-058-1	77-78-1	Carc. Cat. 2; R45 Mutta. 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- R68 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45- R68	
016-059-00-0	N,N,N',N'- Tetrametyyliditiobis(etyleeni)dia- miimidihydrokloridi		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	Bariumkloraatti		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	Kaliumkloraatti		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	Natriumkloraatti		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	Natriumhypokloriitti, liuos, aktiivikloorin määrä ...%	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	Kalsiumhypokloriitti, liuos, (aktiivikloorin määrä >39 %)		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	kromitrioksidi	E	215-607-8	1333-82-0	O; R9 Carc. Cat. 1; R45 Mutta. Cat. 2; R46	O; T+; N R: 45-46-9-24/25-26- 35-42/43-45-46-48/23-50/53- 62	C ≥ 25 %: T+; N; R24/25-26- 35-42/43-45-46-48/23-50/53- 62	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnot	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
					Repr. Cat. 3; R62 T+; R26 T; R24/25-48/23 C; R35 R42/43 N; R50-53	50/53 S: 53-45-60-61	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 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	kaliumdikromaatti	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	3

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
024-003-00-1	ammoniumdikromaatti	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	0,1 % ≤ C < 0,2 %; T; R45-46-20  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; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 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
024-004-00-7	natriumdikromaatti	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-	3

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
024-004-01-4	natriumdikromaatti, dihydraatti	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; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; R50-53	T+; N; O R: 45-46-60-61-8-21- 25-26-34-42/43-48/23- 50/53 S: 53-45-60-61	51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; 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
024-011-00-5	Ammoniumbis(1-(3,5-dinitro-2- oksidifenyylatso)-3-(N- fenyylikarbonyyli)-2- naftolaatti)kromaatti (1-)		400-110-2	-	F; R11 N; R50-53	F; N R: 11-50/53 S: (2-)33-60-61	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	
024-018-00-3	Natriumkromaatti	E	231-889-5	7775-11-3	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat.2; R60-61	T+; N R: 45-46-60-61-21-25- 26-34-42/43-48/23-	C ≥ 25 %: T+; N; R45-46-60- 61-21-25-26-34-42/43-48/23- 50/53	3

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
					T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; R50-53	50/53 S: 53-45-60-61	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	
027-004-00-5	koboltriidikloridi	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	koboltrisulfaatti	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	Dikuparioksidi Kupari(I)oksididi		215-270-7	1317-39-1	Xn; R22 N; 50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)22-60-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
030-001-00-1	Sinkkijauhe, sinkkipöly (stabiloimaton)		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	Sinkkijauhe sinkkipöly (stabiloitu)		231-175-3	7440-66-6	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
030-003-00-2	sinkkikloridi		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	sinkkisulfaatti (mono-, hexa- ja heptahydraatti) [1] sinkkisulfaatti (vedetön) [2]		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		
033-001-00-X	Arseni		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	arseenin yhdisteet paitsi muualla tässä luettelossa mainitut	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	I
042-002-00-4	rettrakis(dimetyyldi)tetraalkyyliammonium)heksa- $\mu$ -oksoetra- $\mu$ -3-okso-di- $\mu$ -5-okso-tetra-dekaokso-oktamolybdaatti(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	kadmiumyhdisteet paitsi kadmiumsulfoselenidi (xCdS,yCdSe), kadmiumsulfidin ja sinkkisulfidin seos (xCdS,yZnS), kadmiumsulfidin ja elohopeasulfidin seos (xCdS,yHgS) sekä muualla tässä luettelossa mainitut	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	I
048-003-00-6	kadmiumdi-formiaatti kadmiumformiaatti		224-729-0	4464-23-7	T; R23/25 R33 Xn; R68	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;	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinmät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
048-004-00-1	kadmiumsyanidi		208-829-1	542-83-6	T+; R26/27/28 R32 R33 Xn; R68 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-32-33-68-50/53 S: (1/2)-7-28-29-45-60-61	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	
048-005-00-7	kadmiumheksafluorisiliikaatti(2-) kadmiumfluorisiliikaatti		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; R20/21/22-33	
048-006-00-2	kadmiumfluoridi	E	232-222-0	7790-79-6	Carc. Cat. 2; R45 Mutta. 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	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnot	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
048-007-00-8	kadmiumjodidi		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	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	
048-008-00-3	kadmiumkloridi	E	233-296-7	10108-64-2	Carc. Cat. 2; R45 Mutu. 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; 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	
048-009-00-9	kadmiumsulfatti	E	233-331-6	10124-36-4	Carc. Cat. 2; R45 Mutu. 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	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
048-010-00-4	Kadmiumsulfidi	E	215-147-8	1306-23-6	Carc. Cat. 2; R45 Mutat. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62-63 T; R48/23/25 Xn; R22 R53	T; N R: 45-22-48/23/25-62-63-68-53 S: 53-45-61	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	I
050-001-00-5	tinatetrakloridi stannikloridi		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	trietyylitiinan yhdisteet paitsi muualla tässä luettelossa mainitut	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	I
050-006-00-2	trietyylitiinan yhdisteet paitsi muualla tässä luettelossa mainitut	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; R26/27/28-52/53	I

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
050-007-00-8	tripropyylimän yhdisteet paitsi muualla tässä luettelossa mainitut	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	R23/24/25-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R23/24/25 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22	I
050-008-00-3	tributyylimän yhdisteet paitsi muualla tässä luettelossa mainitut	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	I
050-009-00-9	fluoritriptyylistannaami Heksapentyyliidistannoksaani [1] heksapentyyliidistannoksaani [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	I
050-010-00-4	fluoritriheksyylistannaami		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	I
050-011-00-X	trifenyylimän yhdisteet paitsi muualla tässä luettelossa mainitut	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	I

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
050-012-00-5	tetrasykloheksyylistamaani [1] klooritrisykloheksyylistamaani [2] butyyliitrisykloheksyylistamaani [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	I
050-013-00-0	Trioktyylitiinan yhdisteet paitsi muualla tässä luettelossa mainitut	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	I
051-002-00-3	antimonipentakloridi		231-601-8	7647-18-9	C; R34 N; R51-53	C; N R: 34-51/53 S: (1/2-)26-45-61	C ≥ 25 %: C, N; R34-51/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R34-52/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: R52/53	
051-003-00-9	antimonin yhdisteet paitsitetroksidi (Sb <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ),pentoksidi (Sb <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ),trisulfidi (Sb <sub>2</sub> S <sub>3</sub> ),pentasulfidi (Sb <sub>2</sub> S <sub>5</sub> ) ja muualla luettelossa mainitut	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	elohopean epäorgaaniset yhdisteet paitsi elohopea(H)sulfidi ja muualla luettelossa mainitut	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	elohopean orgaaniset yhdisteet paitsi muualla luettelossa mainitut	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;	I

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
080-007-00-3	dimetyylietohopea [1] dietyylietohopea [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	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
082-001-00-6	lyijy-yhdisteet paitsi muualla luettelossa mainitut	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	I
082-002-00-1	lyijyalkyyliit	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	I
601-010-00-3	Etyteeni		200-815-3	74-85-1	F+; R12 R67	F+ R: 12-67 S: (2-)9-16-33-46		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
601-014-00-5	isopreeni 2-metyyli-1,3-butadieeni	D	201-143-3	78-79-5	F+; R12 Carc. Cat. 2; R45 Mutu. Cat. 3; R68 R52-53	F+; T R: 45-12-68-52/53 S: 53-45-61		
601-017-00-1	sykloheksaani		203-806-2	110-82-7	F; R11 Xn; R65 Xi; R38 R67 N; R50-53	F; Xn; N R: 11-38-65-67-50/53 S: (2-)9-16-25-33-60-61-62		4 6
601-020-00-8	Bentseeni	E	200-753-7	71-43-2	F; R11 Carc. Cat. 1; R45 Mutu. Cat. 2; R46 T; R48/23/24/25 Xn; R65 Xi; R36/38	F; T R: 45-46-11-36/38-48/23/24/25-65 S: 53-45		
601-021-00-3	Tolueneeni		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	mesityleeni 1,3,5-trimetyyli <b>l</b> bentseeni		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-fenyylipropreeni α-metyylistyreeni		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-metyylistyreeni		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	bentsol <i>de</i> /kryseeni		200-028-5	50-32-8	Carc. Cat. 2; R45 Mutu. 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; R45-46-53-60-61 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-53-60-61 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
601-037-00-0	n-heksaani		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	Dibentsylantraseeni		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	kryseeni		205-923-4	218-01-9	Carc. Cat. 2; R45 Mutta. Cat. 3; R68 N; R50-53	T; N R: 45-68-50/53 S: 53-45-60-61		
601-052-00-2	Naftaleeni		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	Nonylfenoli 111 4-Nonylfenol, haaraketjuiset [2]		246-672-0 111 284-325-5 [2]	25154-52-3 111 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	dibromimetaani metyleenidibromidi		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	hiilitetrakloridi		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-etyleenidibromidi	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	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
602-011-00-1	1,1-dikloorietaani		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	0,1 % ≤ C < 1 %; T; R45-20/21/22 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-Trikloorietaani		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-Tetrakloorietaani		201-197-8	79-34-5	T+; R26/27 N; R51-53	T+; N R: 26/27-51/53 S: (1/2-)38-45-61	C ≥ 25 %; T+; N; R26/27-51/53 7 % ≤ C < 25 %; T+; R26/27-52/53 2,5 % ≤ C < 7 %; T; R23/24-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %; T; R23/24 0,1 % ≤ C < 1 %; Xn; R20/21	
602-016-00-9	1,1,2,2-tetrabromietaani		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	Pentakloorietaani		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-Bromipropaani		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-Dikloorietyleeni	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-dikloorietyleeni  1  <i>cis</i> -dikloorietyleeni	C	208-750-2  1  205-859-7	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	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	[2] <i>trans</i> -dikloorietyleeni [3]		[2] 205-860-2 [3]					
602-029-00-X	3-Klooripropenei Allyylkloridi	D	203-457-6	107-05-1	F; R11 Carc. Cat. 3; R40 Mutua. 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	klooribentseeni		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-Diklooribentseeni <i>O</i> -Diklooribentseeni		202-425-9	95-50-1	Xn; R22 Xi; R36/37/38 N; R50-53	Xn; N R: 22-36/37/38-50/53 S: (2-)23-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-36/37/38-50/53 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-36/37/38-51/53 5 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R22-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53	
602-035-00-2	1,4-Diklooribentseeni <i>p</i> -Diklooribentseeni		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	Kloropreeni (stabiloitu) 2-Klooributa-1,3-dieeni	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	Polyklooribifenyyliit 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	Lindaani $\gamma$ -HCHy-BHCy-1,2,3,4,5,6- Heksakloorisykloheksaani $\alpha$ ,2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ - Heksakloorisykloheksaani		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	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
602-062-00-X	1,2,3-Triklooripropaani	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	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	
602-073-00-X	1,4-Diklooribut-2-eeni	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 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	Pentanolin isomeerit, paitsi muualla tässä luettelossa mainitut	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-Metyyli-2-butanoli		200-908-9	75-85-4	F; R11 Xn; R20 Xi; R37/38	F; Xn R: 11-20-37/38 S: (2-)46		
603-029-00-2	bis(2-Kloorietyyli)jeetteri		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-Aminoetanoli; etanolamiini		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-Dimetoksetaani;		203-794-9	110-71-4	Repr. Cat. 2; R60	F; T		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	etyleeni glykolidimetyylieteeri				Repr. Cat. 2; R61 F; R11 R19 Xn; R20	R: 60-61-11-19-20 S: 53-45		
603-054-00-9	Dibutyyleeteeri		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-epoksipropan-1-oli glysidoli	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	Vinyylisykloheksaani diepoksidi		203-437-7	106-87-6	T; R23/24/25 Xn; R68	T R: 23/24/25-68 S: (1/2-)23-24-45	C ≥ 1 %; T; R23/24/25-68 0,1 % ≤ C < 1 %; Xn; R20/21/22	
603-067-00-X	Fenyyliglysydylieteeri 2,3-Epoksipropyyli fenyyleeteeri 1,2-Epoksi-3-fenoksipropani	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-metyylipropaanoli		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	bisfenoli-A-epikloorihydrini, reaktiivituote, epoksihartsi (keskimääräinen molekyylipaino ≤ 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	2-Butyyini-1,4-diooli	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	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
603-095-00-2	2-(Propyylioksi)etanoli		220-548-6	2807-30-9	Xn; R21 Xi; R36	Xn R: 21-36 S: (2-)26-36/37-46		
603-105-00-5	Furaani	E	203-727-3	110-00-9	F+; R12 R19 Carc. Cat. 2; R45 Mutua. 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	Fenoli		203-632-7	108-95-2	Mutua. 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	pyregalloli 1,2,3-trihydroksibentseeni		201-762-9	87-66-1	Mutua. 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 1 % ≤ C < 10 %: Xn; R68	
604-010-00-1	Resorsinoli 1,3-Bentsenidioli		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-Kloori- <i>o</i> -kresoli 4-Kloori-2-metyylifenoli		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-tetraakloorifenoli		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	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
604-014-00-3	kloorikresoli 4-kloori-3-metyylifenoli		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'-Metyleenibis-(3,4,6-trikloorifenoli) Heksaklorofeni		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'-Trikloorifenoli		202-467-8	95-95-4	Xn; R22 Xi; R36/38 N; R50-53	Xn; N R: 22-36/38-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-36/38-50/53 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-36/38-51/53 5 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R36/38-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53	
604-030-00-0	bisfenoli A 4,4'-Isopropylideenidifenoli		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-Trioksaani Trioksimetyleeni		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	glyoksaali...%	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	safroli 5-allyyli-1,3-bentsodioksoli	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	glutaraldehydi pentaanidiaali		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	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
605-025-00-6	klooriasetaldehydi		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	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	
606-037-00-4	triadimefoni (ISO) 1-(4-Kloorifenoksi)-3,3-dimetyyli-1-(1,2,4-triaatsol-1-yyli)butanoni		256-103-8	43121-43-3	Xn; R22 R43 N; R51-53	Xn; N R: 22-43-51/53 S: (2)-24-37-61	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	
606-048-00-4	2'-aniliini-3'-metyyli-6'-dipentyyliaminospiro(isobentsofuuraani-1(11),9'-ksanteeni)-3-oni		406-480-1	-	R53	R: 53 S: 61		
607-004-00-7	Trikloorietikkahappo		200-927-2	76-03-9	C; R35 N; R50-53	C; N R: 35-50/53 S: (1/2)-26-36-36/37/39-45-60-61	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	Metyyli-klooriformiaatti		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	Mekoproppi   1   ja sen suolat		230-386-8	7085-19-0   1	Xn; R22	Xn; N	C ≥ 25 %; Xn, N; R22-38-41-	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnot	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	2-(4-Kloori-o-tolyylioksi)propionihappo(RS) [1] 2-(4-Kloori-o-tolyylioksi)propionihappo [2]		[1] 202-264-4 [2]	93-65-2 [2]	Xi; R38-41 N; R50-53	R: 22-38-41-50/53 S: (2-)13-26-37/39-60-61	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 n suolat ja esterit		202-365-3	94-81-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-061-00-8	Akryylihappo Prop-2-eenihappo	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	bentsyylikloroformiaatti		207-925-0	501-53-1	C; R34 N; R50-53	C: N R: 34-50/53 S: (1/2-)26-45-60-61	C ≥ 25 %; C, N; R34-50/53 10 % ≤ C < 25 %; C, N; R34-51/53 5 % ≤ C < 10 %; Xi, N; R36/37/38-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %; N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; R52/53	
607-072-00-8	2-hydroksietyyliakrylaatti	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	dialyyliitaatti		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	trifluoretikkahappo . . . %	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	peretikkahappo . . . %		201-186-8	79-21-0	R10	O; C; N	C ≥ 25 %; C, N; R20/21/22-35-	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
607-107-00-7	2-Etyyliheksyyliakrylaatti	D	203-080-7	103-11-7	O; R7 Xn; R20/21/22 C; R35 N; R50	R: 7-10-20/21/22-35-50 S: (1/2-3)/7-14-36/37/39-45-61	50 10 % ≤ C < 25 %; C; R20/21/22-35 5 % ≤ C < 10 %; C; R34 1 % ≤ C < 5 %; Xi, R36/37/38	
607-113-00-X	isobutyylimetakrylaatti	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	sykloheksyyliakrylaatti	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	Akryylihapon monoalkyyli- tai monoaryyli- tai monoalkyyliaryyliesterit, paitsi muualla tässä luettelossa mainitut	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 2,5 % ≤ C < 10 %; R52/53	
607-151-00-7	propargiitti (ISO) 2-(4-tert- butyylifenoksi)sykloheksyyliprop -2-ynyyli-sulfidi		219-006-1	2312-35-8	Car. 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	Trimetylenidiiamiinitetraetikkaha ppo		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	iso-oktyyliakrylaatti		249-707-8	29590-42-9	Xi; R36/37/38	Xi; N	C ≥ 25 %; Xi, N; R36/37/38-	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
607-245-00-8	<i>tert</i> -butyyliakrylaatti	D	216-768-7	1663-39-4	N; R50-53 F; R11 Xi; R20/21/22 Xi; R37/38 R43 N; R52-53	R: 36/37/38-50/53 S: (2-)26-28-60-61 F; Xi R: 11-20/21/22-37/38-43-52/53 S: (2-)16-25-37-61	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	
607-247-00-9	dodekyylimetakrylaatti		205-570-6	142-90-5	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 < 2,50 %: R52/53	
607-249-00-X	(1-metyyli-1,2-etaanidiyyli)bis[oksi(metyyli-2,1-etaanidiyyli)]diakrylaatti		256-032-2	42978-66-5	Xi; R36/37/38 R43 N; R51-53	Xi; N R: 36/37/38-43-51/53 S: (2-)24-37-61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37/38-43-51/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/37/38-43-52/53 2,5 % ≤ C < 10 %: Xi; R43-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43	
608-003-00-4	Akrylnitriili	D E	203-466-5	107-13-1	F; R11 Carc. Cat. 2; R45 T; R23/24/25 37/38-41-43-51/53 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	Bromoksiniiili 3,5-Dibromi-4-hydroksibentsonitriili		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-	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
608-007-00-6	Ioksimiili 4-Hydroksi-3,5-dijodibensoniitrili		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	43-63-50-53 3 % ≤ C < 5 %: T; N; R22-23-43-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: T; N; R23-43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; N; R23-43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; N; R20-51-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20-52-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: R52-53	
608-010-00-2	metakryyliiniitrili 2-metyyli-2-propeeniniitrili	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 ≥ 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	
608-014-00-4	Klorotaloniili Tetrakloori-isofaaliiniitrili		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	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
608-017-00-0	Bromoksiniiili-oktanoaatti 2,6-Dibromi-4-syaanifenylioktanoaatti		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	Ioksiniiioktanoaatti 4-Syaani-2,6-dijodifenylioktanoaatti		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-(Diainometyleeniamino)tiatsoli-4-yyliimetyliio)propionitriili		403-710-2	76823-93-3	Xn; R22 R43	Xn R: 22-43 S: (2-)22-24-37		
609-007-00-9	2,4-dinitrotolueeni dinitrotolueeni, tekninen laatu [1] dinitrotolueeni [2]	E	204-450-0 [1] 246-836-1 [2]	121-14-2 [1] 25321-14-6 [2]	Carc. Cat. 2; R45 Mutta. 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	Dinokappi	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	Kvintotseeni Pentakloorinitrobenseeni		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-dinitrotolueeni	E	210-106-0	606-20-2	Carc. Cat. 2; R45 Mutta. Cat. 3; R68	T R: 45-23/24/25-48/22-		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
609-050-00-3	2,3-Dinitrotolueni	E	210-013-5	602-01-7	Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 R52-53	62-68-52/53 S: 53-45-61		
609-051-00-9	3,4-Dinitrotolueni	E	210-222-1	610-39-9	Carc. Cat. 2; R45 Mutu. 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-Dinitrotolueni	E	210-566-2	618-85-9	Carc. Cat. 2; R45 Mutu. 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-Dinitrotolueni	E	210-581-4	619-15-8	Carc. Cat. 2; R45 Mutu. 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		
609-056-00-6	2,2-Dibromi-2-nitrotanoli		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: 22-22-35-40-43- 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 %: Xi, N; R36/37/38-40-43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R36/37/38-40-43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	
610-005-00-5	1-kloori-4-nitrobenseeni		202-809-6	100-00-5	Carc. Cat. 3; R40 Mut. Cat. 3; R68 T; R23/24/25	T; N R: 23/24/25-40- 48/20/21/22-68-51/53		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
611-001-00-6	atsobentseeni	E	203-102-5	103-33-3	Xn; R48/20/21/22 N; R51-53 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20/22-48/22 N; R50-53	S: (1/2-)28-36/37-45-61 T; N R: 45-20/22-48/22-68-50/53 S: 53-45-60-61		
611-060-00-8	Seos: natrium-5-[8-[4-[4-[4-[7-(3,5-dikarboksylaatti-fenyyliatso)-8-hydroksi-3,6-disulfonaattonafalen-1-ylliaminol]-6-hydroksi-1,3,5-triatsin-2-yyli]-2,5-dimetyylipiperatsini-1-yyli]-6-hydroksi-1,3,5-triatsin-2-yyliamino]-1-hydroksi-3,6-disulfonaattonafalen-2-yyliatso]isoffalaatti; ammonium-5-[8-[4-[4-[4-[7-(3,5-dikarboksylaattifenyyliatso)-8-hydroksi-3,6-disulfonaattonafalen-1-ylliaminol]-6-hydroksi-1,3,5-triatsin-2-yyli]-2,5-dimetyylipiperatsini-1-yyli]-6-hydroksi-1,3,5-triatsin-2-yyliamino]-1-hydroksi-3,6-disulfonaattonafalen-1-yyliatso]isoffalaatti; 5-[8-[4-[4-[4-[7-(3,5-dikarboksylaattifenyyliatso)-8-hydroksi-3,6-disulfonaattonafalen-1-ylliaminol]-6-hydroksi-1,3,5-triatsin-2-yyli]-2,5-dimetyylipiperatsini-1-yyli]-6-hydroksi-1,3,5-triatsin-2-yyliamino]-1-hydroksi-3,6-disulfonaattonafalen-1-yyliatso]isoffalaatti; 5-[8-[4-[4-[4-[7-(3,5-dikarboksylaattifenyyliatso)-8-hydroksi-3,6-disulfonaattonafalen-1-ylliaminol]-6-hydroksi-1,3,5-triatsin-2-yyli]-2,5-dimetyylipiperatsini-1-yyli]-6-hydroksi-1,3,5-triatsin-2-yyliamino]-1-hydroksi-3,6-disulfonaattonafalen-2-yyliatso]isoffaalihappona		413-180-4	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
611-063-00-4	trinatrium-14-(8-asetyyliamino-3,6-disulfonaatto-2-naftyyliatso)-4"-(6-bentsyyliamino-3-sulfonaatto-2-naftyyliatso)bifenyyli-1,3,3',1"-tetraolaatto-O',O'',O''',O''''kupaari(II)		413-590-3	164058-22-4	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
612-008-00-7	Aniliini		200-539-3	62-53-3	Carc. Cat. 3; R40 Muta. Cat. 3; R68 T; R23/24/25-48/23/24/25 X1; 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	aniliinin suolat	A	-	-	Carc. Cat. 3; R40 Muta. Cat. 3; R68 T; R23/24/25 X1; 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	kloorianiliini, mono- [1], di- [2] ja tri- [3]	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-naftyyliamiini	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	Fenyylhydratsiini [1] Fenyylhydratsiniumkloridi [2] Fenyylhydratsiinihydrokloridi [3] Fenyylhydratsiniumsulfaatti (2:1) [4]	E	202-873-5 [1] 200-444-7 [2] 248-259-0 [3] 257-622-2 [4]	100-63-0 [1] 59-88-1 [2] 27140-08-5 [3] 52033-74-6 [4]	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 T; R23/24/25-48/23/24/25 X1; R36/38 R43 N; R50	T; N R: 45-23/24/25-36/38-43-48/23/24/25-68-50 S: 53-45-61		
612-025-00-X	nitrotoluidiini	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-Metoksiamiini O-Amisidiini	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	bentsidiini	E	202-199-1	92-87-5	Carc. Cat. 1; R45	T; N	C ≥ 25 %; T; N; R45-22-50/53	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	4,4'-diaminobifenyyli				Xn; R22 N; R50-53	R: 45-22-50/53 S: 53-45-60-61	2,5 % ≤ C < 25 %; T, N; R45-51/53 0,01 % ≤ C < 2,5 %; T; R45	
612-051-00-1	4,4'-Diaminodifenyyliametaani 4,4'-Metyleenidiamiini	E	202-974-4	101-77-9	Carc. Cat. 2; R45 Mutu. 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-Dietyyliamiini		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 %; Xi; R20/21/22-33-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %; Xi; R20/21/22-33	
612-056-00-9	N,N-dimetyyli-p-toluidiini [1] N,N-dimetyyli-m-toluidiini [2] N,N-dimetyyli-o-toluidiini [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 %; Xi; R20/21/22-33	
612-059-00-5	3,6-Diatsaoktaanietyleenidiamiini Trietyleenitetramiini		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-Triatsaundekametyleenidiamiini Tetraetyleenipentamiini		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 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-Tetraatsatradekametyleenidiamiini Pentaetyleeniheksamiini		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-	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
612-065-00-8	polyeteeni-polyamiini paitsi muualla tässä liitteessä mainitut		-	-	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	51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	
612-066-00-3	disykloheksyyliamiini		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-aminomeyyli-3,5,5-trimetyylisykloheksyyliamiini isoforonidiamiini		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	Dimetyliinitrosamiini N-Nitrosodimetyyliamiini	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; R45-22-23-48/22-52/53 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	Amitratsi N,N-bis(2,4-Ksyyli- iminomeyyli)metyyliamiini		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-	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-43-48/22-50-53 10 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R43-	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
612-087-00-8	guatsatiini		236-855-3	13516-27-3	T+; R26 Xn; R21/22 Xi; R37/38-41 N; R50-53	36/37  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	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	
612-094-00-6	4-(2-Kloori-4-trifluorimetyyli)fenoksi-2-fluoriamiinihydrokloridi		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	amiini, polyeteenipoly-: 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	<i>N</i> -isopropyyli- <i>N'</i> -fenyylip-fenyleenidiamiini		202-969-7	101-72-4	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)24-37-60-61	C ≥ 25 %; Xn; N; R22-43-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %; Xi; N; R43-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; Xi; R43-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %; Xi; R43	
612-151-00-5	diaminotoluenei [1] [2] [3]	E	246-910-3 [1] [2] [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-Trikloori-1,3,5-triaatsiini Syanuryylikloridi		203-614-9	108-77-0	T+; R26 Xn; R22	T+; C R: 14-22-26-34-43	C ≥ 25 %; T+; R22-26-34-43 10 % ≤ C < 25 %; T+; R26-34-	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
613-011-00-6	Amitroli 1,2,4-Triatsooli-3-yyliamiini		200-521-5	61-82-5	C; R34 R43 R14 Repr. Cat.3; R63 Xn; R48/22 N; R51-53	Xn; N R: 48/22-63-51/53 S: (2-)13-36/37-61	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	
613-033-00-6	2-Metyyliatsiriidiini Propyleeni-imini	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	Atsakonatsoli 1-[(2-(2,4-Dikloorifenyli)-1,3-dioksolan-2-yyli]metyyli]-1H-1,2,4-triatsooli		262-102-3	60207-31-0	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)46		
613-043-00-0	imatsaliilisulfaatti 1-[2-(allylioksi)etyyli]-2-(2,4-dikloorifenyli)-1H-imidatsoliumvety sulfaatti [1] (±)-1-[2-(allylioksi)etyyli]-2-(2,4-dikloorifenyli)-1H-imidatsoliumvety sulfaatti [2]		261-351-5 [1] 281-291-3 [2]	58594-72-2 [1] 83918-57-4 [2]	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)24/25-37-46-60-61		
613-048-00-8	Karbandatsiimi Metyylibensimidatsol-2-yylikarbamaatti		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	Benomyyli Metyyli-1-		241-775-7	17804-35-2	Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat.2; R60-61	T; N R: 46-60-61-37/38-43-	C ≥ 20%: T; N; R46-60-61-37/38-43-50-53	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	(butyylikarbamoyyli)bentsimidatsol-2-yylikarbamaatti				Xi; R37/38 R43 N; R50-53	50/53 S: 53-45-60-61	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	Molinaatti S-Etyylipiperhydroatseptiini-1-karbotioaatti		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: 20/22-40-43-48/22-43-48/22-62-50-53 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-Fenoksibensyyli-3-(2,2-dikloorivinyli)-2,2-dimetyylisyklopropaniikarboksyli-aatti		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-Dikloori-5-etyyli-5-metyyli-imidatsolidiini-2,4-dioni		401-570-7	89415-87-2	O; R8 T; R23 C; R34 Xn; R22 R43 N; R50	O; T; N R: 8-22-23-34-43-50 S: (1/2-)8-26-36/37/39-45-61		
613-088-00-6	1,2-bentsiatsolin-3(2H)-oni 1,2-bentsiatsolin-3-oni		220-120-9	2634-33-5	Xn; R22 Xi; R38-41 R43 N; R50	Xn; N R: 22-38-41-43-50 S: (2-)24-26-37/39-61-43	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	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
613-112-00-5	2-oktyyli-2 <i>H</i> -isotiatsoli-3-oni		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	Fenpropimorfi cis-4-[3-( <i>p-terr</i> -Butyylifenylyli)-2-metyylipropyli]-2,6-dimetyylimorfoliini		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	metamitroni 4-amino-3-metyyli-6-fenyli-1,2,4-triatziini-5-oni		255-349-3	41394-05-2	Xn; R22 N; R50	Xn; N R: 22-50 S: (2-)61		
613-167-00-5	5-Kloori-2-metyyli-2 <i>H</i> -isotiatsoli-3-onin   EY nro. 247-500-7   ja 2-metyyli-2 <i>H</i> -isotiatsoli-3-onin   EY nro. 220-239-6   (3:1) seos 5-Kloori-2-metyyli-4-isotiatsolin-3-onin   EY nro. 247-500-7   ja 2-metyyli-4-isotiatsolin-3-onin   EY nro. 220-239-6   (3:1) seos		-	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 <i>RS</i> ,3 <i>SR</i> )-3-(2-kloorifenylyli)-2-(4-fluorifenylyli)-(1 <i>H</i> )-1,2,4-triatsole-1-yyli)metyyli oksiraani		406-850-2	133855-98-8	Carc. Cat. 3; R40 Repr. Cat. 3; R62 Repr. Cat. 3; R63 N; R51-53	Xn; N R: 40-62-63-51/53 S: (2-)36/37-46-61		
615-001-00-7	Metyyli-isosyanaatti		210-866-3	624-83-9	F+; R12 Repr. Cat. 3; R63 T+; R26 T; R24/25	F+; T+ R: 12-24/25-26-37/38-41-42/43-63 S: (1/2-)26-27/28-		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
615-004-00-3	Tiiosyaanihapon suolat	A	-	-	R42/43 Xi; R37/38-41	36/37/39-45-63		
615-006-00-4	2-metyyli- <i>m</i> -fenyleenidi-isosyanaatti tolueeni-2,4-di-isosyanaatti [1] 4-metyyli- <i>m</i> -fenyleenidi-isosyanaatti tolueeni-2,6-di-isosyanaatti [2] <i>m</i> -tolyyliideenidi-isosyanaatti [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-isosyanaattimetyyli-3,5,5-trimetyylisykloheksyyli-isosyanaatti isoforonidi-isosyanaatti		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-Trimetyylisyklo[2,2,1]hept-2-yyliitosyanaattoasetatti Isobornyyliitosyanaasietaatti		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	Alakloori 2-Kloori-2,6-dietyyli-N-(metoksimetyyli)asetamiliidi		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-Dimetyyli-2,5-dioksoksaatsolidin-1-yyli)-2-kloori-5-(2-(2,4-di-tert-pentyyliifenoksi)butyyriamidi)-4,4-dimetyyli-3-oksovaleramiliidi		402-260-4	-	R53	R: 53 S: 61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
617-002-00-8	$\alpha,\alpha$ -dimetylibentyylihydroperoksidi kumeenivetyperoksidi		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-naftyylihydroperoksidi		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	kreosoottioöljy, asenafteenifraktio, asenafteenivapaa pesuöljytisle [Öljy, joka jää jäljelle kiteytysprosessillaikaansaadun asenafteenin poistosta asenafteenioöljystä, joka on peräisin kivihiiltästä. Koostuu pääasiassa naftaleenista ja alkyylinaftaleeneista.]	H	292-606-9	90640-85-0	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-080-00-1	Jäännökset (kivihiilterva), kreosoottioöljytisle Pesuöljytisle [Jäännös pesuöljyn, joka kiehuu likimäärin välillä 270 °C:sta 330 °C:een, jakotislauksesta. Koostuu pääasiassa kaksirenkaisista aromaattisista ja heterosyklisistä hiilivedyistä.]	H	295-506-3	92061-93-3	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-098-00-X	Kreosoottioöljy, asenafteenifraktio Pesuöljy [Monimutkainen seos hiilivetyjä, tulosta kivihiiltäeräntäislauksesta, kiehuu likimäärin välillä 240 °C:sta 280°C:een. Koostuu pääasiassa asenafteenista, naftaleenista ja alkyylinaftaleenista.]	H	292-605-3	90640-84-9	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnot	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
648-099-00-5	Kreosoottiöljy [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu kivihiilitervan tislauksesta. Koostuu pääasiassaaromaattisista hiilivedyistä ja saattaa sisältäämerkkiviä määriä tervahappoja ja tervaemäksiä. Tislautuslikimäärin välillä 200 °C:sta 325 °C:een.]	H	263-047-8	61789-28-4	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-100-00-9	Kreosoottiöljy, korkealla kiehuva tisle Pesuöljy [Korkeassa lämpötilassa kiehuva tislusfraktio, joka onsaatu bitumipitoisen kivihiilen, jota jalostetaan edelleenylimääräisten kiteisten suolojen poistamiseksi, korkealämpötilaisesta hiilivedystä. Koostuu pääasiassakreosoottiöljystä, josta on poistettu jottain normaalejapoly sykliisiä aromaattisia suoloja, jotka ovatkivihiilitervatisleriden komponentteja. Käteetön likimäärin 5 °C:ssa]	H	274-565-9	70321-79-8	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-101-00-4	Kreosootti [Kivihiilitervan tisle, joka ontulosta bitumipitoisen kivihiilen korkealämpötilaisesta hiilivedyksestä. Koostuu pääasiassa aromaattisista hiilivedyistä, tervahapoista ja tervaemäksiä.]	H	232-287-5	8001-58-9	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-102-00-X	Uutejäännökset (kivihiili), kreosoottiöljyhappo Pesuöljyutejäännös [Monimutkainen seos hiilivetyjäkivihiilitervan tislauksen enäysyypaasta fraktiosta, kiehuulikimäärin välillä 250 °C:sta 280 °C:een. Koostuu pääasiassa bifenyylisiä ja isomeerisistä difenyylinaftaleeneista.]	H	310-189-4	122384-77-4	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnot	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
648-138-00-6	Kreosoottiöljy, matalalla kiehuva tisle Pesuöljy [Matalassa lämpötilassa kiehuva tislauksfrakto, joka onsaatu hiillettämällä korkeassa lämpötilassa bitumiipitoistakivihiiltä, joka jalostetaan edelleen ylimääräistenkietosten suojojen poistamiseksi. Koostuu pääasiassakreosoottiöljystä, josta on poistettu jottain normaalejapolykylisiä aromaattisia suojoja, jotka ovatkivihiilitervatsileen komponentteja. Kiteetön likimäärin 38°C:ssa.]	H	274-566-4	70321-80-1	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-001-00-3	Uutteet (raakaöljy), kevyt nafteenislieluotin	H	265-102-1	64742-03-6	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-002-00-9	Uutteet (raakaöljy), raskas parafiinitislieluotin	H	265-103-7	64742-04-7	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-003-00-4	Uutteet (raakaöljy), kevyt parafiinitislieluotin	H	265-104-2	64742-05-8	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-004-00-X	Uutteet (raakaöljy), raskas nafteenislieluotin	H	265-111-0	64742-11-6	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-005-00-5	Uutteet (raakaöljy), kevyt tyhjiökaasuöljyiluotin	H	295-341-7	91995-78-7	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-006-00-0	Hiilivedyt, C <sub>26-55</sub> , arom.pitoisuus suuri	H	307-753-7	97722-04-8	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-062-00-6	Kaasut (maaöljy), katalyyttisesti krakattu teollisuusbensiniin propaanipitoisyyksikön ylimeno, C3-rikas happovapaa Maaöljy kaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu katalyyttisesti krakattujen hiilivetyjen jakotislauksesta ja käsitelty happamien epäpuhtauksien poistamiseksi.]	H K	270-755-0	68477-73-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-063-00-1	Koostuu hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>2</sub> :sta C <sub>4</sub> :ään, pääasiassa C <sub>3</sub> :sta.] Kaasut (maaoily), katalyyttinen krakkausyksikkö Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saattuslaamalla katalyyttisen krakkausprosessin tuotteita. Koostuu pääasiassa alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>6</sub> :een.]	HK	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	Kaasut (maaoily), katalyyttinen krakkausyksikkö, C1-5-rikas Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saattuslaamalla katalyyttisen krakkausprosessin tuotteita. Koostuu alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>6</sub> :een, pääasiassa C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.]	HK	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	Kaasut (maaoily), katalyyttisesti polymeroitunut teollisuusbensiniin stabilointiyksikön ylimeno, C <sub>2</sub> -4-rikas Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu katalyyttisesti polymeroitunut teollisuusbensiniinjakotilasstabi loinnista. Koostuu alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>2</sub> :sta C <sub>6</sub> :een, pääasiassa C <sub>2</sub> :sta C <sub>4</sub> :een.]	HK	270-758-7	68477-76-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-066-00-8	Kaasut (maaoily) katalyyttinen reformointiyksikkö, C <sub>1</sub> -4-rikas Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saattuslaamalla katalyyttisen reformointiprosessin tuotteita. Koostuu hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>6</sub> :een, pääasiassa C <sub>1</sub> :stä	HK	270-760-8	68477-79-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	C <sub>4</sub> -een.]							
649-067-00-3	Kaasut (maaoöljy), C <sub>3-5</sub> olefiininen parafiininen alkylointisyoite Maaöljykaasu  Monimutkainen seos olefinisia ja parafiinisia hiilivetyjä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>3</sub> :sta C <sub>5</sub> :een ja joita käytetään alkyloinnin syötteenä. Ympäröivät lämpötilat normaalisti ylittävät näiden seosten kriittiset lämpötilat.]	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	Kaasut (maaoöljy), C <sub>4</sub> -rikas Maaöljykaasu  Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu tislamalla katalyyttisen jakotislauksen tuotteita. Koostuu alifaattistahiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>3</sub> :sta C <sub>5</sub> :een, pääasiassa C <sub>4</sub> .]	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	Kaasut (maaoöljy), etaaninpoistoyksikön ylimeno Maaöljykaasu  Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu tislamalla katalyyttisen krakkausprosessin kaasun- ja bensiniifraktoita. Sisältää pääasiassa etaania jaetyleenä.]	H K	270-768-1	68477-86-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-070-00-X	Kaasu (maaoöljy), isobutaaninpoistotornin ylimeno Maaöljykaasu  Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu butaanibutyleentvirran atmosfäärisestä tislauksesta. Koostuu alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>3</sub> :sta C <sub>4</sub> :ään.]	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	Kaasut (maaoöljy), propaninpoistoyksikkö kuiva, propeeni-rikas Maaöljykaasu  Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu tislamalla tuotteita	H K	270-772-3	68477-90-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	katalyyttisen krakkausprosessin kaasut- ja bensiinifraktioita. Koostuu pääasiassa propyleenisä, mukana myös etaania ja propaania.]							
649-072-00-0	Kaasut (maaoily), propaanipolystoyksikön ylimeno Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu tislamalla tuotteita katalyyttisen krakkausprosessin kaasut- ja bensiinifraktioista. Koostuu alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>2</sub> :sta C <sub>4</sub> :ään.]	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	Kaasut (maaoily), kaasun talteenotto laitoksen propaanipolystoyksikön ylimeno Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu jakotilaamalla sekalaisiä hiilivetyvirttoja. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>4</sub> :ään, pääasiassa propaanista.]	H K	270-777-0	68477-94-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-074-00-1	Kaasut (maaoily), Girbatolilyksikön syöte Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, jota käytetään syöteenä Girbatolilyksikköön rikkipölyn poistamiseksi. Koostuu alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>2</sub> :sta C <sub>4</sub> :ään.]	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	Kaasut (maaoily), isomeroitun teollisuusbensiniin jakotilauslaitte, C <sub>7</sub> -rikas, rikkipölyvapaa Maaöljykaasu	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	Jäännöskaasu (maaoily), katalyyttisesti krakattun	H K	270-802-5	68478-21-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	kirkastetun öljyn ja lämpökrakattun tyhjiöjäännöksen jakotislauksen kokoaemissiolit Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu jakotislamalla katalyyttisesti krakattua kirkastettua öljyä ja lämpökrakattua tyhjiöjäännöstä. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>6</sub> :een.]					S: 53-45		
649-077-00-8	Jäännöskaasu (maaöljy), katalyyttisesti krakattun teollisuusbensiniin stabilisoimien absorbointiyksikkö Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu katalyyttisesti krakattun teollisuusbensiniin stabilisoimista. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>6</sub> :een.]	HK	270-803-0	68478-22-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-078-00-3	Jäännöskaasu (maaöljy), katalyyttinen krakkausyksikkö, katalyyttisen reformointiyksikön ja rikin poiston vedyllä yhdistetty jakotisluslaite Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu jakotislamalla tuotteikatalyyttisestä krakkaus-, katalyyttisestä reformointi-jarikin poisto vedyllä prosesseista, käsitelty happamienepuhtauksien poistamiseksi. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.]	HK	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	Jäännöskaasu (maaöljy), katalyyttisesti reformoidun teollisuusbensiniin jakotislusstabilointiyksikkö Maaöljykaasu	HK	270-806-7	68478-26-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-080-00-4	[Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu katalyyttisesti reformoidun teollisuusbensiniinijakotislausestabi loinnista. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> -stä C <sub>4</sub> -ään.]	H K	270-813-5	68478-32-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-081-00-X	Jäännöskaasu (maaoily), alkaani-kaasun talteenottoainetta, C <sub>1-2</sub> -riikas [Maaoilykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu suorajuo- ksetun teollisuusbensiniinijakotislausestabi loinnista. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>1</sub> -stä C <sub>6</sub> -teen, pääasiassa butaanista ja isobutaanista.]	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	Jäännöskaasu (maaoily), tyhjiöjäännökset lämpökrakkausyksikkö [Maaoilykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu tyhjiöjäännöksestä. Koostuu hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>1</sub> -stä C <sub>5</sub> -teen, pääasiassa metaanista ja etaanista.]	H K	270-815-6	68478-34-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-083-00-0	ovat pääasiassaväillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.] Hiilivedyt, C <sub>3</sub> -4-riikas, maaöljytisle Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu raakaöljyn trislauksesta ja kondensoinnista. Koostuu hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>3</sub> :sta C <sub>5</sub> :een, pääasiassa]	HK	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	Kaasut (maaöljy), laajan trislausalueen suoratislausteollisuusbensiinin heksaanipoisitoyksikön poisto Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saattulaajan trislausalueen suorajuoksetun teollisuusbensiinijakotislauksesta a. Koostuu hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>2</sub> :sta C <sub>6</sub> :een.]	HK	271-000-8	68513-15-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-085-00-1	Kaasut (maaöljy), vetykrakkauksen propaanipoisitoyksikön poisto, hiilivetyrikas Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu vetykrakkauksen prosessin tuotteiden trislauksesta. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>4</sub> :ään. Saattaa myös sisältää pieniä määriä vetyä ja rikkipölyä.]	HK	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	Kaasut (maaöljy), kevyen suoratislausteollisuusbensiinin stabilointiyksikön poisto Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu kevyen suorajuoksetun teollisuusbensiinin stabiloinnista. Koostuu tyydyttyneistä]	HK	271-002-9	68513-17-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-087-00-2	Jäännökset (maaoöljy), alkylloitajakotilauskoloinni, C <sub>4</sub> -rikas Maaöljykaasu [Monimutkainen jäännös useidenjalostusoperaatioiden virtojen tislauksesta. Koostuuhiihivedystä, joiden hiilituotot ovat välillä C <sub>4</sub> :stä C <sub>5</sub> :een, pääasiassa buraanista ja jotka kiehuvat likimäärin välillä -11,7 °C:sta 27,8 °C:een.]	H K	271-010-2	68513-66-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-088-00-8	Hiihivedyt, C <sub>1-4</sub> Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiihivetyjä, saatu lämpökraakkaus- jaabsorbenttioperaatioista ja raakaöljyn tislauksesta. Koostuu hiihivedystä, joiden hiilituotot ovat pääasiassavälillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>4</sub> :ään ja jotka kiehuvat likimäärin välillä -164 °C:sta -0,5 °C:een.]	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	Hiihivedyt, C <sub>1-4</sub> , makeutettu Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiihivetyjä, saatu alitammalahiihivetykaasut makeutusprosessille merppaamienkorvaamiseksi tai happamien epäpuhtauksien poistamiseksi. Koostuu hiihivedystä, joiden hiilituotot ovat pääasiassavälillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>4</sub> :ään ja jotka kiehuvat likimäärin välillä -164 °C:sta -0,5 °C:een.]	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	Hiihivedyt, C <sub>1-3</sub> Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiihivetyjä, joiden hiilituotot ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>3</sub> :een ja jotka kiehuvat likimäärin välillä -164 °C:sta -42 °C:een.]	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	Hiihivedyt, C <sub>1-4</sub> , debutanoitu fraktio	H K	271-261-8	68527-19-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	Maaöljykaasu					S: 53-45		
649-092-00-X	Kaasut (maaöljy), C <sub>1-5</sub> , märkä Maaöljykaasu  Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu raakaöljyntislauksesta ja/tai tornikaasuöljyn krakkauksesta. Koostuuhilivedystä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.]	H K	271-624-0	68602-83-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-093-00-5	Hiilivedyt, C <sub>2-4</sub> Maaöljykaasu	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	Hiilivedyt, C <sub>3</sub> Maaöljykaasu	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	Kaasut (maaöljy), alkylointisyyte Maaöljykaasu  Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu kaasuoiljynkatalyyttisestä krakkauksesta. Koostuu hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>3</sub> :sta C <sub>4</sub> :ään.]	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	Kaasut (maaöljy), propaninpoistoyksikön pohjat jakotislauispoisto Maaöljykaasu  Monimutkainen seoshiilivetyjä, saatu propaninpoistajan pohjienjakotislauksesta. Koostuu pääasiassa butaanista, isobutaanista ja butadieenistä.]	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	Kaasut (maaöljy), jalostesekoitus Maaöljykaasu  Monimutkainen seos, saatu useista prosesseista. Koostuuedystä, rikkivetystä ja hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.]	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	Kaasut (maaöljy), katalyyttinen krakkaus Maaöljykaasu  Monimutkainen seos hiilivetyjä,	H K	272-203-4	68783-64-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	saatu katalyyttisenkrakkausprosessin tuotteiden tislauksesta. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>3</sub> :sta C <sub>5</sub> :een.]							
649-099-00-8	Kaasut (maaoöljy), C <sub>2-4</sub> , makeutettu Maaoöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu altistamalla maaoöljytisle makeutusprosessille merkkitaannienkorvaamiseksi tai happamien epäpuhtauksien poistamiseksi. Koostuu pääasiassa tyydyttyneistä ja tyydyttymättömistä hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>2</sub> :sta C <sub>4</sub> :ään ja jotka kiehuvat likimäärin välillä - 51 °C:sta - 34 °C:een.]	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	Kaasut (maaoöljy), raakaöljyn jakotislauispoisto Maaoöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saaturakaöljyn jakotislauksesta. Koostuu tyydyttyneistä alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.]	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	Kaasut (maaoöljy), heksaanipolitoyksikön poisto Maaoöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu yhdistettyjen teollisuusbensiniinivirtojen jakotislauksesta. Koostuu tyydyttyneistä alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.]	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	Kaasut (maaoöljy), kevyt suoratislausbensiniin jakotislaustabiloitintyösköön	H K	272-878-5	68919-05-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	poisto Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu kevyensuorajouksetutetun bensiniin jakotislauksesta. Koostuutydyttyneistä alifaattisista hiilivedyistä, joidenhiilitulvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.]							
649-103-00-8	Kaasut (maaöljy), teollisuusbensiniin yhdistäjän rikinpoistotrippaussyksikön poisto Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu teollisuusbensiniin yhdistäjän rikinpoistoprosessista ja stripattuteollisuusbensiniituotteest a. Koostuu tyydyttyneistäalifaattisista hiilivedyistä, joiden hiilitulvut ovatpääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>4</sub> :ään.]	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	Kaasut (maaöljy), suoratislausteollisuusbensiniin katalyyttisen reformoinnin poisto Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu katalyyttisireformoimalla suoratislausteollisuusbensiniä jajakotislaukamalla koko virran. Koostuu metaanista, etaanista ja propanista.]	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	Kaasut (maaöljy), leijukatalyyttisen krakkaussyksikön jakotislaukolonnin ylimeno Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu jakotislaukamalla C <sub>3</sub> -C <sub>4</sub> - jakotislaukolonnin latausta. Koostuu pääasiassa C <sub>3</sub> - hiilivedyistä.]	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	Kaasut (maaöljy),	H K	272-883-2	68919-10-8	Carc. Cat. 1; R45	T		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-107-00-X	suoratilaislaustabilointiyksikön poisto Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu jakotilaislaamalla nestettä ensinmäisestä tornista, jota käytetään raakaöljyn tislaukseen. Koostuu tyydyttyneistä alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> -stä C <sub>4</sub> :ään.				Muta. Cat. 2; R46	R: 45 S: 53-45		
649-107-00-X	Kaasut (maaöljy), katalyyttisesti krakattu teollisuusbenssiinin butaanipoisitoyksikkö Maaöljy   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu katalyyttisesti krakattu teollisuusbenssiinin jakotilauksesta. Koostuu hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>4</sub> :ään.	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	Jäännöskaasu (maaöljy), katalyyttisesti krakattu tisleen ja teollisuusbenssiinin stabilointiyksikkö Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu katalyyttisesti krakattu teollisuusbenssiinin ja tisleen jakotilauksesta. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>4</sub> :ään.	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	Jäännöskaasu (maaöljy), lämpökrakattu tisle, kaasuöljyn ja teollisuusbenssiinin absorbointiyksikkö Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu eristämällä lämpökrakattu tisleet, teollisuusbenssiini ja kaasuöljy. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> -stä	H K	273-175-6	68952-81-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	C <sub>6</sub> -een.]							
649-110-00-6	Jäännöskaaasu (maaoöljy), lämpökrakattuun hiilivedyn jakotislaustabilointiyksikkö, maaoöljykoksauus Maaöljykaaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu jakotislaustabiloimalla lämpökrakattuja hiilivetyjämaaoöljyn koksauusprosessista. Koostuu hiilivedyistä, joidenhiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>6</sub> -een.]	H K	273-176-1	68952-82-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-111-00-1	Kaasut (maaoöljy), kevyet höyrykrakattut, butadienikonstraatti Maaöljy [Monimutkainen seoshiilivetyjä, saatu tislauamalla lämpökrakkausprosessintuotteita. Koostuu hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovatpääasiassa C <sub>4</sub> .]	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	Kaasut (maaoöljy), suoratislausteollisuusbensiinin katalyyttisen reformointiyksikön stabilointikolonnin ylimeno Maaöljykaaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä saatu katalyyttisesti reformoimallasuoratislausteollisuusbensiiniä ja jakotislauamalla kokovirta. Koostuu tyydyttyneistä alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>2</sub> :sta C <sub>4</sub> :ään.]	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	Hiilivedyt, C <sub>4</sub> Maaöljykaaasu	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	Alkaamit, C <sub>1-4</sub> , C <sub>3</sub> -riikas Maaöljykaaasu	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	Kaasut (maaoöljy), höyrykrakkausyksikkö C <sub>3</sub> -riikas Maaöljykaaasu	H K	295-404-9	92045-22-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	[Monimutkainen seos hiilivedyjä, satutislaamalla höyrykrakkausprosessin tuotteita. Koostuu pääasiassa propyleenistä, mukana propania, ja kiehuikimäärin välillä -70 °C:sta 0 °C:een.]							
649-116-00-9	Hiilivedyt, C <sub>4</sub> , höyrykrakkausyksikkötsle Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivedyjä, saatu tislaamallahöyrykrakkausprosessin tuotteita. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat C <sub>4</sub> , pääasiassa 1-buteenista ja 2-buteenista, sisältää myös butaania, jaisobuteenia ja kiehua ikimäärin välillä -12 °C:sta 5°C:een.]	HK	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	Maaöljykaasut, nesteytetty, makeutettu, C <sub>4</sub> -fraktio Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivedyjä, satunesteytetystä maaöljykaasuseoksesta hapettamallaamerkapaanit tai poistamalla happamat epäpuhtaudetmakeutusprosessilla. Koostuu pääasiassa C <sub>4</sub> tyydyttymättömiä hiilivedyistä.]	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	Jalosteet (maaöljy), höyrykrakattu C <sub>4</sub> -fraktio kupariammoniumasetattiute, C <sub>3,5</sub> ja C <sub>3,5</sub> -tyydyttymätön, butadieni vapaa Maaöljykaasu	HK	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	Kaasut (maaöljy), aminisysteemin syöte Jalostuskaasu [Syötekaasu aminisysteemin rikkivedyn poistamiseksi. Koostuu vedystä. Saattaa sisältää myös hiilimonoksidia, hiilidioksidia,	HK	270-746-1	68477-65-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnot	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-121-00-6	rikkivetyä ja alifaattisia hiilivetyjä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.]	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	Kaasut (maaoily), benseeniyksikön riikinpoistoyksikön poisto Jalostuskaasu [Benseeniyksikön tuottamatpoistokaasut. Koostuu pääasiassa vedystä. Saattaa sisältää myös hiilimonoksidia ja hiilivetyjä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>6</sub> :een, mukaanlukienbenseeni.]	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	Kaasut (maaoily), sekoiteöljy, vety-typpi-rikas Jalostuskaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, suatusekoiteöljyn tislauksesta. Koostuu pääasiassa vedystä jätysteistä, mukana useita pieniä määriä hiilimonoksidia, hiilidoksidia ja alifaattisia hiilivetyjä, joidenhiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.]	H K	270-749-8	68477-68-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-124-00-2	Kaasut (maaoily), katalyyttisen reformointiyksikön strippausyksikön yllimeno Jalostuskaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu katalyyttisesti reformoidunteollisuusbensiniin stabiloinnista. Koostuu vedystä	H K	270-759-2	68477-77-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-125-00-8	jättydyttyneistä hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>4</sub> :ään.] Kaausat (maaoöljy), C <sub>6-8</sub> katalyyttisen reformointisyklin kierto Jalostuskaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu tislaamalla tuotteita C <sub>6</sub> -C <sub>8</sub> :n katalyyttisesiäreformoinnista ja kierrätetty vedyn säilyttämiseksi. Koostuu pääasiassa vedystä. Saattaa myös sisältää useitapientä määrää hiilimonoksidia, hiilidoksidia, tyyppiä jähilivetyjä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>6</sub> :een.]	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	Kaausat (maaoöljy), C <sub>6-8</sub> katalyyttinen reformointisykkinä Jalostuskaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu tislaamalla tuotteita C <sub>6</sub> -C <sub>8</sub> -syötteen katalyyttisesiäreformoinnista. Koostuu hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een ja vedystä.]	H K	270-762-9	68477-81-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-127-00-9	Kaausat (maaoöljy), C <sub>6-8</sub> katalyyttisen reformointisyklin kierto, vetyrikas Jalostuskaasu	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	Kaausat (maaoöljy), C <sub>2</sub> -palausvirta Jalostuskaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu erottamalla vetykaasuvirrasta, joka koostuu pääasiassa vedystä, jonkammukana on pieniä määriä tyyppiä, hiilimonoksidia, metaania, etaania ja etyleeniä. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, kuten metaanista, etaanista ja etyleenistä, mukana	H K	270-766-0	68477-84-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-129-00-X	pieniämiä vetyä, tyypeä ja hiilimonoksidia.]	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	Kaasut (maaoily), kaasukonsentraatio uudelleenabsorberitise Jalostuskaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu tislamalla tuotteita yhdistetyistä kaasuvirroista kaasu konsentraatin uudelleenabsorberissa. Koostuu pääasiassa vedystä, hiilimonoksidista, hiilidioksidista, tyypestä, rikkivetyä ja hiilivedystä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>3</sub> :een.]	H K	270-776-5	68477-93-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-131-00-0	Kaasut (maaoily), vetyabsorbointiyksikön poisto Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, saatu absorboimalla vetyä vetyrikkaasta virrasta. Koostuu vedystä, hiilimonoksidista, tyypestä ja metaanista, mukana pieniämiä C <sub>2</sub> -hiilivetyjä.]	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	Kaasut (maaoily), vetyrikas Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, erotettu kaasuna hiilivetykaasuista jäädyttämällä. Koostuu pääasiassa vedystä, mukana pieniämiä hiilimonoksidia, tyypeä, metaania ja C <sub>2</sub> -hiilivetyjä.]	H K	270-780-7	68477-97-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-133-00-1	Kaasut (maaoiljy), vedynpoistoyksikön kiertosekoiteöljy, vety- ja typpirikas Jalostuskaasu   Monimutkainen seos, saatu kierrätystä vetykäsitellystä sekoiteöljystä. Koostuu pääasiassa vedystä ja typestä, mukana pieniä määriä hiilimonoksidia, hiilidoksidia ja hiilivetyjä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.	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	Kaasut (maaoiljy), kiertö, vetyrikas Jalostuskaasu   Monimutkainen seos, saatu kierrätetyistä reaktorikaasuista. Koostuu pääasiassa vedystä, mukana pieniä määriä hiilimonoksidia, hiilidoksidia, tyypeä, rikkivetyä ja tyydyttyneitä alfaatrissa hiilivetyjä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.	H K	270-783-3	68478-00-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-135-00-2	Kaasut (maaoiljy), reformintyöyksikön korvaus, vetyrikas Jalostuskaasu   Monimutkainen seos, saatu reformoijista. Koostuu pääasiassa vedystä, mukana pieniä määriä hiilimonoksidia ja alifaattisia hiilivetyjä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.	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	Kaasut (maaoiljy), reformoiva vedynpoistoyksikkö Jalostuskaasu   Monimutkainen seos, saatu reformoivasta vetykäsitelyprosessista. Koostuu pääasiassa vedystä, metaanista ja etaanista, mukana pieniä määriä rikkivetyä ja alifaattisia hiilivetyjä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä	H K	270-785-4	68478-02-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	C <sub>3</sub> :sta C <sub>5</sub> :een.]							
649-137-00-3	Kaasut (maaoily), reformoiva vedynpoistoyksikkö, vety- ja metaanirikas Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, saatureformoivasta vetykäsitrellyprosessista. Koostuu pääasiassa vedystä ja metaanista, mukana pieniä määriä hiilimonoksidia, hiilidioksidia, tyyppiä ja tyydytymättä alifaattisia hiilivetyjä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>2</sub> :sta C <sub>5</sub> :een.]	H K	270-787-5	68478-03-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-138-00-9	Kaasut (maaoily), reformoivan vedynpoistoyksikön tuorevety Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, saatu reformoivasta vetykäsitrellyprosessista. Koostuu pääasiassa vedystä, mukana pieniä määriä hiilimonoksidia ja alifaattisia hiilivetyjä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.]	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	Kaasut (maaoily), lämpökraakkaustisle Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, saatu lämpökraakkausprosessintuotteiden tislauksesta. Koostuu vedystä, rikkivetystä, hiilimonoksidista, hiilidioksidista ja hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>6</sub> :een.]	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	Jäännöskaasu (maaoily), katalyyttisen krakkausyksikön jakotislauksabsorbointiyksikkö Jalostuskaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu katalyyttisen krakkausprosessintuotteiden uudelleen jakotislauksesta. Koostuu vedystä ja hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa	H K	270-805-1	68478-25-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-141-00-5	välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>3</sub> :een,  Jäännöskaaasu (maaoöljy), katalyyttisesti reformoidun teollisuusbenssiinin erotussäiliö Jalostuskaaasu  Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu katalyyttisereformoimalla suoratislausteollisuusbenssiiniä. Koostuu vedystä ja hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassavälillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>6</sub> :een,	H K	270-807-2	68478-27-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-142-00-0	Jäännöskaaasu (maaoöljy), katalyyttisesti reformoidun teollisuusbenssiinin stabilointiyksikkö Jalostuskaaasu  Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu katalyyttisereformoidun teollisuusbenssiinin stabiloinnista. Koostuuvedystä ja hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa	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	Jäännöskaaasu (maaoöljy), krakatun tislteen vedynpoistoyksikön erotussäiliö Jalostuskaaasu  Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu käsittelemälläkrakattuja tislettä vedyllä katalyytin läsnäollessa.Koostuu vedystä ja tyydyttyneistä alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>3</sub> :een,	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	Jäännöskaaasu (maaoöljy), rikittömän suoratislausteollisuusbenssiinin erotussäiliö Jalostuskaaasu	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	Kaasut (maaoöljy), katalyyttisesti reformoidun suoratislausteollisuusbenssiinin stabilointiyksikön ylimeno Jalostuskaaasu	H K	270-999-8	68513-14-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	[Monimutkainen seos hiilivetyjä, satukatalyyttisesti reformoimalla suorituslaatuolosuhteissa valmistettua ja tämän jälkeen jakotilaamallakoko virtaa. Sisältää vetyä, metaania, etaania ja propaania.]							
649-146-00-2	Kaasut (maaoily), reformointiyehtien sivuvirran korkeapaineisen erotussäiliön poisto Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, saatu korkeapaineisestileimähduttamalla reformointireaktorin sivuvirtaa. Koostuu pääasiassa vedystä, mukana pieniä määriä metaania, etaania ja propaania.]	HK	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	Kaasut (maaoily), reformointiyehtien sivuvirran matalapaineisen erotussäiliön poisto Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, saatu matalapaineisestileimähduttamalla reformointireaktorin sivuvirtaa. Koostuu pääasiassa vedystä, mukana pieniä määriä metaania, etaania ja propaania.]	HK	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	Kaasut (maaoily), öljynjalostuskaasutisleen poisto Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, erotettu tislaamallakausvirta, joka sisältää vetyä, hiilimonoksidia, hiilidioksidia ja hiilivetyjä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>6</sub> :een tai saatu krakkaamalla etaania ja propaania. Koostuu hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>2</sub> :een, vedystä, typestä ja hiilimonoksidista.]	HK	271-258-1	68527-15-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-149-00-9	Kaasut (maaoily), bentseeniyehtien poisto	HK	271-623-5	68602-82-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	vedynpoistoyksikön pentaaniinpoistoyksikön ylimeno Jalostuskaasu   Monimurkainen seos, saatu käsittelemällä bentseeniyksikönsyötettä vedyllä katalyytin läsnäollessa, jonka jälkeensoistetaan pentaani. Koostuu pääasiassa vedystä, etaanista ja propaanista, mukana pieniä määriä typpiä, hiilimonoksidia, hiilidioksidia ja hiilivetyjä, joidenhiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>6</sub> :een. Saattaa sisältää pieniä määriä bentseeniä.]					S: 53-45		
649-150-00-4	Kaasut (maaöljy), sekundaarisen absorbointiyksikön poisto, leijukatalyyttisen krakkausyksikön jakotislaukolonnin ylimeno Jalostuskaasu   Monimurkainen seos, saatu jakotislaukolla katalyyttisen krakkausprosessin ylimenoja katalyyttisessä leijukrakkausjässä. Koostuu vedystä, typestä ja hiilivedystä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>3</sub> :een.]	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	Maaöljytuotteet, jalostuskaasut Jalostuskaasu   Monimurkainen seos, joka koostuu pääasiassa vedystä, mukana pieniä määriä metaania, etaania ja propaania.]	H K	271-750-6	68607-11-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-152-00-5	Kaasut (maaöljy), vetykrakkaava matalapaineinen erotussäiliö Jalostuskaasu   Monimurkainen seos, saatu vetykrakkausprosessireaktorin sivuvirran nestehöyryerotuksesta. Koostuu pääasiassa vedystä ja hiililuvut ovat pääasiassa välillä	H K	272-182-1	68783-06-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	C <sub>1</sub> :stä C <sub>3</sub> :een.]							
649-153-00-0	Kaasut (maaöljy), jalostus Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, saatu useista maaöljyn jalostusoperaatioista. Koostuu vedystä ja hiilivedyistä, joiden hiilihiilut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>3</sub> :een.]	H K	272-338-9	68814-67-5	Carc. Cat. 1; R45 Mura. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-154-00-6	Kaasut (maaöljy), bensinin reformointityksikön tuotteiden erotussäiliön poist Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, saatu naftteenen kemiallisesta reformoinnista aromaateiksi. Koostuu vedystä ja tydyttyneistä alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiilihiilut ovat pääasiassa välillä C <sub>2</sub> :sta C <sub>4</sub> :ään.]	H K	272-343-6	68814-90-4	Carc. Cat. 1; R45 Mura. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-155-00-1	Kaasut (maaöljy), vedyllä käsitellyn happaman kerosiinin pentaaniinpoistoyksikkö stabilointityksikön poisto Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, saatu vetykäsitellynkerosiinin pentaaniinpoistostabiloinnista. Koostuu pääasiassa vedystä, metaanista, etaanista ja propaanista, mukana pieniä määriä tyyppiä, rikkivetyä, hiilimonoksidia ja hiilivetyjä, joiden hiilihiilut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.]	H K	272-775-5	68911-58-0	Carc. Cat. 1; R45 Mura. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-156-00-7	Kaasut (maaöljy), vetykäsitellyn happaman kerosiinin erotussäiliö Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, saatuyksikön, joka käsittelee happaita kerosiinia vedyllä katalyytin läsnäollessa, leimahdusrummusta. Koostuu	H K	272-776-0	68911-59-1	Carc. Cat. 1; R45 Mura. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-157-00-2	Kaasut (maaoiljy), tisleen yhdistäjäin rikinpoistostrippausyksikön poisto Jalostuskaasu   Monimutkainen seos, stripattuyhdistäjärikinpoistopro- ssin nestemäisestä tuotteesta. Koostuu rikkivedystä, metaanista, etaanista ja propanista. ]	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	Kaasut (maaoiljy), leijukatalyyttisen krakkausyksikköjakotislauksen poisto Jalostuskaasu   Monimutkainen seos, saatu jakotislauamalla leijukatalyyttisen krakkausprosessin ylijennoja. Koostuu vedystä, rikkivedystä, typestä ja hiilivedyistä, joidenhiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :seen. ]	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	Kaasut (maaoiljy), leijukatalyyttinen krakkausyksikkö pesee sekundäärin absorbointiyksikön pois Jalostuskaasu   Monimutkainen seos, saatu pesemällä katalyyttisestä leijukrakkaajan ylimenokaasuja. Koostuu vedystä, typestä, metaanista, etaanista ja propanista. ]	H K	272-875-9	68919-03-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-160-00-9	Kaasut (maaoiljy), raskaan tisleen vedynpoistoyksikön rikinpoistostrippausyksikön poisto Jalostuskaasu   Monimutkainen seos, stripattu raskaan tisleenveytysittelyrikinpoistopro- sessin nestemäisestä tuotteesta. Koostuu vedystä, rikkivedystä ja	H K	272-876-4	68919-04-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-161-00-4	tyydyttyneistä alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> -stä C <sub>5</sub> :een.]	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	Kaasut (maaoily), bensiinin reformointiyksikköstä poistettujen poisto, kevyiden loppujakeiden jakotilaisuus Jalostuskaasu   Monimutkainen seos, saatu jakotilaisuamalla kevyitä loppujakeita   platinareformeriplatinareaktoreista. Koostuu vedystä, metaanista, etaanista ja propaanista.]	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	Kaasut (maaoily), tervastriippausyksikön poisto Jalostuskaasu   Monimutkainen seos, saatu pelkistetyyraakaöljyn jakotilaisuudesta. Koostuu vedystä ja hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> -stä C <sub>5</sub> :een.]	H K	272-884-8	68919-11-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-164-00-0	Kaasut (maaoily), yhdistäjästriippausyksikön poisto Jalostuskaasu   Seos vetyä ja metaania, saatu yhdistäjäyksikön tuotteiden jakotilaisuudesta.]	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	Jäännöskaasu (maaoily), katalyyttisesti desulfuroidun	H K	273-173-5	68952-79-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-166-00-1	teollisuusbenssiinin erotussäiliö Jalostuskaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu teollisuusbenssiininrikinpoistosta vedyn avulla. Koostuu vedystä, metaanista, etaanista ja propaanista.]	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	Kaasut (maaöljy), imeytysabsorbointiyksikön poisto, leijukatalyyttisen krakkausyksikön ja kaasuoiljyn rikinpoiston jakotislauksen ylinen Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, saatu jakotislauamalla ruotteitakatalyyttisestä leijukrakkaajasta ja kaasuoiljyn rikinpoistajasta. Koostuu vedystä ja hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> -stä C <sub>5</sub> :seen.]	H K	273-269-7	68955-33-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-168-00-2	Kaasut (maaöljy), raakatisle ja katalyyttinen krakkaus Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, saatu raakatislaus-jakatalyyttisestä krakkausprosessista. Koostuu vedystä, rikkivedystä, typestä, hiilimonoksidista ja parafinisisistä olefinisistä hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> -stä C <sub>6</sub> :seen.]	H K	273-563-5	68989-88-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-169-00-8	Kaasut (maaoily), kaasuoilyjen, kaasuoilydietaanoliamiiniskrubberin poisto Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, saatupoistamalla rikki kaasuoilystä dietanoliaminilla, Koostuupääasiassa rikkivedystä ja alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.]	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	Kaasut (maaoily), kaasuoilyjen rikinpoiston sivuvirta Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, saatu erottamalla nestefaasi hydrausreaktion sivuvirrasta. Koostuu pääasiassa vedystä, rikkivedystä ja alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.]	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	Kaasut (maaoily), kaasuoilyjen rikinpoiston ulospuhallus Jalostuskaasu [Monimutkainen kaasuseos, saatu reformoijastaja hydrausreaktorin tyhjennyksistä. Koostuu pääasiassa vedystä ja alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>4</sub> :ään.]	H K	295-399-3	92045-17-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-172-00-4	Kaasut (maaoily), hydraajan sivuvirran erotussäiliön poisto Jalostuskaasu [Monimutkainen kaasuseos, saatuleimauttamalla sivuvirrat hydrausreaktion jälkeen. Koostuu pääasiassa vedystä ja alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>6</sub> :een.]	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	Kaasut (maaoily), teollisuusbensiniin höyrykrakkauksen korkeapainainen jäännös	H K	295-401-2	92045-19-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, saatu sekoituksena teollisuusbensiniiniväyrykrakkausprosessin kondensoitumattomista osista sekä myöhempien tuotteiden valmistelusta saadustajännöskausuista. Koostuu pääasiassa vedystä ja parafinisista ja olefinisista hiilivedyistä, joidenhiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een, joihin saattaa olla sekoittuneena luonnonkaasua.]							
649-174-00-5	Kaasut (maaöljy), jäännöksen viskositteinvähennyksen poisto Jalostuskaasu [Monimutkainen seos, saatu jäännöstenviskositteinvähennyksestä uunissa. Koostuu pääasiassa rikkipvedystä ja parafinisista ja olefinisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.]	H K	295-402-8	92045-20-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-177-00-1	Kaasut (maaöljy), C <sub>3-4</sub> Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu tisiaamalla tuotteita raakaöljynkrakkauksesta. Koostuu hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>3</sub> :sta C <sub>4</sub> :ään, pääasiassa propaanista ja propyleenistä ja kiehuu likimäärin välillä -51 °C:sta -1 °C:een.]	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	Jäännöskausu (maaöljy), katalyyttisesti krakattu tisle ja katalyyttisesti krakattun teollisuusbensiniin jakotislauksabsorbointiyksikkö Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, joka on saatu tisiaamalla tuotteita katalyyttisesti krakattuihin tisleistä ja	H K	269-617-2	68307-98-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-179-00-2	katalyyttisesti krakatuista teollisuusbensiniistä. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>4</sub> :ään.]	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	Jäännöskaasu (maaoöljy), katalyyttisesti reformoidun teollisuusbensiniinijakotilauksen stabilointiyksikkö Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyteollisuusbensiniin polymeeroimien tuotteiden jakotilauksstabiloimista. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>4</sub> :ään.]	H K	269-619-3	68308-00-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-181-00-3	Jäännöskaasu (maaoöljy), krakatus tisleen vedynpoistoyksikön strippausyksikkö Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu käsittelmällä lämpökrakattuja tisleitä vedyllä katalyytin läsnäollessa. Koostuu pääasiassa tyydyttyneistä hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>6</sub> :teen.]	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	Jäännöskaasu (maaoöljy), suoratisleen rikkinpoistoyksikkö,	H K	269-630-3	68308-10-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnot	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	rikkivetyvapaa Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu suorajuoksuuttettujen tislaiden katalyyttisestä rikinpoistosta vedyn avulla ja josta on poistettu rikkivety aminikäsittelyllä. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiilituivat ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> -stä C <sub>4</sub> -ään.]					S: 53-45		
649-183-00-4	Jäännöskaaasu (maaöljy), kaasuöljyn katalyyttinen krakkausabsorbenttiyksikkö Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu kaasuöljyn katalyyttisen krakkauksen tuotteiden tislauksesta. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiilituivat ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> -stä C <sub>5</sub> -seen.]	H K	269-623-5	68308-03-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-184-00-X	Jäännöskaaasu (maaöljy), kaasun talteenottolaitos Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä sekalaisten hiilivetyvirtojen tuotteiden tislauksesta. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiilituivat ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> -stä C <sub>5</sub> -seen.]	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	Jäännöskaaasu (maaöljy), kaasun talteenottolaitoksen etaaninpoistoyksikkö Maaöljykaasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä sekalaisten hiilivetyvirtojen tuotteiden tislauksesta. Koostuu hiilivedyistä, joiden hiilituivat ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> -stä C <sub>4</sub> -ään.]	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	Jäännöskaaasu (maaöljy), rikittömän tisleen ja teollisuusbenssiin jakotislaukolonni, happovapaa	H K	269-626-1	68308-06-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-187-00-6	Maaöljykaasu  Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatujakotilaamalla teollisuusbensiniä ja tiislattujahiilivetyvirtoja, käsitely happamien epäpuhtauksienpoistamiseksi. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joidenhiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>3</sub> :stä C <sub>5</sub> :een.]		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	Jäännöskaasu (maaöljy), tyhjöökaasun öljytrippausyksikkö, rikitön Maaöljykaasu  Monimutkainen seos hiilivetyjä,saatu tyhjöökaasuöljyn, josta on poistettu rikki vedynavulla katalyyttisesti, strippausstabiloinnista, rikkivetyon poistettu amiinikäsittelyllä. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>6</sub> :een.]	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	Jäännöskaasu (maaöljy), propaani-propyleeni alkylointisyöte valmistelemaan etaaninpoistoyksikköön Maaöljykaasu  Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatutislaamalla propaanin reaktiotuotteita propyleenin kanssa. Koostuu hiilivedyistä,	H K	269-631-9	68308-11-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnot	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> -stä C <sub>4</sub> -ään.]							
649-190-00-2	Jäännöskaaasu (maaöljy), tyhjökäasuöljyn rikkinpoistoyksikkö, rikkivetyvapaa Maaöljykäasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu tyhjökäasuöljynkatalyyttisestä rikkinpoistosta vedyn avulla ja josta onpoistettu rikkivety aminikäsittelyllä. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> -stä C <sub>6</sub> -een.]	H K	269-632-4	68308-12-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-191-00-8	Kaasut (maaöljy), katalyyttisesti krakattu ylineno Maaöljykäasu [Monimutkainen seos hiilivetyjä, saaturislaamalla katalyyttisen krakkausprosessin tuotteita. Koostuu hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>3</sub> -sta C <sub>5</sub> -een ja jotka kiehuvat likimäärin välillä -48 °C:sta 32 °C:een.]	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	Alkaanit, C <sub>1-2</sub> Maaöljykäasu	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	Alkaanit, C <sub>2-3</sub> Maaöljykäasu	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	Alkaanit, C <sub>3-4</sub> Maaöljykäasu	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	Alkaanit, C <sub>4-5</sub> Maaöljykäasu	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	Polttokaasut Maaöljykäasu [Seos kevyitä kaasuja. Koostuu pääasiassa vedystä ja/tai matalamolekyylipainoisista hiilivedyistä.]	H K	270-667-2	68476-26-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-198-00-6	Polttokaasut, raakaöljyisleet Maaöljykaasu   Monimutkainen seos kevyitä kaasuja, saatu raakaöljyntislauksesta ja teollisuusbensiniin katalyyttisestä reformoinnista. Koostuu vedystä ja hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>4</sub> :ään ja jotka kiehuvat likimäärin välillä -217 °C:sta -12 °C:een.]	H K	270-670-9	68476-29-9	Carc. Cat. 1; R45 Mutta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-199-00-1	Hiilivedyt, C <sub>3-4</sub> Maaöljykaasu	H K	270-681-9	68476-40-4	Carc. Cat. 1; R45 Mutta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-200-00-5	Hiilivedyt, C <sub>4,5</sub> Maaöljykaasu	H K	270-682-4	68476-42-6	Carc. Cat. 1; R45 Mutta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-201-00-0	Hiilivedyt, C <sub>2,4</sub> , C <sub>3</sub> -rikas Maaöljykaasu	H K	270-689-2	68476-49-3	Carc. Cat. 1; R45 Mutta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-202-00-6	Maaöljykaasut, nesteytyt Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu raakaöljyn tislauksesta. Koostuuhiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>3</sub> :sta C <sub>7</sub> :ään ja jotka kiehuvat likimäärin välillä -40 °C:sta 80 °C:een.]	HKS	270-704-2	68476-85-7	F+; R12 Carc. Cat. 1; R45 Mutta. Cat. 2; R46	F+; T R: 12-45-46 S: 53-45		
649-203-00-1	maaöljykaasut, nesteytyt, makeutetut Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu nesteytetystämaaöljykaasuseoksesta hapettamalla merkapaanit tai poistamalla happamat epäpuhtaudet makeutusprosessilla. Koostuu hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>3</sub> :sta C <sub>7</sub> :ään ja jotka kiehuvat likimäärin välillä -40 °C:sta 80 °C:een.]	HKS	270-705-8	68476-86-8	F+; R12 Carc. Cat. 1; R45 Mutta. Cat. 2; R46	F+; T R: 12-45-46 S: 45-53		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-204-00-7	Kaasut (maaoily), C <sub>3,4</sub> , isobutaanirikas Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä tyydyttyneiden jättydyntymättömien hiilivetyjen, joiden hiililuvut tavallisesti ovat välillä C <sub>3</sub> :sta C <sub>6</sub> :een, pääasiassa butaanin ja isobutaanin, tislauksesta. Koostuu tyydyttyneistä ja tyydyntymättömistä hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>3</sub> :sta C <sub>4</sub> :ään, pääasiassa isobutaania.]	H K	270-724-1	68477-33-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-205-00-2	Tisleet (maaoily), C <sub>3,6</sub> , piperyleenirikas Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä tyydyttyneiden jättydyntymättömien alifaattisten hiilivetyjen, joiden hiililuvut tavallisesti ovat välillä C <sub>3</sub> :sta C <sub>6</sub> :een, tislauksesta. Koostuu tyydyttyneistä hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C <sub>3</sub> :sta C <sub>6</sub> :een, pääasiassa piperyleneistä.]	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	Kaasut (maaoily), butaanin jakotislaukukolonnin ylimeno Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatut tislauksella butaanivirtaa. Koostuu alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>3</sub> :sta C <sub>4</sub> :ään.]	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	Kaasut (maaoily), C <sub>2,3</sub> Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu katallyttimen jakotislauksprosessintuotteiden tislauksesta. Sisältää pääasiassa etaania, etyleeniä, propaania ja propyleeniä.]	H K	270-751-9	68477-70-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
649-208-00-9	Kaasut (maaoöljy), katalyyttisesti krakatus kaasuöljyn propaanipolystoyksikön pohjat, C4-rikas happovapaa Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatujakorislaamalla katalyyttisesti krakatus kaasuöljynhiilivetyvirtaa ja käsitelty rikkivedyn ja muiden happamienepäpuhtauksien poistamiseksi. Koostuu hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat välillä C1:stä C <sub>3</sub> :een, pääasiassa C <sub>4</sub> .	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	Kaasut (maaoöljy), katalyyttisesti krakatus teollisuusbenssiin butaanipolystoyksikön pohjat, C <sub>3</sub> -rikas Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatukatalyyttisesti krakatus teollisuusbenssiinijakotilausstabiiloinnista. Koostuu alifaattisista hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>3</sub> :sta C <sub>5</sub> :een.	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	Jäännöskaasu (maaoöljy), isomeroidun teollisuusbenssiin jakotilausstabiilointiyksikkö Maaöljykaasu   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu isomeerisoidun teollisuusbenssiinijakotilausstabiilointituotteista. Koostuu pääasiassa hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>1</sub> :stä C <sub>4</sub> :ään.	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	Polttoaineet, diesel Kaasuöljy - tämsentämätön   Monimutkainen seos hiilivetyjä, saatu raakaöljyntilauksesta. Koostuu hiilivedyistä, joiden hiililuvut ovat pääasiassa välillä C <sub>9</sub> :stä C <sub>20</sub> :een ja jotka kiehuvatilkimäärin välillä 163	H N	269-822-7	68334-30-5	Carc. Cat. 3; R40	Xn R: 40 S: (2-)36/37		



Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
005-009-00-3	tetrabutylammoniumbutyyli-trifenyliboraatti		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-dimetyyliaminiutetrakis(pentafloorifenyli)boraatti		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	dietyyli-[4-1,5,5-tris(4-dietyyliaminofenyli)pen-2,4-dienyliideeni]sykloheksa-2,5-dienyliideeni] ammonium butyyli-trifenyliboraatti(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	propoksisikarbatsosinatrium		-	-	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-butyyli)(x(etyyli)-1,5-dihydro)alumiinaatti) x = 0,5 y = 1,5		418-720-2	-	F; R11 R14/15 R17 Xn; R20 C; R35	F; C R: 11-14/15-17-20-35 S: (1/2-)6-16-26-30-36/37/39-43-45		
014-026-00-5	dikloori(3-(3-kloori-4-fluorifenyli)propyyli)metyylisilaani		407-180-3	-	C; R35	C R: 35 S: (1/2-)26-36/37/39-45		
014-027-00-0	kloori(3-(3-kloori-4-fluorifenyli)propyyli)dimetyylisilaani		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-oksoprop-2-enyyli)-1-oksi-propyyli]dimetoksisilylioksi-ω-[3-(1-oksoprop-2-enyyli)-1-oksi-propyyli]dimetoksisilylipoly (dimetyylisiliksaani)		415-290-8	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
014-029-00-1	O,O'-(etenyyldimetyylisilyleeni)di(4-metyylipentan-2-oni)oksiimi]		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	[(dimetyylisilyleeni)bis(1,2,3,3a,7a-η)-IH-inden-1-ylideeni]dimetyyli]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-metyylietyyli)dimetoksisilaani		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		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
014-032-00-8	disyklopentyylidimetoksisilaani		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*)- 12-metyyli-1-(1-oksopropoksi)propoksi-(4-fenylibutyyl)fosforyyli]etikakaha ppo, (-) kinkonidini (1:1)suola		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	Fosfiini		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	glyfosaatin suolat, paitsi muualla tässä luetelossa mainitut		-	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
015-186-00-9	Klorpyrifossi-metyyli		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	Seos: tetranatrium((2-hydroksietyyli)imino)bis(metyleen)bisfosfonaatti, N-oksidi; trinatrium(tetrahydro-2-hydroksi-4H-1,4,2-oksatsaforin-4-yyli)metyyli)fosfonaatti, N-oksidi, P-oksidi		417-540-1	-	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
015-189-00-5	fenylibis(2,4,6-trimetyylibentsoyyli)fosfintoksid		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-dikloori-3-(3-(4-(2,5-disulfonaattiantilini)-6-fluori-1,3,5-triaatsin-2-yyliamino)prop-3-yyliamino)-5,12-dikso-7,14-diatapentaseeni-4,11-disulfonaatti		402-590-9	109125-56-6	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
016-087-00-3	Seos: tobis(4,1-fenyleeni)-S,S',S'-tetrafenyylidisulfoniumbishesksafl		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		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	uorofosfaatti difenyylidi(4-fenyylitiofenyyli)sulfoniumheksafluorifosfaatti propyleenikarbonaatti							
016-088-00-9	4-(bis(4-(dietyyliamino)fenyyli)metyyli)bentseeni-1,2-dimetaanisulfonihappo		407-280-7	71297-11-5	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
016-089-00-4	Estereiden seos: 5,5',6,6',7,7'-heksahydroksi-3,3',3'-tetrametyyli-1,1'-spirobi-indaani ja 2-diatso-1,2-dihydro-1-okso-5-sulfonafaleeni		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-metyyli-N-(metyylisulfonyyli)bentseenisulfonamidi		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-alkyyliammonium-1-amino-9,10-dihydro-9,10-dikso-4-(2,4,6-trimetyylianiilino)antraseeni-2-sulfonaatti		414-110-5	-	Xi; R41 N; R50-53	Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
016-093-00-6	Seos (2:1): 4-(7-hydroksi-2,4,4-trimetyyli-2-kromanyyli)resorsinol-4-yyliiris(6-diatso-5,6-dihydro-5-oksonafaleeni-1-sulfonaatti 4-(7-hydroksi-2,4,4-trimetyyli-2-kromanyyli)resorsinolibis(6-diatso-5,6-dihydro-5-oksonafaleeni-1-sulfonaatti		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	Seos: reaktiotote 4,4'-metyleenibis[2-(4-hydroksibentsyyli)-3,6-dimetyylifenoli] ja 6-diatso-5,6-dihydro-5-okso-naftaleenisulfonaatti (1:2) Reaktiotote: 4,4'-metyleenibis[2-(4-hydroksibentsyyli)-3,6-dimetyylifenoli] ja 6-diatso-5,6-dihydro-5-okso-naftaleenisulfonaatti (1:3)		417-980-4	-	F; R11 Carc.Cat.3; R40	F; Xn R: 11-40 S: (2-)7-36/37		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
016-096-00-2	Tifensulfuroni-metyyli		-	79277-27-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
017-015-00-3	(2-(aminometyyli)fenyyli)asetyylikloridi		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	metyylitriphenyylifosfoniumkloridi		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-dokosenyyli-N,N-bis(2-hydroksietyyli)-N-metyyliammoniumkloridi		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-trimetyyli-2,3-bis(stearoylioksi)propyyliammoniumkloridi		405-660-7	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
017-019-00-5	(R)-1,2,3,4-tetrahydro-6,7-dimetoksi-1-veratryyli-isokinioliinihydrokloridi		415-110-8	54417-53-7	Xn; R22 R52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		
017-020-00-0	etyylipropoksaliumiumkloridi		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	beheeniimidopropyyliidimetyyli(dihydroksipropyyli)ammoniumkloridi		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	Seos: dikalsium(bis(2-hydroksi-5-tetrapropenyylifenyyliimetyyli)metyyliamiini)dihydroksidi trikalsium(tris(2-hydroksi-5-tetrapropenyylifenyyliimetyyli)metyyliamiini)trihydroksidi polykalsium((2-hydroksi-5-tetrapropenyylifenyyliimetyyli)metyyliamiini)hydroksidi		420-470-4	-	Xi; R36/38 R43	Xi R: 36/38-43 S: (2-)24-26-37		
024-019-00-9	Pääasiainen komponentti: asetetikkahappoamiidi / 3-amino-1-hydroksibentseeni (ATAN-MAP): trimatrium[6-(2 tai 3 tai 4-amino(4 tai 5 tai 6)hydroksifenyyliatso)-5-(fenyyli)sulfamoyyli]-3-sulfonattonaftaleeni-2-		419-230-1	-	R 43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	atsobentseeni-1,2'-diolaatto)-{6"-  1- (fenyylkarbamoyyli)etyyliatso - 5"--(fenyylisulfamoyyli)-3"- sulfonaattonaftaleeni-2"- atsobentseeni-1",2"- diolaatto}kromaatti(III) sivutuote 1: asetetikkahapponiilidi / asetetikkahapponiilidi (ATAN- ATAN): trinitriumbis(6- 1- (fenyylkarbamoyyli)etyyliatso - 5"--(fenyylisulfamoyyli)-3- sulfonaattonaftaleeni-2- atsobentseeni-1,2'- diolaatto}kromaatti(III) sivutuote 2: 3-amino-1- hydroksibentseeni / 3-amino-1- hydroksibentseeni (MAP/MAP); trinitriumbis(6- (2 tai 3 tai 4)amino(4 tai 5 tai 6)- hydroksifenyyliaatso -5'- (fenyylisulfamoyyli)-3- sulfonaattonaftaleeni-2- atsobentseeni-1,2'- diolaatto}kromaatti(III)							
024-020-00-4	trinitriumbis(3'-nitro-5'- sulfonaatto-(6-amino-2- 4-(2- hydroksi-1- nafyyliaatso)fenyylisulfonyyliami nolpyrimidiini-5-ato)bentseeni- 2',4'-diolaatti)}kromaatti(III)		418-220-4	-	R43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		
025-005-00-5	Seos: trinitrium 29H,3IH- ftalosyaniiini-C,C,C-trisulfonaatti (6-)- N29,N30,N31,N32 manganaatti (3-) tetranatrium 29H,3IH- ftalosyaniiini-C,C,C,C- tetrasulfonaatti (6-)- N29,N30,N31,N32 manganaatti (3-) pentanatrium 29H,3IH- ftalosyaniiini-C,C,C,C,C- pentasulfonaatti (6-)- N29,N30,N31,N32 manganaatti (3-)		417-660-4	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
029-012-00-4	natrium((N-(3-trimetyyliammoniopropyyli)sulfamoyyli)metyylisulfonaatto)fosforyylianinaatto)kupari(II)		407-340-2	124719-24-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
029-013-00-X	trinitrium-(2-( $\alpha$ -(3-(4-kloori-6-(2-(2-(vinyylisulfonyyli)etoksi)etyyliamino)-1,3-triaisiin-2-yyliamino)-2-oksido-5-sulfonaatto)fenyyliatso)bensyylideeni)hydratsiini)-4-sulfonaattobentsosuaatti)kupari(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	Trisinkkibis (ortofosfaatti)		231-944-3	7779-90-0	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
030-013-00-7	Sinkkioksididi		215-222-5	1314-13-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
034-003-00-3	Natriumseleeniitti		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-metyylietyyli)fenyyli)-(4-metyylifenyli)jodoniiumtetrakis(pentafluorifenyyli)boraatti (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	Isomeerien seos: metyyliidifenyylimetaani dimetyliidifenyylimetaani		405-470-4	-	Xi; R38 N; R50-53	Xi; N R: 38-50/53 S: (2-)37-60-61		
601-057-00-X	N-dodekyyli]3-(4-dimetyyliamino)bensamiido)propyyli]dimetyyliammoniumtosiylaatti		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-menteeni		417-870-6	-	Xi; R38 R43 N; R50-53	Xi; N R: 38-43-50/53 S: (2-)23-24-37-60-61		
601-059-00-0	metyyli-2-bentsyylideeni-3-oksobutyraatti		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-fluori-6-(4-sulfo-5-(2-(4-sulfonafalen-3-yyliatso)-1-hydroksi)-3,6-disulfo-8-		417-610-1	155522-09-1	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	aminonafteen-7-yyliatso)fenyyliamino)-1,3,5-triaatsin-2-yyliamino)letaami; x-natrium, y-kaliumsuolat x = 7,755 y = 0,245							
601-061-00-1	(etyyli-1,2-etaanidiyyli)-2-[[[(2-hydroksietyyli)metyyliamino]asetyyli]propyyli]-ω-(nonyylifenoksi)polyloksi(metyyli-1,2-etaanidiyyli)		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	Seos: haaraketjuinen triakontaani haaraketjuinen dotriakontaani haaraketjuinen tetraatriakontaani haaraketjuinen heksatriakontaani		417-030-9	151006-59-6	R 53	R: 53 S: 61		
601-063-00-2	Isomeerien seos: haaroittuneet tetrakosaani		417-060-2	151006-61-0	Xn; R20 R53	Xn R: 20-53 S: (2-)61		
601-064-00-8	haaraketjuinen heksatriakontaani		417-070-7	151006-62-1	R53	R: 53 S: 61		
601-065-00-3	Seos: (1'α,3'α,6'α-2,2,3',7',7'-pentametyylispiro(1,3-dioksaani-5,2'-norkaraani) (1'α,3'β,6'α)-2,2,3',7',7'-pentametyylispiro(1,3-dioksaani-5,2'-norkaraani)		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-heptyylisykloheksyyli)fenyyli)etaani		426-820-2	78531-60-9	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
601-067-00-4	trietyyliarsenaatti		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-diasetoksibut-3-eeni		421-720-5	18085-02-4	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)		
601-069-00-5	2-etyyli-1-(2-(1,3-dioksanyyli)etyyli)pyridiniumbromidi		422-680-1	-	R52-53	R: 52/53 S: 61		
601-071-00-6	1-dimetoksimetyyli-2-nitrobenseeni		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-bromi-3,5-difluoribentseeni		416-710-2	461-96-1	R10	Xn; N		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
601-074-00-2	Seos: 4-(2,2,3-trimetyylisyklopropent-3-en-1-yyli)-1-metyyli-2-oksabisyklo[2.2.2]oktaani 1-(2,2,3-trimetyylisyklopropent-3-en-1-yyli)-5-metyyli-6-oksabisyklo[3.2.1]oktaani spiro[sykloheks-3-en-1-yyli](4,5,6,6A-tetrahydro-3,6',6',6'A-tetrametyyli)-1,3'(3'AH)-[2H]-syklopenta[B]furaani spiro[sykloheks-3-en-1-yyli](4,5,6,6A-tetrahydro-4,6',6',6'A-tetrametyyli)-1,3'(3'AH)-[2H]-syklopenta[B]furaani		422-040-1	-	Xn; R22-48/22 Xi; R38 R43 N; R50-53  Xi; R36/38 N; R51-53	R: 10-22-38-43-48/22-50/53 S: (2-)24-36/37-60-61  Xi; N R: 36/38-51/53 S: (2-)26-37-61		
602-093-00-9	a,a,a,4-Tetraklooritoleeni <i>p</i> -Klooribentsotrikloridi	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	Difenyylicetterin oktabromijohdannainen		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	malachite green hydrokloridi; C.I. Basic Green 4 [1] malachite green oksalaatti [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-bromi-9-(4,4,5,5-pentafluoripentyyli)nonaani		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-butyylibifenyyli-2,2'-dioli		407-920-5	6390-69-8	R 53	R: 53 S: 61		
603-168-00-9	3-(2-etyyliheksyylioksi)propani-1,2-dioli		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-fluorifenyyli)-3-hydroksimetyyli-N-metyylipiperidiini		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		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
603-170-00-X	Seos: 2-metyyli-1-(6-metyylibisyklo[2.2.1]hept-5-en-2-yyli)pent-1-en-3-oli 2-metyyli-1-(1-metyylibisyklo[2.2.1]hept-5-en-2-yyli)-pent-1-en-3-oli 2-metyyli-1-(5-metyylibisyklo[2.2.1]hept-5-en-2-yyli)pent-1-en-3-oli		415-990-3	67739-11-1	Xi; R36 N; R51-53	Xi; N R: 36-51/53 S: (2-)26-61		
603-171-00-5	5-tiatsolyyliimetanoli		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-dibentsolb.f)]1,4]tiatsepin-1-yyli]piperatsinium-1-yyli]etoksi)etanoli-trans-buteneidioaatti		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-dimetyyli-3,5,8-trioksa-bisyklo[5,1,0]oktaani		421-750-9	57280-22-5	Xi; R36 R 43	Xi R: 36-43 S: (2-)26-36/37		
603-174-00-1	4-sykloheksyyli-2-metyyli-2-butanoli		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-Heksylioksi)etoksi)etanoli 3,6-Dioksa-1-dodekanoli Dietyleenglykolin monoheksyylieteetri DEGHE Heksyliikarbitoli		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-Metoksi)etoksi)etaani TEGDME Trietyleenglykolin dimetylieteetri Triglyymi		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-Etoksiopropan-2-oli 2PGIEE 1-Etoksi-2-propanoli Propyleenglykolin monoetylieteetri [1] 2-Etoksi-1-metyylietyliasetaatii 2PGIEEA [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-Heksylioksi)etanoli		203-951-1	112-25-4	Xn	C		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	Etyleeni glykolin monoheksyylieteeri n-Heksyyliglykoli				R21/22 C; R34	R: 21/22-34 S: (1/2-)26-36/37/39-45		
603-179-00-9	Ergokalsiferoli		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		
603-180-00-4	Kolekalsiferoli		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	Metyyli- <i>tert</i> -butyylieteeri MTBE 2-Metoksi-2-metyylipropaani		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-Butoksiteoksi)etoksi]etanoli TEGBE Trietyleeni glykolin monobutyyleeteri Butoksitrietyleeni glykoli		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-(hydroksimetyyli)-2-[[2-hydroksi-3-(iso-oktaidekylioksi)propoksi]metyyli-1,3-propaanidoli		416-380-1	146925-83-9	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
603-185-00-1	2,4-dikloori-3-etyyli-6-nitrofenoli		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-dimetyyli-1,3-diooksepan-5-oli		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-metyylipyridinium-4-yyli)vinyyli)fenyyliamino)-1,3,5-triaatsin-2-yyli)-(2-hydroksietyyli)amino)etanolidikloridi		419-360-9	163661-77-6	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
603-189-00-3	Kompleksien seos: titaniium, 2,2'-oksidietanoli, ammoniumlaktiaatti, nitritriatsin(2-propanoli) ja etyleeni glykoli		405-250-8	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
603-191-00-4	2-(4,6-bis(2,4-dimetyylifenyyli)-1,3,5-triaatsin-2-yyli)-5-(3-((2-etyyliheksyyli)oksi)-2-		419-740-4	137658-79-8	R53	R: 53 S: 61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	hydroksi-propoksi)fenoli							
603-195-00-6	2-[4-(4-metoksi-fenyyli)-6-fenyyli-1,3,5-triatsin-2-yyli]fenoli		430-810-3	154825-62-4	R52-53	R: 52/53 S: 61		
603-196-00-1	2-(7-etyyli-1H-indol-3-yyli)etanoli		431-020-1	41340-36-7	Xn; R22-48/22 N; R51-53	Xn; N R: 22-48/22-51/53 S: (2-)36/37/39-61		
603-197-00-7	1-(4-kloorifenyyli)-4,4-dimetyyli-3-(1,2,4-triatsol-1-yyli)metyyli)pentan-3-oli		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	etoksatsolin		-	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-metyylipropan-1-yyli-3-ylideeni)tris(2-sykloheksyyli-5-metyyli)fenoli		407-460-5	111850-25-0	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
604-066-00-7	Seos: 6-(1,1-dimetyylietyyli)-4-tetrapropyli-2-[(2-hydroksi-5-tetrapropyli)fenyyli]metyyli)fenoli (C41-yhdiste) ja 2,2'-bis[6-(1,1-dimetyylietyyli)-1-hydroksi-4-tetrapropyli)fenyyli]metaani (C45-yhdiste) 2,6-bis(1,1-dimetyylietyyli)-4-tetrapropyli)fenoli ja 2-(1,1-dimetyylietyyli)-4-tetrapropyli)fenoli 2,6-bis[(6-(1,1-dimetyylietyyli)-1-hydroksi-4-tetrapropyli)fenyyli]metyyli]-4-(tetrapropyli)fenyyli]metyyli]-4-(tetrapropyli)fenoli ja 2-[(6-(1,1-dimetyylietyyli)-1-hydroksi-4-tetrapropyli)fenyyli]metyyli]-6-[(1-hydroksi-4-tetrapropyli)fenyyli]metyyli]-4-(tetrapropyli)fenoli		414-550-8	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
604-067-00-2	Seos: 2,2'-[(2-hydroksietyyli)imino]bis(metyleen)bis[4-dodekyli)fenolii] formaldehydi, oligomeeri, jossa on 4-dodekyli)fenolia ja 2-aminoetanolia (n = 2)		414-520-4	-	Xi; R38-41 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-50/53 S: (2-)26-37/39-60-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
604-068-00-8	formaldehydi, oligomeeri, jossa on 4-dodekyylifenolia ja 2-aminoetanolia (n = 3, 4 tai suurempi)		415-170-5	99095-19-9	Xn; R20/22 R 43	Xn R: 20/22-43 S: (2-)24-26-37		
604-069-00-3	(+/-)-4-[2-[[3-(4-hydroksifenyyli)-1-metyylipropyylilamino]-1-hydroksietyyli]fenolihydrokloridi		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	triklosaani		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	Seos: 2,2-dimetoksetanaali (Tämän komponentin katsotaan olevan vedetön. Kuitenkin 2,2-dimetoksetanaali esiintyy hydraattimuodossa. 60-prosenttisesti vedetön vastaa 70,4-prosenttista hydraattia) Vesi (vapaa vesi ja 2,2-dimetoksetanaalissa hydrataatiovetenä oleva vesi mukaan luettuna)		421-890-0	-	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
606-062-00-0	tetrahydroiopyraani-3-karboxialdehydi		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-kloorifenyyli)-2-(4-fluorifenyyli)propenaali		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-eeni-3,20-dionibis(etyleeniketaali)		407-450-0	7093-55-2	R 53	R: 53 S: 61		
606-065-00-7	1-(4-morfolinofenyyli)butaan-1-oni		413-790-0	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
606-066-00-2	(E)-5-[(4-kloorifenyyli)metyleeni]-2,2-dimetyylisyklopentaani		410-440-9	131984-21-9	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
606-067-00-8	Seos: 1-(2,3,6,7,8,9-heksahydro-1,1-dimetyyli-1H-bents(g)inden-4-yyli)etanoni 1-(2,3,5,6,7,8-heksahydro-1,1-dimetyyli-1H-bents(f)inden-4-yyli)etanoni 1-(2,3,6,7,8,9-heksahydro-1,1-dimetyyli-1H-bents(g)inden-5-yyli)etanoni 1-(2,3,6,7,8,9-heksahydro-1,1-dimetyyli-1H-bents(g)inden-5-yyli)etanoni 1-(2,3,6,7,8,9-heksahydro-3,3-dimetyyli-1H-bents(g)inden-5-yyli)etanoni		414-870-8	96792-67-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-068-00-3	2,7,11-trimetyyli-1,3-(2,6,6-trimetyylisykloheks-1-en-1-yyli)tridekaheksaen-2,4,6,8,10,12-aali		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-dioksolaani-2,5'-(4',4',8',8'-tetrametyyli)heksahydro-3',9'-metanonaftaleeni]		415-460-1	154171-77-4	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24-61		
606-070-00-4	5-(3-butyryyli-2,4,6-trimetyylifenyli)-2- 1-(etoksi-imino)propyyli-3-hydroksisykloheks-2-en-1-oni		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-dimetyyli-1,3-dioksan-2-yyli]androsta-1,4-dien-3-oni		421-050-3	13258-43-0	N; R50-53	N R: 50/53 S: 22-60-61		
606-072-00-5	3-asetyyli-1-fenyliipyrrolidiini-2,4-dioni		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(Dimetyyliamino)bentsofenoni Michlerin ketoni		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-bentsyyli-5-eroksiimidatsolidiini-2,4-dioni		417-340-4	65855-02-9	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)22		
606-076-00-7	1-(2-kinolinylikarbonyyli)oksii-2,5-pyrrolidindioni		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-heksyyli-4- (R)-2-hydroksitridekyyli-2-oksetanoni		418-650-2	104872-06-2	N; R50-53	N R: 50/53		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
606-078-00-8	1-oktyylisepin-2-oni		420-040-6	59227-88-2	C; R34 R 43 N; R51-53	S: 60-61 C; N R: 34-43-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		
606-079-00-3	2-n-butyylibentsodijisotiatsol-3-oni		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	Reaktioteute: 3-hydroksi-5,7-ditert-butyylibentsofuran-2-oni ja o-ksyleeni		417-100-9	-	R 53	R: 53 S: 61		
606-081-00-4	(3β, 5α, 6β)-3-(asetyylioksi)-5-bromi-6-hydroksiandrostan-17-oni		419-790-7	4229-69-0	R43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-36/37-61		
606-082-00-X	Seos: butan-2-onitoksiimi syn-O'-di(butan-2-onitoksiimi)dietoksisilaani		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-kloori-5-sek-heksadekyylhydrokinoni		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-metoksi-5-bentsofuranyyli)-3-fenyyl-1,3-propaanidioni		414-540-3	484-33-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-085-00-6	(1R,4S)-2-atsabisyklol[2.2.1]hept-5-en-3-oni		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-dimetyylisykloheksyyli)pent-4-en-1-oni		422-330-8	56973-87-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
606-087-00-7	6-etyyli-5-fluori-4-(3H)-pyrimidoni		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-tetrametyyli-6-okten-3-oni		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	Seos: 1,4-diamino-2-kloori-3-fenoksantrakinoni 1,4-diamino-2,3-bisfenoksantrakinoni		423-220-2	12223-77-7	R53	R: 53 S: 61		
606-091-00-9	6-kloori-5-(2-kloorietyyli)-1,3-dihydroindol-2-oni		421-320-0	118289-55-7	N; R50-53	N R: 50/53		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
606-092-00-4	Seos: (E)-oksaasykloheksadek-12-en-2-oni (E)-oksaasykloheksadek-13-en-2-oni a) (Z)-oksaasykloheksadek(12)-en-2-oni ja b) (Z)-oksaasykloheksadek(13)-en-2-oni		422-320-3	111879-80-2	N; R50-53	S: 60-61 N R: 50/53 S: 60-61		
607-379-00-7	Seos: 2-[N-(2-hydroksietyyli)stearamido]etyylis tearaatti natrium]bis[2-(stearoylioksi)etyyli]amino]metyylisulfonaatti natrium]bis(2-hydroksietyyli)amino]metyylisulfonaatti N,N-bis(2-hydroksietyyli)stearamidi		401-230-8	55349-70-7	R52-53	R: 52/53 S: 61		
607-380-00-2	Seos: ammonium-1,2-bis(heksyylioksikarbonyyli)jetaani sulfonaatti ammonium-1-heksyylioksikarbonyyli-2-oktyylioksikarbonyylietaanisulfo-naatti ammonium-2-heksyylioksikarbonyyli-1-oktyylioksikarbonyylietaanisulfo-naatti		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	Triesteriseos: 2,2-bis(hydroksimetyyli)butanoli sekä C7-alkaanilhapot ja 2-etyyliheksaanihappo		413-710-4	-	R 53	R: 53 S: 61		
607-382-00-3	2-((4-amino-2-nitrofenyyli)amino)beensoehappo		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	Seos: 2,2,6,6-tetrametyylipiperidin-4-yyliheksadekanaoatti 2,2,6,6-tetrametyylipiperidin-4-yylioktadekanaoatti		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	Seos: 3,5-di-t-butyyli-4-		413-750-2	171090-93-0	R 53			

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	hydroksifenyylipropionihapon C14-C15-haaraketjuisten alkoholien esterit C15 haaraketjuinen ja suoraketjuinen alkyyli-3,5-bis(1,1-dimetyylietyyli)-4-hydroksibentseenipropanoatti C13 haaraketjuinen ja suoraketjuinen alkyyli-3,5-bis(1,1-dimetyylietyyli)-4-hydroksibentseenipropanoatti		414-590-6	125229-74-5	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-385-00-X	Osittain 4-(2-(4-formyylifenyyli)etenyyli)-1-metyylipyridiniummetyylisulfaatti asetyloitunut vinyylialkoholin ja vinyylasetaatin kopolymeeri		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		
607-386-00-5	Seos: tetradekaanihappo (42,5-47,5%) tetradekaanihapon poly(1-7)laktattiesterit (52,5-57,5%)		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		
607-387-00-0	Seos: dodekaanihappo (35-40%) dodekaanihapon poly(1-7)laktattiesterit (60-65%)		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		
607-388-00-6	4-etyyliamino-3-nitrobentsoehappo		414-130-4	119710-96-2	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)22		
607-389-00-1	trinatrium-N,N-bis(karboximetyyli)-3-amino-2-hydroksi-propionaatti		414-270-6	41959-35-7	Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)22-61		
607-390-00-7	1,2,3,4-tetrahydro-6-nitrokinoksaliini		414-240-2	6914-71-2	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-391-00-2	dimetyylisyklopropaani-1,1-dikarboxylaatti		414-260-1	88938-37-8	R 53	R: 53 S: 61		
607-392-00-8	2-fenoksietyyli-4-((5-syano-1,6-dihydro-2-hydroksi-1,4-dimetyyli-6-okso-3-pyridinyyli)atso)bensouatti		415-750-8	106447-44-3	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-393-00-3	3-(cis-1-propenyli)-7-amino-8-okso-5-tia-1-atsabisyklo[4.2.0]okt-2-eeni-2-							

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	karboksylihapo							
607-394-00-9	5-metyylipyraatsiini-2-karboksylihapo		413-260-9	5521-55-1	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-395-00-4	Seos: natrium-1-tridekyyli-4-allyyli-(2 tai 3)-sulfobutaanidioaatti natrium-1-dodekyyli-4-allyyli-(2 tai 3)-sulfobutaanidioaatti		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-pentametyyli-4-piperidinyyli)-2-(4-metoksibentsylideeni)malonaatti		414-840-4	147783-69-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 22-60-61		
607-397-00-5	Seos: Ca salisylaattit (haaratuneet C10-14 ja C18-30 alkyloidut) Ca fenaattit (haaratuneet C10-14 ja C18-30 alkyloidut) Ca rikitetyt fenaattit (haaratuneet C10-14 ja C18-30 alkyloidut)		415-930-6	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)36/37		
607-398-00-0	etyyli-N-(5-kloori-3-(4-(dietyyliamino)-2-metyylifenyyli-imino)-4-metyyli-6-okso-1,4-sykloheksadienyyl)karbamaatti		414-820-5	125630-94-6	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-399-00-6	2,2-dimetyyli-3-metyyli-3-butenyylipropanoaatti		415-610-6	104468-21-5	Xi; R38 R52-53	Xi R: 38-52/53 S: (2-)37-61		
607-400-00-X	metyyli-3-[[[(dibutyliamino)tioksometyyli]tio]propanoaatti		414-400-1	32750-89-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-401-00-5	etyyli-3-hydroksi-5-okso-3-syklohekseni-1-karboksylaatti		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	metyyli N-(fenylioksi-karbonyyli)-L-valinaatti		414-500-5	153441-77-1	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-403-00-6	Seos: bis(1S,2S,4S)-(1-bentsyyli-4-teri-butoksaikarboksamido-2-hydroksi-5-fenyyl)pentyyliammoniumsukkin aatti isopropyylialkoholi		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		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
607-404-00-1	Seos: ((Z)-3,7-dimetyyli-2,6-oktadienyyl)oksisikarbonyylipropaanihappo di((E)-3,7-dimetyyli-2,6-oktadienyyl)butaanidioaatti di((Z)-3,7-dimetyyli-2,6-oktadienyyl)butaanidioaatti (Z)-3,7-dimetyyli-2,6-oktadienyylibutaanidioaatti (E)-3,7-dimetyyli-2,6-oktadienyyl)oksisikarbonyylipropaanihappo		415-190-4	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
607-405-00-7	2-heksyyliidekyyli-p-hydroksibentsoaatti		415-380-7	148348-12-3	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-406-00-2	kallium-2,5-diklooribentsoaatti		415-700-5	-	Xn; R22 Xi; R41	Xn R: 22-41 S: (2-)26-39		
607-407-00-8	etyyli-2-karboksi-3-(2-tienyyli)propionaatti		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	kallium-N-(4-fluorifenyyli)glysiinaatti		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	Seos: (3R)-11S-(1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ ,6 $\beta$ )-(2S)-2-metyyli-1-oksobutoksi)-8a-?)heksahydro-2,6-dimetyyli-1-naftaleeni 3,5-dihydroksiheptaanihappo inertti biomassa Aspergillus terreusienestä		415-840-7	-	R 43 R 52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)36/37-61		
607-410-00-4	mono 2-(dimetyyliamino)etyyli monovety-2-(heksadek-2-enyyli)butaanidioaatti ja/tai mono 2-(dimetyyliamino)etyyli monovety-3-(heksadek-2-enyyli)butaanidioaatti		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	4-metyyliibentseenisulfonylaatti-(S)-oksaanimetanoli		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		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
607-412-00-5	etyyli-2-(1-syanosyloheksyyli)asettaatti		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-fenyyl-L-proliini		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-etyyliheksyyli)-4,4'- (1,3,5-triatsiini-2,4,6- triyylitriimino)tribentsoaatti		402-070-1	88122-99-0	R53	R: 53 S: 61		
607-415-00-1	poly(metyylimetakrylaatti)-ko- (butyylimetakrylaatti)-ko-(4- akryylioksisibutyli-isopropenyyl- ?,-?- dimetyyliibentsyylikarbamaatti)- ko-(maleiinihappoanhydridi)		419-590-1	-	F; R11 R 43	F; Xi R: 11-43 S: (2-)24-37-43		
607-416-00-7	4-(2-karboksimeetyli)etoksi-1- hydroksi-5- isobutylioksisikarbonyliamino- N-(3-dodekylioksiopropyyli)-2- naftaamidi		420-730-7	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-418-00-8	2-etyyliheksyyli-4- aminobentsoaatti		420-170-3	26218-04-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-419-00-3	(3'-karboksimeetyli-5-(2-(3- etyyli-3H-bentsotiatsool-2- ylideeni)-1-metyylietyliideeni)- 4,4'-dioxso-2- tiokso(2,5')bitiatsolidinyliiden-3- yyli)etikahappo		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(hydroksimeetyli)butaanihappo		424-090-1	10097-02-6	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
607-421-00-4	Sybermetriini cis/trans +/- 40/60 (RS)-a-Syano-3-fenoksibentsyyli (IRS,3RS; IRS,3SR)-3-(2,2- dikloorivinyli)-2,2- dimetyylioksiopropaniikarboksyli aatti		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	a-Sybermetriini		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		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
607-423-00-5	Mekopropin ja mekopropi-P:n esterit		-	-	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)13-36/37-60-61		
607-424-00-0	Trifloksisstrobiini (R)-2-[(2,6-Dimetyylifenyyl)metoksisetyyliamino]propionihapon metyyliesteri		-	141517-21-7	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-46-60-61		
607-425-00-6	Metalakyyli Metyyli-N-(2,6-dimetyylifenyyl)-N-(metoksisetyyli)-DL-alaniinaatti		260-979-7	57837-19-1	Xn; R22 R43 R52-53	Xn R: 22-43-52/53 S: (2-)13-24-37-46-61		
607-426-00-1	1,2-Bentseenidikarboksylihapon dipentyyliesteri, haarautunut ja suorakehjuinen [1] n-Pentyyli-isopentyyliiftalaatti [2] Di-n-pentyyliiftalaatti [3] Di-isopentyyliiftalaatti [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	Bromoksiniiiheptanoaatti 2,6-Dibromi-4-syanofenyliheptanoaatti		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 Bentsyylibutyliiftalaatti		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	Pralleriini ETOC 2-Metyyli-4-okso-3-(prop-2-ynyyl)syklopent-2-en-1-yyli-2,2-dimetyyli-3-(2-metyyliprop-1-enyyli)syklopropanitkarboksyylaatti		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-Metolakloori Seos: (S)-2-Kloori-N-(2-etyyli-6-metyylifenyyl)-N-(2-metoksi-1-metyylfetyyli)asetamidi (80-100%) [1]		- [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		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
607-433-00-X	(R)-2-Kloori-N-(2-etyyli-6-metyylifenyyli)-N-(2-metoksi-1-metyylietyyli)asetamidi (0-20) % [2]		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	Sypermetriini cis/trans +/- 80/20 (RS)-a-Syano-3-fenoksisibentsyyli(1RS,3RS;1RS,3S R)-3-(2,2-dikloorivinyyli)-2,2-dimetyylisyklopropaanikarboksylaatti		240-539-0	16484-77-8	Xn: R22 Xi: R41 N: R51-53	Xn: N R: 22-41-51/53 S: (2-)13-26-37/39-46-61		
607-435-00-0	Mekokroppi-P     ja sen suolat (R)-2-(4-Kloori-2-metyylifenoksi)propionihappo		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	(2S)-isopropyyli-(5R)-metyyli-(1R)-sykloheksyyli-2,2-dihydroksiasetaatti		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-aminofenyyli)-2-syano-2-propeenihappo		417-480-6	-	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-438-00-7	metyyli-2-[(aminosulfonyyli)metyyli]bentsoaatti		419-010-5	-	Xn: R22 Xi: R36	Xn R: 22-36 S: (2-)22-26		
607-439-00-2	metyylitetrahydro-2-furaanikarboksylaatti		420-670-1	37443-42-8	Xi: R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-440-00-8	metyyli-2-aminosulfonyyli-6-(trifluorimetyyli)pyridiini-3-karboksylaatti		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-dodekylioksi-5-metyylifenyyli)karbamoyyli]-4-hydroksi-1-naftyylioliopropionihappo		421-490-6	167684-63-1	R53	R: 53 S: 57-61		
607-442-00-9	bentsyylihydroksi-(4-fenyylibutyli)fosfinyli]asetaatii		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-butyli-6-metyylifenyyli)etyyli]fosfaatti		416-140-4	145650-60-8	R 53	R: 53 S: 61		
607-444-00-X	Seos: cis-1,4-		416-230-3	35541-81-2	R 53			

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	dimetyylisykloheksyyliidibentsosaati trans-1,4-dimetyylisykloheksyyliidibentsosaati					R: 53 S: 61		
607-445-00-5	rauta (III) tris(4-metyylibentseenisulfonaatti)		420-960-8	77214-82-5	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)24-26-39		
607-446-00-0	metyyli-2-[4-(2-kloori-4-nitrofenyyliatso)-3-(1-oksopropyyli)amino]fenyyliamiinopropionaatti		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-hydroksifenyyliatso)fenyyliamino]-3-nitrobentseenisulfonaatti		416-370-5	156738-27-1	R 43 R 52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		
607-448-00-1	2,3,5,6-tetrafluoribentsoehappo		416-800-1	652-18-6	Xi; R38-41	Xi R: 38-41 S: (2-)22-26-37/39		
607-449-00-7	Seos: 4,4',4''-[(2,4,6-triokso-1,3,5-(2H,4H,6H)-triatsemi-1,3,5-triyyli)tris(metyleen)(3,5,5-trimetyyli-3,1-sykloheksanidyyli)iminokarbonyylioksi-2,1-etaanidyyli(etyyli)amino]trisbenseenidiatsomitriilbis(2-metyylipropyli)naftaleenisulfonaatti] 4,4',4''-4''-[[5,5'-[karbonylibis]imino(1,5,5-trimetyyli-3,1-sykloheksanidyyli)metyleen]]-2,4,6-triokso-1,3,5-(2H,4H,6H)-triatsemi-1,1',3,3'-tetrayyli]tetrakis[metyleen](3,5,5-trimetyyli-3,1-sykloheksanidyyli)iminokarbonyylioksi-2,1-etaanidyyli(etyyli)amino]tetrakisbenseenidiatsomitetra[bis(2-metyylipropyli)naftaleenisulfonaatti]		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-merkaptobentsotiatsolyli-(Z)-(2-aminotiatsol-4-yyli)-2-(terbutoksikarbonyyli)isopropoksi-		419-040-9	89604-92-2	R 53	R: 53 S: 61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	iminoasettaatti							
607-451-00-8	4-[4-amino-5-hydroksi-3-(4-(2-sulfoksietyylisulfonyyli)fenyyliatso)-2,7-disulfonafi-6-yyliatso]-6-[3-(4-amino-5-hydroksi-3-(4-(2-sulfoksietyylisulfonyyli)fenyyliatso)-2,7-disulfonafi-6-yyliatso)fenyyli]karbonyyliamino]bentseenisulfonihappo, x natriumsuola		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-bentsyyli-2,6-dihydroksi-4-atsaheptyleeni-bis(2,2-dimetyylioktanoaatti)		418-100-1	172964-15-7	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
607-454-00-4	Seos: trans-2-(1-metyylietyyli)-1,3-dioksaani-5-karboksylihappo; cis-2-(1-metyylietyyli)-1,3-dioksaani-5-karboksylihappo		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-kloori-6-(2,5-disulfenyliamino)-1,3,5-triatin-2-yyliamino]-2,2-dimetyylipropyliamino)antrakini-2-sulfonihappo, Na/Li-suola		419-520-8	172890-93-6	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-456-00-5	3-amino-4-klooribentsoehapon heksadekyyliesteri		419-700-6	143269-74-3	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-457-00-0	tetranatriumdiveetyli-1,1"-dihydroksi-8,8"-[p-fenyyli]bis(imino{6-[4-(2-aminoetyyli)piperatsin-1-yyli]-1,3,5-triatini-4,2-diyylimino})bis(2,2'-atsonaftaleeni-1',3,6'-trisulfonaatti)		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	Seos: 2-etyyli[2,6-dibromi-4-[1-[3,5-dibromi-4-(2-hydroksietoksi)fenyyli]-1-metyylietyyli]fenoksi]propenoaatti 2,2'-dietyyli[4,4'-bis(2,6-dibromifenoksi)-1-metyylietyyli]ideeni[dipropenoaatti 2,2'-[1-metyylietyli]ideeni]bis[2,6-		420-850-1	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
607-459-00-1	dibromi-4,1-fenyleeni)oksi etanoli   isopentyyli-4-(2-[5-syano-1,2,3,6-tetrahydro-1-(2-isopropoksietoksi)karbonyylimetyyli]-4-metyyli-2,6-diookso-3-pyridylideeni hydraisino bentsoaatti	418-930-4	-	R 53	R: 53 S: 61			
607-460-00-7	3-tridekyylioksi propyyliammonium-9-oktadekenoaatti	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	Seos: pentaatrium-2-(4-[3-metyyli-4-[6-sulfonaatto-4-(2-sulfonaatto)fenyyliatso]naftalen-1-yyliatso]fenyyliamino)-6-[3-(2-sulfaaattoetaanisulfonyyli)fenyyliamino]-1,3,5-triatin-2-yyliamino bentseeni-1,4-disulfonaatti pentaatrium-2-(4-[3-metyyli-4-[7-sulfonaatto-4-(2-sulfonaatto)fenyyliatso]naftalen-1-yyliatso]fenyyliamino)-6-[3-(2-sulfaaattoetaanisulfonyyli)fenyyliamino]-1,3,5-triatin-2-yyliamino bentseeni-1,4-disulfonaatti	421-160-1	-	R 52-53	R: 52/53 S: 61			
607-462-00-8	Seos: 1-heksyyliasettaatti 2-metyyli-1-pentyyliasettaatti 3-metyyli-1-pentyyliasettaatti 4-metyyli-1-pentyyliasettaatti muut suoratetijiset ja haaraketijiset C6-alkyyliasettaattiseokset	421-230-1	88230-35-7	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61			
607-463-00-3	3-(fenotiatsin-10-yyli)propionihappo	421-260-5	362-03-8	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24/25-61			
607-464-00-9	Seos: 7-kloori-1-etyyli-6-fluori-1,4-dihydro-4-oksokiniini-3-karboksyliihappo 5-kloori-1-etyyli-6-fluori-1,4-dihydro-4-oksokiniini-3-karboksyliihappo	421-280-4	68077-26-9	R 52-53	R: 52/53 S: 61			

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
607-465-00-4	tris(2-hydroksietyyli)ammonium-7-[4-[4-(2-syanoamino-4-hydroksi-6-oksipyrimidin-5-yyliatso)bensamido]-2-etoksifenylylatso]naftaleeni-1,3-disulfonaatti		421-440-3	-	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-466-00-X	Seos: fenyyli-1-(1-2-kloori-5-(heksadekyylioksi)karbonyyli)fenyylikarbamoyyli-3,3-dimetyyli-2-oksobutyyl)-1H-2,3,3a,7a-tetrahydrobentsotriatsoli-5-karboksyalaatti fenyyli-2-(1-(2-kloori-5-(heksadekyylioksi)karbonyyli)fenyylikarbamoyyli)-3,3-dimetyyli-2-oksobutyyl)-1H-2,3,3a,7a-tetrahydrobentsotriatsoli-5-karboksyalaatti fenyyli-3-(1-(2-kloori-5-(heksadekyylioksi)karbonyyli)fenyylikarbamoyyli)-3,3-dimetyyli-2-oksobutyyl)-1H-2,3,3a,7a-tetrahydrobentsotriatsoli-5-karboksyalaatti		421-480-1	-	N: R: 51/53 S: 37/39-61			
607-467-00-5	1,1,3,3-tetrabutyyli-1,3-ditnaoksidikaaprylaatti		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	Seos: mononatrium-4-((4-(5-sulfonaatto-2-metoksifenyyliamino)-6-kloori-1,3,5-triatsin-2-yyli)amino)-2-((1,4-dimetyyli-6-oksido-2-okso-5-sulfonaattometyyli-1,2-dihydropyridin-3-yyli)atso)benseenisulfonaatti dinatrium-4-((4-(5-sulfonaatto-2-metoksifenyyliamino)-6-kloori-1,3,5-triatsin-2-yyli)amino)-2-((1,4-dimetyyli-6-oksido-2-okso-5-sulfonaattometyyli-1,2-dihydropyridin-3-yyli)atso)benseenisulfonaatti trinatrium-4-((4-(5-sulfonaatto-2-metoksifenyyliamino)-6-kloori-1,3,5-triatsin-2-yyli)amino)-2-((1,4-dimetyyli-6-oksido-2-okso-		419-450-8	-	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
607-469-00-6	5-sulfonaattometyyli-1,2-dihydropyridin-3-yyli)atso)bentseenisulfonaatti tetranatrium-4-((4-(5-sulfonaatto-2-metoksisfenyyliamino)-6-kloori-1,3,5-triatsin-2-yyli)amino)-2-((1,4-dimetyyli-6-oksidio-2-okso-5-sulfonaattometyyli-1,2-dihydropyridin-3-yyli)atso)bentseenisulfonaatti		419-460-2	120029-06-3	R52-53	R: 52/53 S: 61		
607-470-00-1	kalium natrium 6,13-dikloori-3,10-bis[2-[4-(3-(2-hydroksisulfonylioksietaanisulfonyl)fenyyliamino]-6-(2,5-disulfonaattifenyyliamino)-1,3,5-triatsin-2-yyliamino]etyyliamino]bentsol]5,6]]1,4]oksaatsiin]2,3-b]fenoksaatsiini-4,11-disulfonaatti		414-100-0	-	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)39-22-26-61		
607-472-00-2	ammoniumrauta(III)-trimetyleenidiamiinitetraasetaatihemihydraatti		400-660-3	111687-36-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-474-00-3	(4-(4-(4-dimetyyliaminobentsyyliden-1-yyli)-3-metyyli-5-okso-2-pyratsolin-1-yyli)bentsoeahappo		410-430-4	117573-89-4	R53	R: 53 S: 61		
607-475-00-9	Seos: tetranatrium-7-(4-[4-kloori-6-]metyyli(3-sulfonaattofenyyli)amino]-1,3,5-triatsin-2-yyliamino]-2-ureidofenyyli-atso)naftaleeni-1,3,6-trisulfonaatti tetranatrium-7-(4-[4-kloori-6-]metyyli(4-sulfonaattofenyyli)amino]-1,3,5-triatsin-2-yyliamino]-2-ureidofenyyli-atso)naftaleeni-1,3,6-trisulfonaatti		412-940-2	148878-18-6	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
607-476-00-4	trinatrium-N,N-bis(karboximetyyli)-β-alaniini		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	tetrametyyliammoniumvetyfalaatti		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	heksadekyyli-4-kloori-3-[2-(5,5-dimetyyli-2,4-diookso-1,3-oksatsolidin-3-yyli)-4,4-dimetyyli-3-oksopentamido]bentsoaatti		418-550-9	168689-49-4	R53	R: 53 S: 61		
607-480-00-6	1,2-Bentseenidikarboksylihapon C7-11-haarautuneet ja suoraakettiset dialkyyliesterit		271-084-6	68515-42-4	Repr. Cat. 2; R61 Repr. Cat. 3; R62	T R: 61-62 S: 53-45		
607-487-00-4	Seos: dinatrium-4-(3-etoksikarbonyyli-4-(5-(3-etoksikarbonyyli-5-hydroksi-1-(4-sulfonaattofenyylipyratsol-4-yyli)pena-2,4-dienyliideeni)-4,5-dihydro-5-oksopyratsol-1-yyli)bentseenisulfonaatti trinatrium-4-(3-etoksikarbonyyli-4-(5-(3-etoksikarbonyyli-5-oksido-1-(4-sulfonaattofenyylipyratsol-4-yyli)pena-2,4-dienyliideeni)-4,5-dihydro-5-oksopyratsol-1-yyli)bentseenisulfonaatti		402-660-9	-	Repr.Cat.2; R61 R52-53	T R: 61-52/53 S: 53-45-61		
607-488-00-X	etyyli(2-asetyyliamino-5-fluori-4-isotiosyanattofenoksi)asetaatii		414-210-9	147379-38-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-489-00-5	Seos: 2-etyyliheksyyliinoleaatti, 2-etyyliheksyyliinoleaatti ja 2-etyyliheksyylioleaatti 2-etyyliheksyyliepoksioleaatti 2-etyyliheksyyli diepoksiiinoleaatti 2-etyyliheksyyli triepoksiiinoleaatti		414-890-7	71302-79-9	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
607-490-00-0	N-[2-hydroksi-3-(C12-16-alkyyloksi)propyyli]-N-metyylglysiinaatti		415-060-7	-	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)24-26-37/39		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
607-492-00-1	2-(1-(3',3'-dimetyyli-1-sykloheksyyli)etoksi)-2-metyylipropyylipropanoaatti		415-490-5	141773-73-1	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-493-00-7	metyyli-(3aR,4R,7aR)-2-metyyli-4-(1S,2R,3-triasetoksipropyyli)-3a,7a-dihydro-4H-pyrano[3,4-d]oksatsoli-6-karboksylaatti		415-670-3	78850-37-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-494-00-2	bis(2-etyyliheksyyli)oktyylifosfonaatti		417-170-0	52894-02-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-495-00-8	natrium-4-sulfofenyli-6-(1-oksononyyli)amino)heksanoaatti		417-550-6	168151-92-6	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
607-496-00-3	2,2'-metyleenibis(4,6-di-tert-butyylifenyli)-2-etyyliheksyylifosfiitti		418-310-3	126050-54-2	R53	R: 53 S: 61		
607-497-00-9	ceriumoksid-i-isostearaatti		419-760-3	-	R53	R: 53 S: 61		
607-498-00-4	(E)-3,7-dimetyyli-2,6-oktaadienyliheksadekanoaatti		421-370-3	3681-73-0	Xi; R38 R53	Xi R: 38-53 S: (2-)37-61		
607-499-00-X	bis(dimetyyli(2-hydroksietyyli)ammonium)-1,2-etaanidiylibis(2-heksadekenyylisukkinaatti)		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	kalsium-2,2-bis(5-tetrapropyleeni-2-hydroksi)fenyylijetanoaatti		421-670-4	-	Xi; R38 N; R50-53	Xi; N R: 38-50/53 S: (2-)37-60-61		
607-501-00-9	Seos: trifenyylifosfaatti ja tert-butyylifenyylifosfokset		421-820-9	-	R53	R: 53 S: 61		
607-502-00-4	(N-bentsyyli-N,N-tributyyl)ammonium-4-dodekylibentseenisulfonaatti		422-200-0	-	C; R34 Xi; 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-propyyli-2,4,6-triokso-1,3,5,2,4,6-trioksastrifosforaani		422-210-5	68957-94-8	C; R34	C R: 34 S: (1/2-)26-36/37/39-45		
607-505-00-0	pentaanatrium-7-(4-(4-(5-amino-4-sulfonaatto-2-(4-(2-(sulfonaattioetoksi)sulfonyyli)feny		422-930-1	171599-84-1	R52-53	R: 52/53 S: 22-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
607-506-00-6	yliaatso)fenyylimino)-6-kloori-1,3,5-triaatsin-2-yyli)amino-2-ureidofenyyliaatso)naftaleeni-1,3,6-trisulfonaatti		422-970-8	136248-04-9	N; R51-53	N R: 51/53 S: 22-61		
607-507-00-1	Seos: strontium(4-kloori-2-(4,5-dihydro-3-metyyli-5-okso-1-(3-sulfonaattofenylyli)-1H-pyratsol-4-yyli)atso)-5-metyyli)beentseenisulfonaatti dinaatrium(4-kloori-2-(4,5-dihydro-3-metyyli-5-okso-1-(3-sulfonaattofenylyli)-1H-pyratsol-4-yyli)atso)-5-metyyli)beentseenisulfonaatti		422-980-2	187026-95-5	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
607-508-00-7	dinaatrium-3,3'-[iminobis(sulfonyyli-4,1-fenyleeni(5-hydroksi-3-metyylipyratsoli-1,4-diyyl)atso-4,1-fenyleenisulfonyyli-imino(4-amino-6-hydroksipyrimidini-2,5-diyyl)atso-4,1-fenyleenisulfonyyli-imino(4-amino-6-hydroksipyrimidini-2,5-diyyl)atso)bis(bentseenisulfonaatti)]		423-110-4	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
607-512-00-9	trinaatrium-2,4-diamino-3,5-bis[4-(2-sulfonaattoetoksi)sulfonyyli]fenyyliaatso beentseenisulfonaatti		423-970-0	182926-43-8	R52-53	R: 52/53 S: 22-61		
607-513-00-4	Seos: Trinaatrium 4-bentsoyylimino-6-(6-eteenisulfonyyli-1-sulfaattinaftaleen-2-yyliatso)-5-hydroksi-naftaleeni-2,7-disulfonaatti 5-(bentsoyylimino)-4-hydroksi-3-((1-sulfo-6-(2-		423-200-3	-	Xi; R41 R43 R52-53	Xi R: 41-43-52/53 S: 22-26-36/37/39-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
607-515-00-5	(sulfoksietyyli)sulfonyyli)-2-naftyyli)atso)naftaleeni-2,7-disulfonihappo, natriumsuola 5-(bentsoyyliamino)-4-hydroksi-3-(1-sulfo-6-(2-(sulfoksietyyli)sulfonyyli)-2-naftyyli)atso)naftaleeni-2,7-disulfonihappo		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	Seos: dinatriumheksyyliidifenyylietteri disulfonaatti dinatriumdiheksyyliidifenyyliette ridisulfonaatti		429-670-6	105996-54-1	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-517-00-6	(S)- $\alpha$ -(asetyyliitrio)bentseenipropanihapo		430-300-0	76932-17-7	Xn; R22 Xi; R41 R43	Xn R: 22-41-43 S: (2-)22-26-36/37/39		
607-526-00-5	Kartappi		-	15263-53-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-527-00-0	Seos: 1-(1"H,1"H,2"H,2"H-tridekafluoriooktyyli)-12-(C436,1"H,2"H,2"H-tridekafluoriooktyyli)dodekaaniidioaatti 1-(1"H,1"H,2"H,2"H-tridekafluoriooktyyli)-12-(1"H,1"H,2"H,2"H-heptidekafluoridekyyli)dodekaaniidioaatti 1-(1"H,1"H,2"H,2"H-tridekafluoriooktyyli)-12-(1"H,1"H,2"H,2"H-henikosafuoridodekyyli)dodekaaniidioaatti 1-(1"H,1"H,2"H,2"H-tridekafluoriooktyyli)-12-(1"H,1"H,2"H,2"H-pentakosafuoritetradekyyli)dodekaaniidioaatti 1-(1"H,1"H,2"H,2"H-heptadekafluoridekyyli)-12-(1"H,1"H,2"H,2"H-heptadekafluoridekyyli)dodekaaniidioaatti		423-180-6	-	Xn; R48/22	Xn R: 48/22 S: (2-)36		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
608-031-00-7	idioaatti 1-(1 <sup>1</sup> H,1 <sup>1</sup> H,2 <sup>1</sup> H,2 <sup>1</sup> H-heptaadekafluoridekyyli)-12-(1 <sup>1</sup> H,1 <sup>1</sup> H,2 <sup>1</sup> H,2 <sup>1</sup> H-henikosafluoridodekyyli)dodekaa nidioaatti		407-870-4	97384-48-0	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)61		
608-033-00-8	N-butyyli-3-(2-kloori-4-nitrofenyylihydroksoni)-1-syano-2-metyyliprop-1-eeni-1,3-dikarboksiimidi		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	Klorfenapyri 4-Bromi-2-(4-kloorifenyyli)-1-eroksimetyyli-5-trifluorimetyylipyrroli-3-karbonitrili		-	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	(+/-)- $\alpha$ -(2-asetyyli-5-metyylifenyyli)amino]-2,6-diklooribentseeniasetonitrili		419-290-9	-	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
608-036-00-4	3-(2-{4-[2-(4-syanofenyyli)vinyyli]fenyyli]vinyyli]bentsonitrili		419-060-8	79026-02-1	R 53	R: 53 S: 61		
608-037-00-X	Seos: (E)-2,12-tridekaadienitrili (E)-3,12-tridekaadienitrili (Z)-3,12-tridekaadienitrili		422-190-8	124071-40-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
608-038-00-5	2,2,4-trimetyyli-4-fenyyli-butaanitrili		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-fenyyliheksaanitrili		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-ditobis(5-amino-1-(2,6-dikloori-4-(trifluorimetyyli)fenyyli)-1H-pyratsoli-3-karbonitrili)		423-490-1	130755-46-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
608-041-00-1	4'-(2-butyyli-4-okso-1,3-diaspiro[4,4]non-1-en-3-yyli)metyyli)(1,1'-bifenyyli)-2-karbonitrili		423-500-4	138401-24-8	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
608-043-00-2	3-(cis-3-heksenylioksi)propaniinitriili		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	Mesotriioni 2-14-(Metyylisulfonyyli)-2-nitrobensoyyli)-1,3-		-	104206-82-8	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
609-066-00-0	litiumnatrium-3-amino-10-[4-(10-amino-6,13-dikloori-4,11-disulfonaattobentsol5,6]]1,4]oksa-tsiini[2,3-b]fenoksaatsin-3-yyliamino)-6]-metyyli-(2-sulfonaattoetyyli)-amino]-[1,3,5]triatsetin-2-yyliamino]-6,13-diklooribentsol5,6]]1,4]oksaatsiini [2,3-b]fenoksaatsiini-4,11-disulfonaatti		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- ja kalium-4-(3-aminopropyyliamino)-2,6-bis[3-(4-metoksi-2-sulfofenyyliatso)-4-hydroksi-2-sulfo-7-naftyyliamino]-[1,3,5]-triatsetiini		416-280-6	156769-97-0	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
609-068-00-1	Myskiksyyleeni 5- <i>tert</i> -Butyyli-2,4,6-trinitro-m,li-ksyyleeni		201-329-4	81-15-2	Carc. Cat. 3; R40 E; R2 N; R50-53	E; Xn; N R: 2-40-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
609-070-00-2	1,4-dikloori-2-(1,2,3,3,3-hexafluoripropoksi)-5-nitrobenseeni		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	Seos: 2-metyylisulfonyyli-4,6-bis(2-hydroksi-4-metoksisifenyli)-1,3,5-triatsetiini 2-(4,6-bismetyylisulfonyyli-1,3,5-triatsetin-2-yyli)-5-metoksisifenoli		423-520-3	156137-33-6	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-099-00-0	(metyleenibis(4,1-fenyleeniato)1-(3-(dimetyyliamino)propyyli)-1,2-dihydro-6-hydroksi-4-metyyli-2-okso-pyridiini-5,3-diyyl)))-1,1'-dipyridiiniumdiklorididihydrokloridi		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(tai 4)-		403-810-6	140876-13-7	Xi; R41	Xi		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	metyyli-1,2-fenyleenibis(imino(6-kloori)-1,3,5-triaatsiini-4,2-diyylimino(2-asetamido-5-metoksi)-4,1-fenyleeniatso)dinaftaleeni-1,5-disulfonaatti					R: 41 S: (2-)26-39		
611-101-00-X	2'-(4-kloori-3-syano-5-formyyli-2-tienyyli)atso-5'-dietyylliaminooasetamidi		405-200-5	104366-25-8	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-103-00-0	trinatrium(1-(3-karboxylaatto-2-oksidio-5-sulfonaattofenyyliaatso)-5-hydroksi-7-sulfonaattonaftaleeni-2-amido)nikkelii(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	Seos: trinatrium(2,4(tai 2,6 tai 4,6)bis(3,5-dinitro-2-oksidofenyyliaatso)-5-hydroksifenolaatto)(2(tai 4 tai 6)-(3,5-dinitro-2-oksidofenyyliaatso)-5-hydroksi-4(tai 2 tai 6)-(4-(4-nitro-2-sulfonaattoaniilino)fenyyliatso)fenolaatto)ferraatti(1-)trinatriumbis(2,4(tai 2,6 tai 4,6)bis(3,5-dinitro-2-oksidofenyyliaatso)-5-hydroksifenolaatto)ferraatti(1-)trinatrium(2,4(tai 2,6 tai 4,6)bis(3,5-dinitro-2-oksidofenyyliaatso)-5-hydroksifenolaatto)(2(tai 4 tai 6)-(3,5-dinitro-2-oksidofenyyliaatso)-5-hydroksi-4(tai 2 tai 6)-(4-nitro-2-sulfonaattofenyyliaatso)fenolaatto)ferraatti(1-)trinatrium(2,4(tai 2,6 tai 4,6)bis(3,5-dinitro-2-oksidofenyyliaatso)-5-hydroksifenolaatto)(2(tai 4 tai 6)-(3,5-dinitro-2-oksidofenyyliaatso)-5-hydroksi-4(tai 2 tai 6)-(3-sulfonaattofenyyliaatso)fenolaatto)ferraatti(1-)dinatrium-3,3'-(2,4-dihydroksi-1,3(tai 1,5 tai 3,5)fenyleenidiaatso)dibentseenisuulfonaatti		406-870-1	-	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
611-105-00-1	natrium-4-(4-kloori-6-(N-etyyliamini)-1,3,5-triatsin-2-yyliamino)-2-(1-(2-kloorifenyyli)-5-hydroksi-3-metyyli-1H-pyratsol-4-yyliatso)beniseemisulfonaatti		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	heksanatrium-4,4'-dihydroksi-3,3'-bis[2-sulfonaatto-4-(4-sulfonaattofenyliatso)fenyyliatso]-7,7'-[p-fenyleenibis(imino(6-kloori-1,3,5-triatsini-4,2-diyyl)imino)]dinaftaleeni-2-sulfonaatti		410-180-6	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
611-107-00-2	kaliumnatrium-4-(4-kloori-6-(3,6-disulfonaatto-7-(5,8-disulfonaatto)naftalen-2-yyliatso)-8-hydroksinaftalen-1-yyliamino)-1,3,5-triatsin-2-yyliamino)-5-hydroksi-6-(4-(2-sulfaattoetaanisulfonyyli)fenyyliatso)naftaleeni-1,7-disulfonaatti		412-490-7	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-108-00-8	dinatrium-5-((4-(4-kloori-3-sulfonaattofenyliatso)-1-naftyyli)atso)-8-(fenyyliamino)-1-naftaleenisulfonaatti		413-600-6	6527-62-4	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
611-109-00-3	reaktiotuotteet: kupari(II)sulfaatti ja tetranatrium-2,4-bis[6-(2-metoksi-5-sulfonaattofenyliatso)-5-hydroksi-7-sulfonaatto-2-naftyyliamino]-6-(2-hydroksietyyliamino)-1,3,5-triatsiini (2:1)		407-710-3	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
611-110-00-9	tetranatrium/litium-4,4'-bis(8-amino-3,6-disulfonaatto-1-naftol-2-yyliatso)-3-metyyliatsobentseeni		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-kloorietylisulfonyyli)fenyyli]-[(2-hydroksi-5-sulfo-3-[3-(2-(2-(sulfo)jetyylisulfonyyli)jetyyliatso]-4-sulfobentsoaatto(3-		414-230-8	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
611-112-00-X	kipuraatti(1-)		413-070-6	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-113-00-5	tetranatrium-4-hydroksi-5-[4-[3-(2-sulfaattoetaanisulfonyyli)fenyyliamino]-6-morfolin-4-yyli]-1,3,5]-triatzin-2-yyliamino]-3-(1-sulfonaattonaftaleen-2-yyliatso)naftaleeni-2,7-disulfonaatti		414-280-0	149626-00-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24/25-61		
611-114-00-0	litiumnatrium-4-(5-kloori-2-hydroksifenyyli)atso)-2-(4,5-dihydro-3-metyyli-5-okso-1-fenyyli-1H-pyratsol-4-yyli)atso)-5-sulfobentsoaatto(3-))kromaatti(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	trilitiumbis(4-(4-(dietyyliamino)-2-hydroksifenyyli)atso)-3-hydroksi-1-naftaleenisulfonaatto(3-))kromaatti(3-)		414-290-5	149564-65-8	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		
611-116-00-1	Seos: trinitrium-5-[4-kloori-6-[2-(2,6-dikloori-5-syanopyrimidin-4-yyliamino)propyyliamino]-1,3,5-triatzin-2-yyliamino]-4-hydroksi-3-(1-sulfonaattonaftaleen-2-yyliatso)naftaleeni-2,7-disulfonaatti trinitrium-5-[4-kloori-6-[2-(2,6-dikloori-5-syanopyrimidin-4-yyliamino)-1-metyylietyyliamino]-1,3,5-triatzin-2-yyliamino]-4-hydroksi-		414-620-8	-	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
611-117-00-7	yyliatso)naftaleeni-2,7-disulfonaatti trinatrium-5-[4-kloori-6-[2-(4,6-dikloori-5-syanopyrimidin-2-yyliamino)propyyliamino]-1,3,5-triaatsin-2-yyliamino]-4-hydroksi-3-(1-sulfonaattonaftalen-2-yyliatso)naftaleeni-2,7-disulfonaatti trinatrium-5-[4-kloori-6-[2-(4,6-dikloori-5-syanopyrimidin-2-yyliamino)-1-metyylietyyliamino]-1,3,5-triaatsin-2-yyliamino]-4-hydroksi-3-(1-sulfonaattonaftalen-2-yyliatso)naftaleeni-2,7-disulfonaatti		415-100-3	149850-29-3	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-118-00-2	1,3-bis[6-fluori-4-[1,5-disulfo-4-(3-aminokarbonyyli-1-etyyli-6-hydroksi-4-metyylipyyrid-2-on-5-yyliatso)fenyl-2-yyliamino]-1,3,5-triaatsin-2-yyliamino]propaniitium, natriumsuola		413-990-8	149850-31-7	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-119-00-8	tetranatrium-4-[4-kloori-6-(4-metyyli-2-sulfofenyyliamino)-1,3,5-triaatsin-2-yyliamino]-6-(4,5-dimetyyli-2-sulfofenyyliatso)-5-hydroksi-naftaleeni-2,7-disulfonaatti		415-400-4	148878-22-2	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/59		
611-120-00-3	5-[4-[5-amino-2-[4-(2-sulfoksietyyliisulfonyyli)fenyyliatso]-4-sulfofenyyliamino]-6-kloori-1,3,5-triaatsin-2-yyliamino]-4-hydroksi-3-(1-sulfonaattonaftalen-2-yyliatso)naftaleeni-2,7-disulfoniinon natriumsuola		418-340-7	157707-94-3	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)22-26-39-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
611-121-00-9	Pääasiallinen komponentti 6 (isomeeri); asymm. 1:2 Cr(III)-kompleksi: A: 3-hydroksi-4-(2-hydroksi-naftalen-1-yyliatso)naftaleeni-1-sulfonihappo, Na-suola ja B: 1-[2-hydroksi-5-(4-metoksi-fenyyliaatso)fenyyliaatso]naftalen-2-oli Pääasiallinen komponentti 8 (isomeeri); asymm. 1:2 Cr-kompleksi: A: 3-hydroksi-4-(2-hydroksi-naftalen-1-yyliatso)naftaleeni-1-sulfonihappo, Na-suola ja B: 1-[2-hydroksi-5-(4-metoksi-fenyyliaatso)fenyyliaatso]naftalen-2-oli		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	heksaanatrium(diiN)-(3-(4-[5-(5-amino-3-metyyli-1-fenyylipyraatso)-4-yyliatso)-2,4-disulfoaniilino]-6-kloori-1,3,5-triaatsin-2-yyliamino)fenyyli)sulfamoyyli[(d-isulfo)ftalosaaninaatto)mikkeli		417-250-5	151436-99-6	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-123-00-X	3-(2,4-bis(4-(5-(4,6-bis(2-aminopropyyliamino)-1,3,5-triaatsin-2-yyliamino)-4-hydroksi-2,7-disulfo-naftalen-3-yyliatso)fenyyliamino)-1,3,5-triaatsin-6-yyliamino)propyyliidietyyliammoniumlaktiatti		424-310-4	178452-66-9	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
611-124-00-5	Seos: pentaatrium-5-amino-3-(5-[4-kloori-6-[4-(2-sulfoksietoksisulfonaatti)fenyyliamino]-1,3,5-triaatsin-2-yyliamino]-2-sulfonaattifenyyliatso)-6-[5-(2,3-dibromopropionyliamino)-2-sulfonaattofenyyliatso]-4-hydroksi-naftaleeni-2,7-disulfonaatti pentaatrium-5-amino-6-[5-(2-bromiakryloyyliamino)-2-sulfonaattofenyyliatso]-3-(5-[4-kloori-6-[4-(2-		424-320-9	180778-23-8	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	sulfoksetoksisulfonaatto)fenyyliamino-1,3,5-triatsin-2-yyliamino)-2-sulfonaatto)fenyyliatso)-4-hydroksinaftaleeni-2,7-disulfonaatti tetranatrium-5-amino-3-[5-(4-kloori-6-[4-(vinyyli)sulfonyyli)fenyyliamino]-1,3,5-triatsin-2-yyliamino)-2-sulfonaatto)fenyyliatso]-6-[5-(2,3-dibromopropionylyyamino)-2-sulfonaatto)fenyyliatso]-4-hydroksinaftaleeni-2,7-disulfonaatti							
611-125-00-0	Seos: dinatrium-4-(8-oksidio-7-(2-oksidio-4-etenyyli)sulfonyyli-5-(metoksisfenyyli)atso)-6-sulfonaatti)naftalen-2-yyliatso)-5-okso-1-(4-sulfonaatto)fenyyli)-4,5-dihydro-1H-pyratsoli-3-karboksyylihappo, kupari(II)kompleksi dinatrium-4-((8-oksidio-7-(2-oksidio-4-(2-hydroksietyyli)sulfonyyli)-5-(metoksisfenyyli)atso)-6-sulfonaatto)naftalen-2-yyliatso)-5-okso-1-(4-sulfonaatto)fenyyli)-4,5-dihydro-1H-pyratsoli-3-karboksyylihappo, kupari(II)kompleksi		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-aminofenyyliamino)fenyyliatso)-1,3-dimetyyli-3H-imidatsolium)-4-dimetyyliamino-1,3,5-triatsiinidikloridi		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-etylylifenylyliamino)-6-(2-sulfaattoetaanisulfonyyli)-1,3,5-triatsin-2-yyliamino)-2-sulfonaatto)fenyyliatso)-5-hydroksi-3-(4-(2-sulfaattoetaanisulfonyyli)fenyyliatso)naftaleeni-2,7-disulfonaatti		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		
611-128-00-7	N,N'-bis[6-kloori-4-[6-(4-		419-500-9	171599-85-2	Xi; R41	Xi		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	vinyylisulfonylfenyyliatsoli-2,7-disulfonihappo-5-hydroksi-naft-4-yyliamiini-1,3,5-triatsiin-2-yyli]-N-(2-hydroksietyyli)jetaani-1,2-diamiini, natriumsuola				R 43	R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-129-00-2	Seos: 5-[(4-[(7-amino-1-hydroksi-3-sulfo-2-naftyyli)atsoli]-2,5-dietoksisfenyyli)atsoli]-2-[(3-fosonofenyyli)atsoli]bensensoehappo 5-[(4-[(7-amino-1-hydroksi-3-sulfo-2-naftyyli)atsoli]-2,5-dietoksisfenyyli)atsoli]-3-[(3-fosonofenyyli)atsoli]bensensoehappo		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	tetra-ammonium-2-[6-[(7-(2-karboxylaattifenyyli)atsoli)-8-hydroksi-3,6-disulfonaatti-1-naftyyliamiini]-4-hydroksi-1,3,5-triatsiin-2-yyli]amino]bensensoatti		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-hydroksi-3-(2-kloorifenyyli)karbamoyyli-1-naftyyliatsoli]-7-[2-hydroksi-3-(3-metyylifenyyli)karbamoyyli-1-naftyyliatsoli]fluoren-9-oni		420-580-2	-	Repr.Cat.2; R61 R 53	T R: 61-53 S: 53-45-61		
611-132-00-9	pentanatriumbis[7-[4-(1-butyli-5-syano-1,2-dihydro-2-hydroksi-4-metyyli-6-okso-3-pyridyyliatsoli)fenyyli]sulfonyylia-mino]-5-nitro-3,3'-disulfonaattonaftaleeni-2-atsobenseeni-1,2'-diolaatto]kromaatti (III)		419-210-2	-	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
611-133-00-4	Prosessituote, atsoväriaineiden rauta-kompleksi, joka on saatu kytkenällä diatsotoidun 2-amino-1-hydroksibentseeni-4-sulfanilidin ja 2-amino-1-hydroksibentseeni-4-sulfonamidin seos resorssiin kanssa, saatu seos on edelleen kytetty diatsotoidun 3-aminobentseeni-1-sulfonihappo-(metaniliihappo) ja 4'-amino-4-nitro-1,1'-difenyliamiini-2-sulfonihapposeoksen kanssa ja		419-260-5	-	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
611-134-00-X	metalloitu rautakloridin kanssa, natriumsuola		423-770-3	-	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-52/53 S: (2-)22-26-39-61		
611-135-00-5	Reaktiotuote: 2-[4-amino-2-ureidofenyyliaatso]-5-(2-(sulfoksietyyli)sulfonyyli)]bentsenisulfonihappo ja 2,4,6-trifluoripyrimiidini, osittainen hydrolyysi vastaavaksi vinyylisulfonyylijohtokseksi, kalium/natriumsuolaseos		424-250-9	-	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
611-136-00-0	2-[4-(2-ammoniumpropyyliamino)-6-[4-hydroksi-3-(5-metyyli-2-metoksi-4-sulfameyyli-fenyyliaatso)-2-sulfonaattoonaft-7-yyliamino]-1,3,5-triaatsin-2-yyliamino]-2-aminopropyyli-formaatti		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-butyyli-7-kloori-3-tridekyli-7,7a-dihydro-1H-pyratsolo[5,1-c]-1,2,4-triaatsoli		419-870-1	159038-16-1	R 53	R: 53 S: 61		
611-138-00-1	2-(4-aminofenyli)-6-tert-butyyli-1H-pyratsolo[1,5-b]1,2,4-triaatsoli		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	atsafeniidiini		-	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	
612-184-00-5	6-(di-butyyliamino)-3'-metyyli-2'-(fenyyliamino)spiro[isobentsofuraaani-1(3H),9-(9H)-ksanteni]-3-oni		403-830-5	89331-94-2	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
612-185-00-0	1-[3-[4-		407-400-8	59493-72-0	Xi; R41	Xi; N		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	((heptadekafluorinonyyli)oksi)be ntsamido]propyyli]-N,N,N- trimetyyliammoniumjodidi				N; R50-53	R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
612-186-00-6	bis(N-(7-hydroksi-8-metyyli-5- fenyylifenatsin-3- ylideeni)dimetyyliammonium)sul faatti		406-770-8	149057-64-7	Xn; R48/22 Xi; R41 R43 N; R50-53	Xn; N R: 41-43-48/22-50/53 S: (2-)22-26-36/37/39- 60-61		
612-187-00-1	2,3,4-trifluoriantilini		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-ylideeni)bis(2- klooriantilini)		407-560-9	107934-68-9	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
612-189-00-2	4-amino-2- (aminometyyli)fenolidihydroklori di		412-510-4	135043-64-0	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)22-24-37-60-61		
612-190-00-8	4,4'-metyleenibis(2-isopropyyli- 6-metyyliantilini)		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	allyyliamiinihydrokloridi polymeeri		415-050-2	71550-12-4	Xn; R22 R43	Xn R: 22-43 S: (2-)36/37		
612-192-00-9	2-isopropyyli-4-(N- metyyli)aminometyyliatsoli		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- metyyliaminometyylifenyyliamii ni		414-570-7	18759-96-1	Xn; R21/22 C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 21/22-34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39- 45-60-61		
612-194-00-X	2-hydroksi-3-[(2-hydroksietyyli)- [2-(1- oksoetadekyyli)amino]etyyli]an ino]-N,N,N-trimetyyli-1- propaaniammoniumkloridi		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[tributyyl(4- metyylibensyyli)ammonium]- 1,5-naftaleeni-disulfonaatti		415-210-1	-	Xn; R20/22 Xi; R41 N; R50-53	Xn; N R: 20/22-41-50/53 S: (2-)26-36/39-60-61		
612-196-00-0	4-Kloori- <i>o</i> -toluidiini E 4-Kloori- <i>o</i> -toluidiinihydrokloridi		202-441-6 [1] 221-627-8	95-69-2 [1] 3165-93-3 [2]	Carc.Cat.2; R45 Muta.Cat.3; R68 T; R23/24/25	T; N R: 45-23/24/25-68- 50/53		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	[2]		[2]		N; R50-53	S: 53-45-60-61		
612-197-00-6	2,4,5-Trimetyyliamiini [1] 2,4,5-Trimetyyliaminihydrokloridi [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'-Tiodiamiini [1] ja sen suolat	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'-Oksidiamiini [1] ja sen suolat p-Aninofenyylieetteri	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-Diaminoanisoli 4-Metoksi-m-fenyleendiamiini [1] 2,4-Diaminoanisolisulfaatti [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''-Tetrametyyli-4,4'-metyleendiamiini		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-Diklooriamiini		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		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, jossa <sup>3</sup> 0,1 % Michlerin ketonia (EY-nro 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	Famoksadoni 3-Aniliino-5-metyyli-5-(4-fenoksyfenyyli)-1,3-oksatsolidiini-2,4-dioni		-	131807-57-3	Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-50/53 S: (2-)46-60-61		
612-209-00-X	6-Metoksi-m-toluidiini p-Kresidiini	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-toluidiini		202-765-8	99-55-8 [1]	Carc.Cat.3; R40	T		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	[1] 5-Nitro- <i>o</i> -toluidiinihydrokloridi [2]		[1] 256-960-8 [2]	51085-52-0 [2]	T; R23/24/25 R52-53	R: 23/24/25-40-52/53 S: (1/2-)36/37-45-61		
612-211-00-0	N-(bentsotriatsol-1-yyli)metyyli)-4-karboksi-bentseenisulfonamidi		416-470-9	-	Xi; R36 N; R51-53	Xi; N R: 36-51/53 S: (2-)26-61		
612-212-00-6	2,6-dikloori-4-trifluorimetyylianiiliini		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	isobutylideeni(2-(2-isopropyyli-4,4-dimetyylioksaatsolidin-3-yyli)-1,1-dimetyylietyyli)amini		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-difenyylietenyyli)-N,N-difenyylibentseeniamini		421-390-2	89114-90-9	R 53	R: 53 S: 61		
612-215-00-2	3-kloori-2-(isopropyyli)aniiliini		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-metoksi-2-propyyliamiini		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-dimetyyli-perhydropyrimidin-2-oni- $\alpha$ -(4-trifluorimetyylisistyryyli)- $\alpha$ -(4-trifluorimetyyli)kinnamylideenihydrazoni		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-nafyyli)metyyli)kinoliniumkloridi		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	Seos: 5-(N-metyyli-perfluorioctyyliisulfonamido)metyyli-3-oktaadekyyli-1,3-oksatsolidin-2-oni 5-(N-metyyli-perfluorihexyyliisulfonamido)metyyli-3-oktaadekyyli-1,3-oksatsolidin-2-oni		413-640-4	-	Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-50/53 S: (2-)36-60-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
613-184-00-8	nitrirotietyleenihammonioipropan-2-oli-2-etyyliheksaanoaatti		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-metyyli-2H-syklopental di-1,2-tiatsol-3-oni		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-butyyliidimetyylisiloksi)etyyli)-4-oksoasetidin-2-yyliasetaatti		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-fluorifenoksi)propyyli)-3-metoksi-4-piperidinoni		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-tolueenisulfonyyli)-1,4,7,10-tetraatsasyklododekaani		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-kloori-6-fluoripirimidin-4-yyliaminometyyli)-4-metyyli-6-sulfonyyliamino)-9,10-diookso-9,10-dihydroantraseeni-2-sulfonaatti		414-040-5	149530-93-8	Xn; R22 R 43	Xn R: 22-43 S: (2-)22-24-37		
613-191-00-6	3-etyyli-2-metyyli-2-(3-metyyliburyyli)-1,3-oksatsolidiini		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-(dimetyyliammonio)propyyli]sulfa-mooyli-1-(6-hydroksi-4,4,8,8-tetrametyyli-4,8-diatoniaundekaani-1,11-diyylidisulfamoyyli)di[ftaoloyaniinikupari(II)]heptalaktaatti		414-930-3	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
613-194-00-2	6,13-dikloori-3,10-bis-2-[4-fluori-6-(2-sulfonyyliamino)-1,3,5-triatsin-2-yyliamino]propyyliamino]bentsol-5,6-di-4]oksatsiino[2,3-b]fenoksaatsiini-4,11-disulfonihappo, litiumnatriumsuola		418-000-8	163062-28-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
613-195-00-8	2,2-(1,4-fenylene)bis((4H-3,1-bentsoksatsin-4-oni)		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-kloori-6-  2-  4-fluori-6-  5-hydroksi-6- (4-metoksi-2-sulfonyyli)atsoli-7-sulfo-2-naftalenyyl amino -1,3,5-metyyli amino -1-metyyli amino -1,3,5-triatsin-2-yyli amino -3-  4-(etenyylisulfonyyl)fenyyli atsoli-4-hydroksinaftaleeni-2,7-disulfonihapon natriumsuola		418-380-5	168113-78-8	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
613-197-00-9	Seos: 2,4,6-tri(butyyl)karbamoyyli)-1,3,5-triatsiini 2,4,6-tri(metyyl)karbamoyyli)-1,3,5-triatsiini  (2-butyyl)-4,6-dimetyyl)trikarbamoyyli -1,3,5-triatsiini  (2,4-dibutyyl)-6-metyyl)trikarbamoyyli -1,3,5-triatsiini		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	Seos: 1,3,5-tris(3-aminometyylifenyyli)-1,3,5-(1H,3H,5H)-triatsiini-2,4,6-trioni Oligomeerien seos: 3,5-bis(3-aminometyylifenyyli)-1-poly[3,5-bis(3-aminometyylifenyyli)-2,4,6-triokso-1,3,5-(1H,3H,5H)-triatsin-1-yyli]-1,3,5-(1H,3H,5H)-triatsiini-2,4,6-trioni		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	Reaktiotuote: (29H,31H-ftalosyanaattiaato(2-)-N29,N30,N31,N32)kupari, klooririkkihappo ja 3-(2-sulfoksetyyli)sulfonyyli)aniiliini, natriumsuolat		420-980-7	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
613-201-00-9	(R)-5-bromi-3-(1-metyyli-2-pyrrolidinyylimetyyli)-1H-indoli		422-390-5	143322-57-0	Repr.Cat.3; R62 T: R39-48/25 Xn; R20/22 Xi; R41 R 43 N: R50-53	T; N R: 20/22-39-41-43-48/25-62-50/53 S: (1/2-)53-45-60-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
613-202-00-4	Pymetrotsiini (/)-4-5-Dihydro-6-metyyli-4-(3-pyridiylimetyyleeniamino)-1,2,4-triaziin-3(2H)-oni		-	123312-89-0	Carc.Cat3; R40 R52-53	Xn R: 40-52/53 S: (2-)36/37-61		
613-203-00-X	Pyraflufeeni-etyyli [1] Pyraflufeeni [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	Oksadiargyyli 3-[2,4-Dikloori-5-(2-propynylioksi)fenyyli]-5-(1,1-dimetyylietyyli)-1,3,4-oksadiatsol-2(3H)-oni 5- <i>tert</i> -Butyyli-3-[2,4-dikloori-5-(prop-2-ynylioksi)fenyyli]-1,3,4-oksadiatsol-2(3H)-oni		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	Propikonatsoli (+)-1-[2-(2,4-Dikloorifenyyli)-4-propyyli-1,3-doksolan-2-yyli]metyyli]- <i>H</i> -1,2,4-triaatsoli		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	Fenamidoni (S)-5-Metyyli-2-metyylitio-5-fenyyli-3-fenyliamino-3,5-dihydroimidatsol-4-oni		-	161326-34-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-207-00-1	Imatsaliilisulfaatin vesiliuos 1-[2-(allyylioksi)etyyli-2-(2,4-dikloorifenyyli)]-1/ <i>H</i> -imidatsoliumvety sulfaatti (±)-1-[2-(allyylioksi)etyyli-2-(2,4-dikloorifenyyli)]-1/ <i>H</i> -imidatsoliumvety sulfaatti		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 43-50-53 30 % < C ≤ 50 %: Xn, N; R22-38-41-43-50-53 25 % ≤ C ≤ 30 %: Xn, N; R22-41-43-50-53 15 % < C < 25 %: Xi, N; R41-43-51-53 5 % ≤ C ≤ 15 %: Xi, N; R36-43-51-53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi, N; R43-51-53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52-53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52-53	
613-208-00-7	Imatsamoksi		-	114311-32-9	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
613-209-00-2	cis-1-(3-klooripropyli)-2,6-dimetyylipiperidiinihydrokloridi		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-klooripropyli)-2,5,5-trimetyyli-1,3-diksaani		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-metyyli-4-(p-formyylisytyryyli)pyridiniummetyylisulfaatti		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-etyylilheksyylioksi)fenyli]-(1,4-tiatsinaani-1,1-dioksidi)		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-bentsoyyli-4-[(4-metyylisulfonyyli)oksi]-L-proliini		416-040-0	120807-02-5	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
613-214-00-X	N,N-di-n-butyyl-2-(1,2-dihydro-3-hydroksi-6-isopropyyli-2-kinolyideeni)-1,3-diksoindaani-5-karboksamidi		416-260-7	147613-95-4	R 53	R: 53 S: 61		
613-215-00-5	2-kloorimetyyli-3,4-dimetoksyppiridiniumkloridi		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-butyyl-7-(6-dietyyliamino-2-metyyli-3-pyridyyli-imino)-3-(3-metyylifenyli)pyratsoli[3,2-c][1,2,4]triazoli		416-490-8	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-217-00-6	4-[3-(3,5-di-tert-butyyl-4-hydroksifenyli)propionyyloksi]-1-[2-[3-(3,5-di-tert-butyyl-4-hydrofenyyli)propionyyloksi]etyyli]-2,2,6,6-tetrametyylipiperidiini		416-770-1	73754-27-5	R 53	R: 53 S: 61		
613-218-00-1	6-hydroksi-indoli		417-020-4	2380-86-1	Xn; R22 Xi; R41 R43 N; R51-53	Xn; N R: 22-41-43-51/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
613-219-00-7	7a-etyyli-3,5-bis(1-metyylietyyli)-2,3,4,5-tetrahydrooksaatso[3,4-c]1,2,3,4,5-		417-140-7	79185-77-6	Xi; R38 N; R51-53	Xi; N R: 38-51/53 S: (2-)37-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	tetrahydro-oksatsoli							
613-220-00-2	trans-(4S,6S)-5,6-dihydro-6-metyyli-4H-fienol 2,3-b)tiopyran-4-oli-7,7-dioksidi		417-290-3	147086-81-5	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)36		
613-221-00-8	2-kloori-5-metyylipyridiini		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-okso-2-propenyyl)morfoliini		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-isopropyyli-3-(4-fluorifenyyli)-1H-indoli		418-790-4	93957-49-4	R 53	R: 53 S: 61		
613-224-00-4	2,5-dimerkaptometyyli-1,4-ditiaani		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	Seos: [2-(antrakinin-1-yyliamino)-6-[(5-bentsosyyliamino)antrakinin-1-yyliamino]-4-fenyyli]-1,3,5-triaatsiini 2,6-bis[(5-bentsosyyliamino)antrakinin-1-yyliamino]-4-fenyyli-1,3,5-triaatsiini.		421-290-9	-	Xn; R48/22 R53	Xn R: 48/22-53 S: (2-)22-36-61		
613-226-00-5	1-(2-etyyli(4-(4-(4-etyyli(2-pyridiinoetyyli)amino)-2-metyylifenyyli)atsobentsosyyliamino)fenyyli)atsobentsosyyliamino)etyylipyridiniumdikloridi		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*) ja (R*,S*)-6-fluori-3,4-dihydro-2-oksiranyyli-2H-1-bentsopyraani		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-fluori-3,4-dihydro-2-oksiranyyli-2H-1-bentsopyraani		419-630-6	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24-61		
613-230-00-7	Florasulami 2',6',8'-Trifluori-5-metoksi-		-	145701-23-1	N; R50-53	N R: 50/53		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
613-233-00-3	1,2,4-triaisolol 1,5-c] pyrimidiini-2-sulfonamididi		423-230-7	56552-15-9	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
614-028-00-1	4,4'-(oksi(bismetyleeni))bis-1,3-dioksolaani		414-420-0	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
614-029-00-7	Seos: 2-etyyliheksyyli-mono-D-glukopyranosidi 2-etyyliheksyyli-di-D-glukopyranosidi		419-640-0	68784-14-5	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)		
615-030-00-5	Penta-O-allyyli-β-D-fruktofuranosyyli-α-D-glukopyranosidin rakenneseerit Heksa-O-allyyli-β-D-fruktofuranosyyli-α-D-glukopyranosidin rakenneseerit Hepta-O-allyyli-β-D-fruktofuranosyyli-α-D-glukopyranosidin rakenneseerit		-	-	Xn; R20/21/22 R32 R52-53	Xn R: 20/21/22-32-52/53 S: (2-)13-61		
615-031-00-0	Tiotsyaanihapon talliiumsuola	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	Tiotsyaanihapon metallisuolat, paitsi muualla tässä luettelossa mainitut	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	polymeerireaktiotoite: bisyklo[2.2.1]hepta-2,5-dieeni, eteeni, 1,4-heksadieeni, 1-propenei ja N,N-di-2-propenyylimformamidi		404-035-6	-	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
616-093-00-1	reaktiotoitteet: anilinitereftaalialdehydi-otoluidiini kondensaatti maleinianhydridin kanssa		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'-disykloheksyyli-1,1'-metyleeni-bis(4,1-fenyleeni)diurea		406-370-3	58890-25-8	R 43 R 53	Xi R: 43-53		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
616-095-00-2	3,3'-diklodekyyli-1,1'-metyleenibis(4,1-fenyleeni)diurea		406-690-3	43136-14-7	R 53	S: (2-)24-37-61 R: 53 S: 61		
616-096-00-8	N-(3-heksadekyylioksi-2-hydroksi-prop-1-yyli)-N-(2-hydroksietyyli)palmitamidi		408-110-4	110483-07-3	R 53	R: 53 S: 61		
616-097-00-3	N,N'-1,4-fenyleenibis(2-(2-metoksi-4-nitrofenyyli)atso)-3-oksobutaanimidi		411-840-6	83372-55-8	R 53	R: 53 S: 61		
616-098-00-9	1-[4-kloori-3-(2,2,3,3,3-pentafluoripropoksi)metyyli]fenyyli]-5-fenyyli-1H-1,2,4-triatsoli-3-karboksamidi		411-750-7	119126-15-7	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
616-099-00-4	2-[4-[(4-hydroksifenyyli)sulfonyyli]fenoksi]-4,4-dimetyyli-N-[5-[(metyylisulfonyyli)amino]-2-[4-(1,1,3,3-tetrametyyli)butyyli]fenoksi]fenyyli]-3-oksobutaanimidi		414-170-2	135937-20-1	R 53	R: 53 S: 61		
616-100-00-8	1,3-dimetyyli-1,3-bis(trimetyylisilyyli)urea		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-butyli-1,2,3,4-tetrahydro-3-isokinoliinikarboksamidi		414-600-9	149182-72-9	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)61		
616-102-00-9	Seos: α-[3-(3-merkaptopropaanioksikarbonyyli amino)metyli]fenyyliaminokarbonyli]-ω-[3-(3-merkaptopropaanioksikarbonyyli amino)metyli]fenyyliaminokarbonyli]poly(oksietyleeni-ko-oksipropyleeni) 1,2-(tai 1,3)bis[α-(3-merkaptopropaanioksikarbonyyli amino)metyli]fenyyliaminokarbonyli]-ω-oksipoly(oksietyleeni-ko-oksipropyleeni)]-3-(tai 2)propanoli 1,2,3-tris[α-(3-merkaptopropaanioksikarbonyyli amino)metyli]fenyyliaminokarbo		415-870-0	-	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)36/37-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
616-103-00-4	nyyli)- <i>o</i> -oksiipoly(oksietyleeni-ko-oksiipropyteeni)]propani]		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	(S,S)-trans-4-(asetyyliamiino)-5,6-dihydro-6-metyyli-7,7-diokso-4H-tieno[2,3-b]tiopyraani-2-sulfonamidi		275-728-7	71626-11-4	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-105-00-5	Benalaksyyli Metyyli-N-(2,6-dimetyylifenyyli)-N-(fenyyliasetyyli)-DL-alaninaatti		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	Fenmedifaami Metyyli-3-(3-metyylkarbaniloylioksi)karbanilaatti		237-199-0	13684-63-4	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-108-00-1	Jodisulfuroni-metyyli-natrium		-	144550-36-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-109-00-7	Sulfosulfuroni 1-(4,6-Dimetoksi-pyrimidin-2-yyli)-3-(2-etyylisulfonyyli-imidatsol 1,2-alpyridin-3-yyli)sulfonyyliurea		-	141776-32-1	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-110-00-2	Syklaniidi 1-(2,4-Diktoorianiilimokarbonyyli)syklopropanikarboksyylilhapo		419-150-7	113136-77-9	Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)61		
616-111-00-8	Fenheksamidi		422-530-5	126833-17-8	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
616-112-00-3	Oksasulfuroni Oksetan-3-yyli-2-[(4,6-dimetyylpyrimidin-2-yyli)karbamoyylisulfamoyyli]bensoaatti		-	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	Desmedifaami Etyyli-3-fenyylikarbamoyylioksi-fenyylikarbanaatti		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	

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
616-114-00-4	N,N'-(9,9',10,10'-tetrahydro-9,9',10,10'-tetraokso(1,1'-biantaseeni)-4,4'-diyyl)bisdodekaaniamidi		418-010-2	136897-58-0	R53	R: 53 S: 22-61		
616-115-00-X	N-(3-asetyyli-2-hydroksifenyyli)-4-(4-fenyylibutoksi)bentsamidi		416-150-9	136450-06-1	R 53	R: 53 S: 61		
616-116-00-5	N-(4-dimetyyliaminyridiniini)-3-metoksi-4-(1-metyyli-5-nitroindol-3-yyliimetyyli)-N-(o-tolyyli)sulfonyyli)bentsamidaatti		416-790-9	-	R 53	R: 53 S: 61		
616-117-00-0	N-[2-(3-asetyyli-5-nitrotiofen-2-yyliatso)-5-dietyyliaminyfenyli]asetamidi		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'-dimetyylifenyyli)-2-piperidiinikarboksaamidihydrokloridi		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-butyyl-3,5-diookso-2-fenyyl-(1,2,4)-triazolidin-4-yyli)-4,4-dimetyyli-3-okso-N-(2-metoksi-5-(2-(dodekyli-1-sulfonyyli)propionyyliamino)fenyyli)pentaaniamidi		418-060-5	118020-93-2	R 53	R: 53 S: 61		
616-120-00-7	Seos: N-(3-dimetyyliamino-4-metyylifenyyli)bentsamidi N-(3-dimetyyliamino-2-metyylifenyyli)bentsamidi N-(3-dimetyyliamino-3-metyylifenyyli)bentsamidi		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-dihydroksi-N-(2-metoksyfenyyli)bentsamidi		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-(dietyyliamino)-2-metyylifenyyli]imino]-6-okso-1,4-sykloheksadienyli]asetamidi		414-740-0	96141-86-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-124-00-9	litiumbis(trifluorimetyylisulfonyyli)imidi		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-syano-N-(1,1-dimetyylietyyli)androsta-3,5-		415-730-9	151338-11-3	N; R50-53	N R: 50/53		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
	dieeni-17-β-karboksamidi					S: 60-61		
616-127-00-5	Seos: N,N'-Etaani-1,2-diyylibis(dekaaniamidi) 12-Hydroksi-N-[2-[1-oksidekyyl]amino]etyyli]oktadekaaniamidi N,N'-Etaani-1,2-diyylibis(hydroksioktadekaaniamidi)		430-050-2	-	R43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		
616-128-00-0	N-(2-(1-allyyli)-4,5-disyanoimidatsol-2-yyliatso)-5-(dipropyylimino)fenyyli]asetamidi		417-530-7	123590-00-1	R53	R: 53 S: 61		
616-129-00-6	N,N'-bis(2,2,6,6-tetrametyyli-4-piperidyyli)isofalammidi		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-dimetyyli-2,5-dioksimidatsolin-1-yyli)-4,4-dimetyyli-3-okso-pentanoyliamino)-4-metoksisfenyyli)oktadekaaniamidi		421-780-2	150919-56-5	R53	R: 53 S: 61		
616-132-00-2	N-[4-(4-syano-2-furfuryliideeni-2,5-dihydro-5-okso-3-furyyli)fenyyli]butaani-1-sulfonamidi		423-250-6	130016-98-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-133-00-8	N-syklöheksyyli-S,5-dioksobentsolb[1]tofeeni-2-karboksamidi		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(dioktyylioksisofinitroyli)itio)-N,N'-oksi-bis(metyleeni)dipropionamidi		401-820-5	-	R52-53	R: 52/53 S: 61		
616-135-00-9	(3S,4aS,8aS)-2-[(2R,3S)-3-amino-2-hydroksi-4-fenyylibutyyl]-N-tertibutyylidekahydroksinoliini-3-karboksamidi		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(vinyylisulfonyliasetamido)propaani		428-350-3	93629-90-4	Mura,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		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
616-143-00-2	N,N'-diheksadekyyli-N,N'-bis(2-hydroksietyyli)propanidiamiidi		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	Seos: 1-metyyli-1-(3-(1-metyylietyyli)fenyli)etyyli-1-metyyli-1-fenylietyyliperoksidi, 63% (painoprosenttia) 1-metyyli-1-(4-(1-metyylietyyli)fenyli)etyyli-1-metyyli-1-fenylietyyliperoksidi, 31% (painoprosenttia)		410-840-3	71566-50-2	O; R7 N; R51-53	O; N R: 7-51/53 S: (2-)3/7-14-36/37/39-61		
617-019-00-0	6-(ftalimido)peroksiheksaanihappo		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-diyli)bentseemibis(neodekanoyyli)peroksidi)		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	Reaktiotuote: polyetyleenipolyamiini-(C16-C18)-alkyyliamidit ja monotio-(C2)-alkyylifosfonaatit		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	Reaktiotuote: 3,5-bis-tert-butyyliisalisyylihapo ja aluminiumsulfatti		420-310-3	-	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)22-56-60-61		
650-044-00-5	etoksiloituidut suoraketjuiset ja haaraketjuiset C14-15-alkoholit, reaktiotuote epikloorihydriniin kanssa		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	Reaktiotuote: 2-hydroksi-1,2,3-propaanitrikarboksyylihapon dietyyliesteri (32074-56-9), 1-propanoli (71-23-8) ja zirkoniumtetra-n-propanolaatti (23519-77-9)		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(tetraametyyliammonium)(29H,31H-ftalosaani-N29,N30,N31,N32)disulfonamidi disulfonaaattikupraatti(2-)kompleksi, johdoset		416-180-2	-	Xn; R22-48/22 N; R51-53	Xn; N R: 22-48/22-51/53 S: (2-)22-36-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aiheita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
650-047-00-1	dibentsyylifenyyliisulfoniumheksafluoriantimonaatti		417-760-8	134164-24-2	T; R48/25 Xi; 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	Reaktioliute: booraksi, vetyperoksidi, etikkahappoanhydridi ja etikkahappo		420-070-1	-	O; R7 Xi; R20/21/22-35-50 C; R35 N; R50	O; C; N R: 7-20/21/22-35-50 S: (1/2-)3/7-14-26-36/37/39-45-61		
650-049-00-2	2-alkyyloksietyylivetymaleaatti, jossa alkyyliosa on painoprosentteina 70- 85 % tydyttymättömää oktaadekoyyliä, 0,5-10 % tydyttyynyttä oktaadekoyyliä ja 2-18 % tydyttyynyttä heksadekoyyliä		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	Seos: 1-metyyli-3-hydroksi-propyyli-3,5- 1,1-dimetyylietyyli -4-hydroksidihydroksiinnaamaatti ja/tai 3-hydroksiburyyli-3,5- 1,1-dimetyylietyyli -4-hydroksidihydroksiinnaamaatti 1,3-butaanidiolibiis[3-(3-(1,1-dimetyylietyyli)-4-hydroksifenyyli)propionaatti]-isomeerit 1,3-butaanidiolibiis[3-(3',5'-(1,1-dimetyylietyyli)-4'-hydroksifenyyli)propionaatti]-isomeerit		423-600-8	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
650-055-00-5	hopeanatriumtetrakisirkoniuumvetyfosfaatti		422-570-3	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

Indeksi-nro.	kemikaalin nimi	Huomautukset koskevat aineita	EY-nro.	CAS-nro.	Luokitus	Merkinnät	Pitoisuusrajat	Huomautukset koskevat seoksia
048-002-00-0	Kadmium (ei-pyroforinen) [1] Kadmiumoksidin (stabiloitu) [2]	E	231-152-8 [1] 215-146-2 [2]	7440-43-9 [1] 1306-19-0 [2]	Carc. Cat. 2; R45 Mutu. 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	Kadmium (pyroforinen)	E	231-152-8	7440-43-9	Carc. Cat. 2; R45 Mutu. 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-Nitrotolueeni	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-Nitrotolueeni	E	201-853-3	88-72-2	Carc. Cat. 2; R45 Mutu. 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	<i>o</i> -Fenetidini	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-Etoksianilini <i>p</i> -Fenetidini		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		

## **LIITE 2A**

## A.21. HAPETTAVAT OMINAISUUDET (NESTEET)

### 1. MENETELMÄ

#### 1.1 JOHDANTO

Tämän testimenetelmän tarkoituksena on mitata nestemäisen aineen kyky suurentaa palavan aineen palamisnopeutta tai -intensiteettiä tai sen kykyä muodostaa palavan aineen kanssa sellainen seos, joka voi syttyä itsestään, kun aineet sekoitetaan täydellisesti. Menetelmä perustuu YK:n testiin hapettaville nesteille (1) ja vastaa sitä täysin. Koska menetelmä A.21 on kuitenkin tarkoitettu pääasiassa täyttämään direktiivin 67/548 vaatimukset, testattavaa ainetta on tarpeen verrata vain yhteen vertailuaineeseen. Testaaminen ja aineen vertaaminen muihin vertailuaineisiin voi olla tarpeen, jos on odotettavissa, että testien tuloksia käytetään muihin tarkoituksiin.<sup>1</sup>

Tätä testiä ei tarvitse tehdä, jos rakennekaavaa tarkastelemalla voidaan päätellä kohtuullisella varmuudella, että aine ei voi reagoida eksotermisesti palavan aineen kanssa.

On hyvä, jos aineen mahdollisista räjähdysominaisuuksista on saatavilla alustavia tietoja ennen testin tekemistä.

Tämä testi ei sovellu kiinteille aineille, kaasuille, räjähtäville tai erittäin helposti syttyville aineille eikä orgaanisille peroksidoille.

Tätä testiä ei mahdollisesti tarvitse tehdä, jos ainetta koskevia tuloksia on jo olemassa YK:n hapettavia nesteitä koskevasta testistä (1).

#### 1.2 MÄÄRITELMÄT JA MITTAYKSIKÖT

**Keskimääräinen paineennousuaika** on niiden aikojen keskiarvo, jotka on mitattu, kun testattavan seoksen paine on nostettu 690 kPa:sta 2070 kPa:an ilmanpaineen yläpuolella.

#### 1.3 VERTAILUAINE

Vertailuaineeksi tarvitaan 65-painoprosentista typpihappoa (vesiliuos; analyttinen laatu).<sup>2</sup>

Jos kokeen tekijä kuitenkin arvelee, että testin tuloksia saatetaan käyttää muihin tarkoituksiin,<sup>1</sup> muidenkin vertailuaineiden testaaminen voi olla aiheellista.<sup>3</sup>

#### 1.4 TESTIMENETELMÄN PERIAATE

Testattava neste sekoitetaan massasuhteessa 1:1 kuituselluloosan kanssa ja siirretään paineastiaan. Jos aineet sytyvät itsestään sekoitettaessa tai astiaa täytettäessä, ei testiä tarvitse jatkaa.

Jos testattava seos ei syty itsestään, tehdään koko testi. Seosta kuumennetaan paineastiassa ja määritetään keskimääräinen aika, joka tarvitaan, että paine nousee 690 kPa:sta 2070 kPa:iin ilmanpaineen yläpuolella. Tätä verrataan siihen keskimääräiseen aikaan, joka tarvitaan, että vertailuaine(id)en ja selluloosan 1:1-seos paine nousee saman verran.

#### 1.5 LAATUKRITEERIT

Viiden kokeen sarjassa yhdellä aineella mikään tulos ei saa erota enempää kuin 30 % aritmeettisesta keskiarvosta. Tulokset, jotka eroavat yli 30 % keskiarvosta, on hylättävä, sekoitus- ja täyttömenetelmää on parannettava ja testi uusittava.

<sup>1</sup> Esimerkiksi YK:n kuljetussäännösten yhteydessä.

<sup>2</sup> Happo on titrattava ennen testausta sen konsentraation varmistamiseksi.

<sup>3</sup> Esimerkiksi 50-painoprosentista perkloorihappoa ja 40-painoprosentista natriumklooraattia on käytetty viitteessä 1.

## 1.6 MENETELMÄN KUVAUS

### 1.6.1 Valmistelu

#### 1.6.1.1 *Palava aine*

Palavana aineena käytetään kuivattua kuituselluloosaa, jonka kuidun pituus on 50–250 µm ja keskihalkaisija 25 µm.<sup>4</sup> Selluloosa kuivataan vakiopainoon kerroksena, joka on enintään 25 mm paksu, 105 °C:ssa 4 tuntia, ja sitä pidetään eksikkaattorissa kuivatusaineen kanssa, kunnes se on jäähtynyt ja kunnes sitä tarvitaan. Kuivatun selluloosan vesipitoisuuden pitäisi olla alle 0,5 % kuivasta massasta.<sup>5</sup> Tarvittaessa kuivatusaikaa on pidennettävä, jotta tähän päästään.<sup>6</sup> Koko testin aikana on käytettävä samaa selluloosaerää.

#### 1.6.1.2 *Laitteet*

##### 1.6.1.2.1 *Paineastia*

Testiin tarvitaan lieriönmuotoinen teräksinen paineastia, jonka pituus on 89 mm ja ulkohalkaisija 60 mm (ks. kuva 1). Vastakkaisille sivuille työstetään kaksi tasaista pintaa (jolloin astian poikkileikkaus pienenee 50 mm:iin) kiinnittämisen helpottamiseksi, kun sytytystulppaa ja ilmaustulppaa pannaan paikoilleen. Astian sisäläpimitta on 20 mm ja kummankin pään sisäpuoli on kyntetty 19 mm:n syvyydeltä ja siinä on kierteet, joihin sopii 1" British Standard Pipe (BSP) tai vastaava metrijärjestelmän mukainen osa. Paineastian pyöreään pintaan 35 mm:n päähän astian toisesta päästä ja 90 asteen kulmassa työstettyihin pintoihin on ruuvattu sivuhaara, jonka kautta paine voidaan päästää ulos. Sivuhaaraputken istukka porataan 12 mm:n syvyyteen siten, että siihen sopii 1/2":n BSP (tai metrijärjestelmän vastaava) kierre sivuhaaran päässä. Tarvittaessa lisätään inertti tiiviste, jotta liitos on kaasutiivis. Sivuhaara ulottuu 55 mm:n päähän paineastian ulkopuolelle, ja sen sisäläpimitta on 6 mm. Sivuhaaran pää on kyntetty ja sen kierteet ovat sellaiset, että niihin sopii kalvotyyppinen paineenmuunnin. Mitä tahansa paineenmittauslaitetta voidaan käyttää edellyttäen, etteivät kuumat kaasut tai hajoamisessa syntyvät yhdisteet vaikuta siihen ja että se pystyy mittaamaan paineen nousunopeuksia 690–2070 kPa:n välillä alle 5 ms:ssa.

Kauempana sivuhaarasta oleva paineastian pää suljetaan sytytystulppalla, jossa on kaksi elektrodia. Toinen niistä on eristetty tulpan pääosasta ja toinen on maadoitettu siihen. Paineastian toisessa päässä on varokalvo (murtumispaine noin 2200 kPa), jota pitää paikallaan sisäläpimitaltaan 20 mm:n tulppa. Tarvittaessa sytytystulpan kanssa käytetään inerttiä tiivistettä, jotta liitos on kaasutiivis. Tukiteline (kuva 2) pitää kokoonpanon oikeassa asennossa käytön aikana. Siihen kuuluu tavallisesti pehmeää terästä oleva pohjalaatta, jonka mitat ovat 235 mm x 184 mm x 6 mm, ja 185 mm:n pituinen poikkileikkaukseltaan neliönmuotoinen onttotanko, jonka mitat ovat 70 mm x 70 mm x 4 mm.

Neliönonttotangon toisessa päässä siitä leikataan pala vastakkaisilta puolilta siten, että saadaan rakenne, jossa on kaksi litteäreunaista jalkaa, joiden yläpuolella on 86 mm koskematonta neliönonttotankoa. Jalat leikataan siten, että ne muodostavat 60°:n kulman vaakatason kanssa, kun tanko on hitsattu pohjalaattaan. Pohjarakenteen yläosan yhdelle laidalle työstetään lovi, jonka leveys on 22 mm ja syvyys 46 mm, siten, että kun paineastiakokoonpano lasketaan onttotankotelineeseen sytytystulppa edellä, sivuhaara sopii loveen. Onttotangon alempaan sisäpintaan hitsataan 30 mm leveä ja 6 mm paksu teräspala, joka toimii välkkeenä. Kaksi vastakkaisilla pinnoilla olevaa 7 mm:n siipiruuvia pitää paineastian tukevasti paikallaan. Kaksi 12 mm leveää 6 mm:n paksuisesta teräksestä tehtyä nauhaa, jotka on hitsattu onttotangon pohjaosaan kiinnittyviin sivuosiin, tukee paineastiaa alhaalta päin.

<sup>4</sup> Esimerkiksi Whatman Column Chromatographic Cellulose Powder CF 11, luettelon nro 4021 050.

<sup>5</sup> Varmistetaan (esim.) Karl Fisherin titrauksella.

<sup>6</sup> Vesipitoisuus voidaan määrittää myös (esim.) kuumentamalla 105 °C:ssa tyhjiössä 24 h.

#### 1.6.1.2.2 Sytytysjärjestelmä

Sytytysjärjestelmä koostuu 25 cm pitkästä Ni/Cr-langasta, jonka halkaisija on 0,6 mm ja vastus 3,85 ohm/m. Lanka on kierretty halkaisijaltaan 5 mm:n tangon avulla kelaksi ja kiinnitetty sytytystulpan elektrodien. Kelan muodon pitäisi olla sellainen kuin kuvassa 3 esitetään. Astian pohjan ja sytytyskelan alapään välisen etäisyyden pitäisi olla 20 mm. Ellei elektrodia voi säätää, pitäisi kelan ja astian pohjan välillä olevan sytytyslankaan päät eristää keraamivaipalla. Lankaa kuumennetaan tasavirtateholla lähteellä, joka pystyy tuottamaan vähintään 10 A:n voimakkuista virtaa.

#### 1.6.2 Testin suoritusarvot<sup>7</sup>

Laitetta, joka on koottu täydellisesti ja jossa on paineenmuunnin ja kuumennusjärjestelmä, mutta johon ei ole asennettu varokalvoa, tuetaan sytytystulppapuoli alaspäin. 2,5 g testattavaa nestettä ja 2,5 g kuivattua selluloosaa sekoitetaan lasidekanterissa käyttäen lasista sekoitussauvaa<sup>8</sup>. Turvallisuussyistä työntekijän ja seoksen välillä on oltava suojalevy sekoituksen aikana. Jos seos syttyy sekoituksen tai täytön aikana, ei testiä tarvitse jatkaa. Seos siirretään paineastiaan pieni määrä kerrallaan taputtaen, jotta seos pakkautuisi sytytyskelan ympärille ja olisi hyvin kosketuksissa sen kanssa. On tärkeää, ettei kela vääristy seoksen pakkaamisen aikana, koska se voisi aiheuttaa vääriä tuloksia<sup>9</sup>. Varokalvo asetetaan paikalleen ja kiinnitystulppa kierretään tiukasti paikalleen. Täytetty astia asetetaan tukitelineeseen siten, että varokalvo on ylöspäin. Teline olisi sijoitettava sopivaan vahvistettuun vetokaappiin tai sytytyskoekammioon. Tehonlähde yhdistetään sytytystulpan ulompiin päihin ja annetaan 10 A:n virtaa. Aika, joka kuluu sekoituksen aloittamisesta tehon kytkemiseen, ei saisi olla pitempi kuin 10 min.

Paineenmuuntimen aikaansaama signaali rekisteröidään sopivalla järjestelmällä, joka mahdollistaa sekä arvioinnin että saadun aika-painekäyrän pysyvän rekisteröinnin (esim. transienttitallennin, joka on kytketty piirturiin). Seosta kuumennetaan, kunnes varokalvo murtuu tai ainakin 60 s. Jos varokalvo ei murre, seoksen on annettava jäähtyä ennen kuin laite puretaan varovasti ja varoen erityisesti mahdollista paineen vapautumista. Testattavalla aineella ja vertailuaineella (-aineilla) tehdään viisi koetta. Kirjataan aika, joka kuluu siihen, että paine nousee 690 kPa:sta 2070 kPa:iin ilmanpaineen yläpuolella. Lasketaan paineen nousuun kuluvien aikojen keskiarvo.

Joissakin tapauksissa aineet saattavat aiheuttaa paineen nousun (liian suuren tai liian pienen), joka aiheutuu sellaisista kemiallisista reaktioista, jotka eivät liity aineen hapettaviin ominaisuuksiin. Tällöin voi olla tarpeen toistaa testi inertillä aineella, esim. piimaalla (kieselguhr), selluloosan sijasta reaktion laadun selvittämiseksi.

<sup>7</sup> Hapettimien ja selluloosan seoksia on pidettävä mahdollisesti räjähtävinä ja käsiteltävä asianmukaisella huolella.

<sup>8</sup> Käytännössä tämä voidaan tehdä valmistamalla testattavasta nesteestä ja selluloosasta 1:1-seosta suurempi määrä kuin kokeeseen tarvitaan ja siirtämällä  $5 \pm 0,1$  g seosta paineastiaan. Seos on valmistettava tuoreeltaan joka koetta varten.

<sup>9</sup> Erityisesti on estettävä kelan vierekkäisten kierteiden välinen kosketus.

## 2 MITTAUSTULOKSET

Paineen nousuun kuluneet ajat sekä testiaineelle että vertailuaineelle (-aineille). Paineen nousuun kuluneet ajat mahdollisille inertin aineen kanssa tehdyille testeille.

### 2.1 TULOSTEN KÄSITTELY

Lasketaan paineen nousuun kuluneiden aikojen keskiarvot sekä testiaineelle että vertailuaineelle (-aineille). Lasketaan paineen nousuun kuluneiden aikojen keskiarvot mahdollisille inertin aineen kanssa tehdyille testeille.

Taulukossa 1 esitetään joitakin esimerkkejä tuloksista.

**Taulukko 1**  
Esimerkkejä tuloksista <sup>d)</sup>

Aine <sup>c)</sup>	Keskimääräinen paineen nousuun kulunut aika 1:1-selluloosaseokselle (ms)
Ammoniumdikromaatti, kyllästetty vesiliuos	20800
Kalsiumnitraatti, kyllästetty vesiliuos	6700
Ferrinitraatti, kyllästetty vesiliuos	4133
Litiumperkloraaatti, kyllästetty vesiliuos	1686
Magnesiumperkloraaatti, kyllästetty vesiliuos	777
Nikkelinitraatti, kyllästetty vesiliuos	6250
Typpihappo, 65 %	4767 <sup>a)</sup>
Perkloorihappo, 50 %	121 <sup>a)</sup>
Perkloorihappo, 55 %	59
Kaliumnitraatti, 30 % vesiliuos	26690
Hopeanitraatti, kyllästetty vesiliuos	<sub>b)</sub>
Natriumkloraaatti, 40 % vesiliuos	2555 <sup>a)</sup>
Natriumnitraatti, 45 % vesiliuos	4133
<i>Inerti aine</i>	
Vesi:selluloosa	<sub>b)</sub>

a) Laboratorioidenvälisten vertailevien tutkimusten keskiarvo.

b) Maksimipainetta 2070 kPa ei saavutettu.

c) Kyllästetyt liuokset on valmistettava 20 °C:ssa.

d) Ks. viite (1), YK:n kuljetusjärjestelmän mukainen luokitus.

### 3 TESTISELOSTE

#### 3.1 TESTISELOSTE

Testiselosteessa on ilmoitettava seuraavat tiedot:

- testattavan aineen tunnistetiedot, koostumus, puhtausaste jne.
- testiaineen pitoisuus
- selluloosan kuivausmenetelmä
- käytetyn selluloosan vesipitoisuus
- mittaustulokset
- inertin aineen kanssa mahdollisesti tehtyjen testien tulokset
- paineen nousuun kuluvi-  
sta ajoista lasketut keskiarvot
- mahdolliset poikkeamat tästä menetelmästä ja syyt niihin
- kaikki lisätiedot tai huomautukset, jotka voivat vaikuttaa tulosten tulkintaan.

#### 3.2 TULOSTEN TULKINTA<sup>10</sup>

Testitulosten arvioinnissa

- a) todetaan, syttyykö testiaineen ja selluloosan seos itsestään ja
- b) verrataan paineen nousuun (690 kPa – 2070 kPa) kuluneiden aikojen keskiarvoja vertailuaine(id)en vastaaviin arvoihin.

Nestemäisen aineen katsotaan olevan hapettava, kun

- a) testattavan aineen ja selluloosan 1:1-seos (massana) syttyy itsestään tai
- b) testattavan aineen ja selluloosan 1:1-seoksella (massana) on pienempi tai yhtä suuri keskimääräinen paineen nousuun kuluva aika kuin 65-painoprosenttisen typpihapon ja selluloosan 1:1-seoksella (massana).

Väärin positiivisten tulosten välttämiseksi on tuloksia tulkittaessa tarkasteltava tarvittaessa myös tuloksia, jotka on saatu testattaessa ainetta inertin materiaalin kanssa.

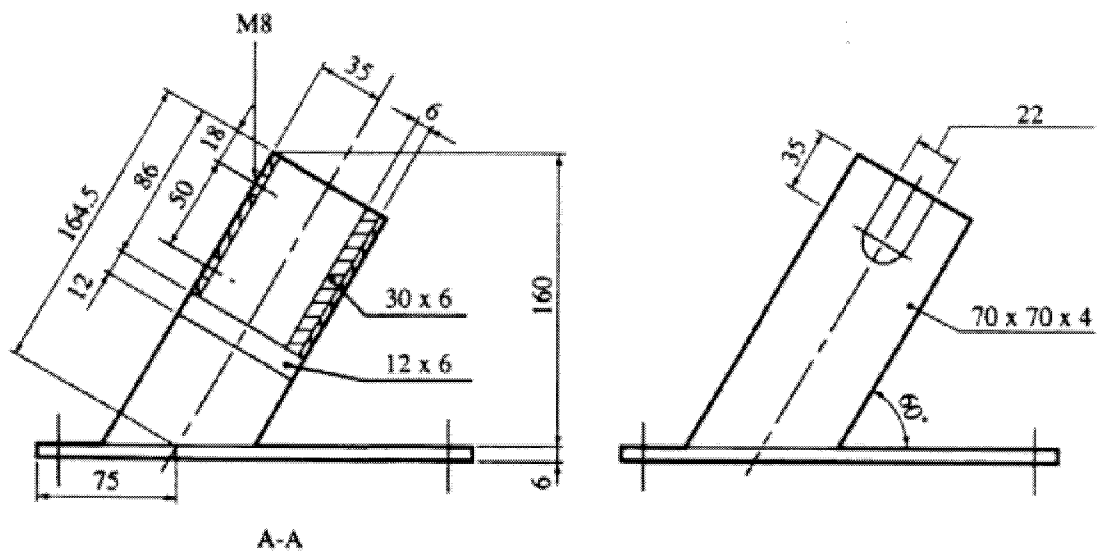
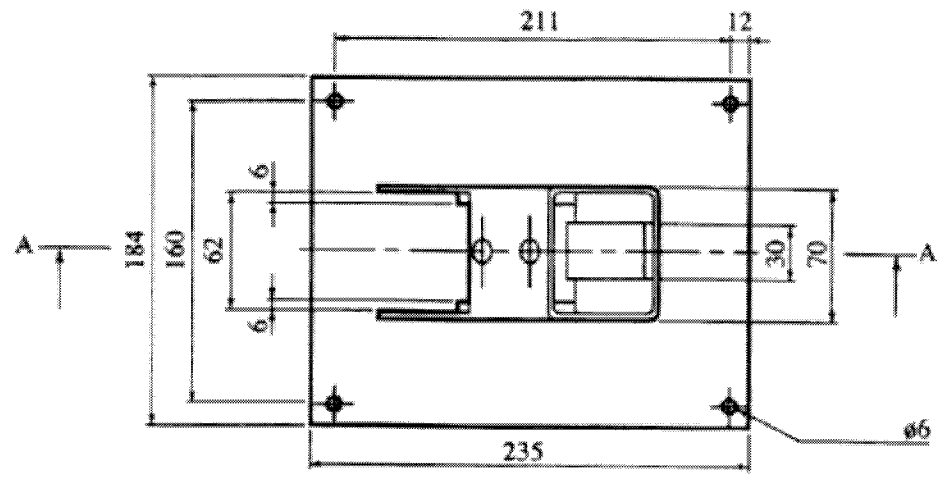
### 4 KIRJALLISUUS

- (1) Recommendations on the Transport of Dangerous Goods, Manual of Tests and Criteria. 3. tarkistettu painos. YK:n julkaisu nro ST/SG/AC.10/11/Rev. 3, 1999, sivu 342. Test O.2: Test for oxidizing liquids.

<sup>10</sup> Ks. viite 1, tulosten tulkinta YK:n kuljetusmääräysten mukaan käytettäessä useita vertailuaineita.

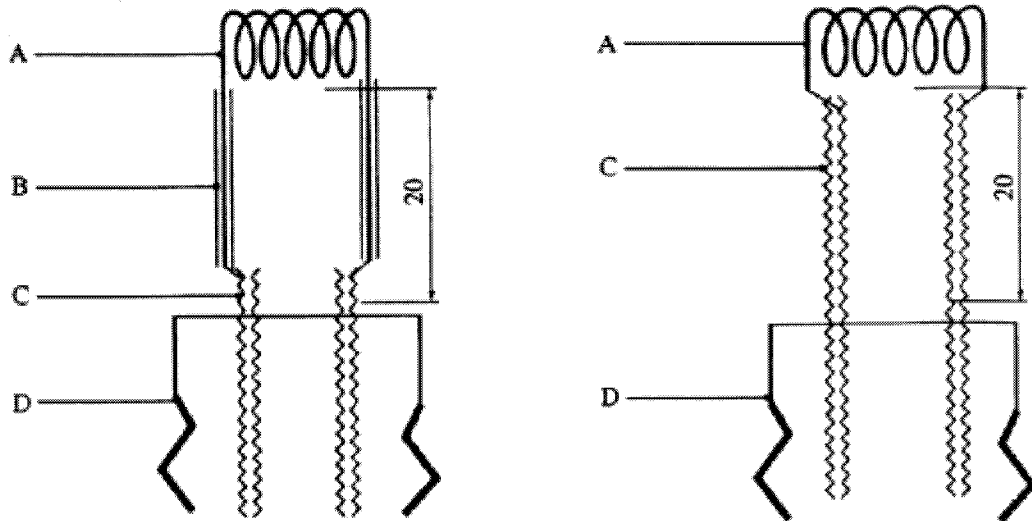


Kuva 2  
Tukiteline



Kuva 3

## Sytytysjärjestelmä



(A) Sytytyskela

(B) Eristys

(C) Elektrodit

(D) Sytytystulppa

Huom: kokoonpainosta voidaan käyttää kumpaa hyvänsä

## **LIITE 2B**

**B.1 a AKUUTTI ORAALINEN TOKSISUUS - VAKIOANNOSMENETELMÄ****1. MENETELMÄ**

Tämä menetelmä vastaa OECD:n testiohjetta nro TG 420 (2001)

**1.1 JOHDANTO**

Perinteisissä menetelmissä akuutin toksisuuden arvioimiseksi käytetään päätepineenä eläinten kuolemaa. Vuonna 1984 British Toxicology Society ehdotti akuutin toksisuuden testaamiseksi uutta käytäntöä, joka perustuu aineen annosteluun vakioannostasojen sarjana (1). Menetelmässä vältettiin käyttämästä eläinten kuolemaa päätepineenä ja tarkkailtiin sen sijaan selviä toksisuusoireita yhdellä annossarjasta valitulla vakioannostasolla. Menetelmä on hyväksytty tutkimusmenetelmäksi vuonna 1992 Yhdistyneen kuningaskunnan (2) ja kansainvälisten (3) *in vivo* validointitutkimusten perusteella. Tämän jälkeen vakioannosmenetelmän tilastollisia ominaisuuksia on arvioitu matemaattisten mallien avulla useissa tutkimuksissa (4)(5)(6). *In vivo*- ja mallintamistutkimukset ovat osoittaneet, että menetelmä on toistettava, että siinä käytetään vähemmän eläimiä ja että se aiheuttaa vähemmän kärsimystä kuin perinteiset menetelmät. Menetelmällä voidaan luokitella aineita vaarallisuuden mukaan samalla tavoin kuin muilla akuutin toksisuuden tutkimusmenetelmillä.

Ohjeita tiettyyn tarkoitukseen sopivimman tutkimusmenetelmän valinnasta on annettu akuutin oraalin toksisuuden testausta koskevassa ohjeasiakirjassa (Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing (7)). Ohjeasiakirjassa on myös lisätietoa tutkimusmenetelmä B.1 a :n käyttämisestä ja tulkinnasta.

Menetelmän periaatteena on, että päätutkimuksessa käytetään ainoastaan lievästi toksisia annoksia ja että todennäköisesti tappavien annosten antamista vältetään. Annoksia, joiden tiedetään aiheuttavan voimakasta kipua ja kärsimystä syövyttävien tai vaikea-asteisten ärsytysvaikutusten vuoksi, ei myöskään tarvitse annostella. Kuolemaisillaan olevat, selvästi kärsivät tai voimakkaasta ja jatkuvasta kivusta merkkejä osoittavat eläimet on lopetettava humaanilla tavalla, ja koetulosten tulkinnassa ne on otettava huomioon samalla tavalla kuin kokeessa kuolleet eläimet. Erillisessä ohjeasiakirjassa (8) on esitetty kriteerit, joiden perusteella tehdään päätös kuolemaisillaan olevan tai voimakkaasti kärsivän eläimen lopettamisesta. Lisäksi siinä on annettu ohjeita ennustettavan tai uhkaavan kuoleman tunnistamiseksi.

Menetelmällä saadaan tietoa vaarallisista ominaisuuksista ja aineet voidaan sen perusteella sijoittaa ja luokitella akuuttia toksisuutta aiheuttavien kemikaalien kansainvälisesti yhdenmukaistetun luokitusjärjestelmän mukaisesti (Globally Harmonised System (GHS) for the classification of chemicals which cause acute toxicity (9)).

Koelaboratorion on otettava huomioon kaikki testiaineesta saatavilla olevat tiedot ennen tutkimuksen suorittamista. Näissä tiedoissa on esitettävä aineen tunnistetiedot ja kemiallinen rakenne, sen fysikaalis-kemialliset ominaisuudet, kaikkien muiden aineella *in vivo* tai *in vitro* suoritettujen toksisuuskokeiden tulokset, rakenteellisesti samanlaisten aineiden toksikologiset tiedot ja aineen odotettu käyttö. Nämä tiedot ovat välttämättömiä kaikkien asianosaisten vakuuttamiseksi siitä, että kokeella on merkitystä ihmisten terveyden suojelun kannalta ja että sen avulla voidaan valita sopiva alkuannos.

**1.2 MÄÄRITELMÄT**

**Akuutti oraalinen toksisuus:** haittavaikutukset, joita esiintyy, kun ainetta on annosteltu suun kautta kerta-annoksena tai useampana annoksena 24 tunnin aikana.

**Viivästynyt kuolema:** eläin ei kuole tai vaikuta kuolevalta 48 tunnin kuluessa, mutta kuolee myöhemmin 14 päivän havainnointijakson aikana.

**Annos:** annostellun testiaineen määrä. Annos ilmaistaan testiaineen painona koe-eläimen painoysikköä kohti (esimerkiksi mg/kg).

**Ilmeinen toksisuus:** yleistermi, jolla tarkoitetaan testiaineen antamisen jälkeen ilmeneviä selviä toksisuuden oireita (katso esimerkiksi (3)). Näiden oireiden perusteella vakioannoksen suurentaminen seuraavaan annokseen aiheuttaisi todennäköisesti voimakasta kipua ja jatkuvia merkkejä kovasta kärsimyksestä tai sen, että eläin on kuolemaisillaan (perusteet on esitetty eläinkokeen humaaneja lopettamiskriteereitä koskevassa ohjeasiakirjassa Humane Endpoints Guidance Document (8)) tai todennäköisesti useimpien eläinten kuoleman.

**GHS:** Globally Harmonised Classification System for Chemical Substances and Mixtures (Kemiallisten aineiden ja seosten kansainvälisesti yhdenmukaistettu luokitusjärjestelmä). Yhteinen toimi, johon osallistuvat OECD (ihmisten terveys ja ympäristö), YK:n vaarallisten aineiden kuljettamista käsittelevä asiantuntijakomitea (fysikaalis-kemialliset ominaisuudet) ja ILO (vaarojen ilmoittaminen) ja jota koordinoidaan kemikaalien järkevää hallinnointia koskevalla organisaatioiden välisellä ohjelmalla (IOMC).

**Uhkaava kuolema:** eläin on vakavasti sairas tai kuolee todennäköisesti ennen seuraavaa suunniteltua havainnointijankohtaa. Jyrsijöillä tällaista tilaa osoittavia merkkejä voivat olla kouristukset, kyljellään makaaminen, velttous ja vapina. (Katso tarkempia tietoja eläinkokeen humaaneja lopettamiskriteereitä koskevasta ohjeasiakirjasta (8)).

**LD<sub>50</sub> (median lethal dose, keskimääräinen tappava annos):** on tilastollinen kerta-annos, jonka voidaan suun kautta annosteltuna odottaa tappavan puolet annoksen saaneista eläimistä. LD<sub>50</sub>-arvo ilmoitetaan testiaineen painona koe-eläimen painoyksikköä kohti (mg/kg).

**Raja-annos:** kokeen yläraja-annos (2000 tai 5000 mg/kg).

**Kuolemaisillaan oleva:** eläin, joka on kuolemaisillaan tai ei kykene säilymään hengissä hoidosta huolimatta. (Katso tarkempia lisätietoja eläinkokeen humaaneja lopettamiskriteereitä koskevasta ohjeasiakirjasta (8)).

**Ennustettava kuolema:** sellaisten kliinisten oireiden esiintyminen, jotka viittaavat siihen, että eläin tulee kuolemaan tietyn ajan kuluttua ennen kokeen suunniteltua päättymistä. Näitä oireita ovat esimerkiksi kykenemättömyys käyttää vettä tai ruokaa. (Katso tarkempia lisätietoja eläinkokeen humaaneja lopettamiskriteereitä koskevasta ohjeasiakirjasta (8)).

### 1.3 KOEMENETELMÄN PERIAATE

Samaa sukupuolta olevien eläinten ryhmille annostellaan testiainetta vaiheittain käyttämällä 5, 50, 300 ja 2000 mg:n/kg vakioannoksia (poikkeuksellisesti voidaan käyttää 5000 mg:n/kg lisävakioannosta, katso kappale 1.6.2). Alkuannostaso valitaan esikokeen perusteella annokseksi, jonka odotetaan aiheuttavan joitakin toksisuusoireita, mutta ei kuitenkaan vakavia toksisia vaikutuksia tai kuolleisuutta. Kipuun, kärsimykseen ja uhkaavaan kuolemaan liittyviä kliinisiä oireita ja tiloja on kuvailtu yksityiskohtaisesti OECD:n ohjeasiakirjassa (8). Muille eläinryhmille voidaan antaa korkeampia tai matalampia vakioannoksia sen mukaan, esiintyykö merkkejä toksisuudesta tai kuolleisuudesta. Menettelyä jatketaan, kunnes ilmeistä toksisuutta tai korkeintaan yhden kuoleman aiheuttava annos pystytään määrittämään, tai kun korkeimmasta annoksesta ei ole havaittavissa vaikutuksia tai alhaisin annos aiheuttaa kuolemia.

### 1.4 KOEMENETELMÄN KUVAUS

#### 1.4.1 Eläinlajin valinta

Suosittelavin jyrsijälaji on rotta, tosin muitakin jyrsijöitä voidaan käyttää. Yleensä käytetään naaraita (7). Syynä tähän on, että tavanomaisia LD<sub>50</sub>-kokeita koskevien kirjallisuustutkimusten perusteella sukupuolten herkkyydessä on yleensä vähän eroja, mutta silloin kun eroja on havaittu, naaraat ovat yleensä hieman herkempiä (10). Mikäli rakenteellisesti samanlaisten kemikaalien toksikologisia ja toksikokineettisiä ominaisuuksia koskevat tiedot osoittavat urosten olevan herkempiä, on käytettävä uroksia. Kokeen tekeminen uroksilla edellyttää riittäviä perusteita.

Kokeeseen on käytettävä terveitä, nuoria ja täysikasvuisia yleisesti käytettyjä koe-eläinkantoja. Naaraat eivät saa olla synnyttäneitä eivätkä kantavia. Kunkin eläimen on annostuksensa alussa oltava 8–12 viikon ikäinen, ja sen paino saa poiketa korkeintaan  $\pm 20\%$  aikaisemmin annoksen saaneiden eläinten keskipainosta.

#### 1.4.2 Koe-eläintilat ja eläinten ruokinta

Koe-eläinhuoneen lämpötilan tulee olla 22 °C ( $\pm 3$  °C). Vaikka riittävät vaatimukset suhteellisen kosteuden suhteen ovat vähintään 30 % eikä mielellään yli 70 % muulloin kuin huoneen puhdistuksen aikana, pitäisi kuitenkin pyrkiä 50–60 %:n suhteelliseen kosteuteen. Huoneessa tulee käyttää keinovalaistusta 12 tunnin jaksoissa (12 tuntia valoa, 12 tuntia pimeää). Eläinten ruokinnassa voidaan käyttää normaalia laboratorioruokavaliota, eikä juomaveden määrää saa rajoittaa. Eläimet voidaan erotella eri häkkeihin annoksen mukaan, mutta eläinten lukumäärä häkkiä kohti ei saa häiritä kunkin eläimen selkeää havainnointia.

#### 1.4.3 Eläinten valmistelu

Eläimet valitaan satunnaisesti ja merkitään yksilötunnistusta varten. Eläimiä pidetään häkeissään vähintään viiden päivän ajan ennen annostelun aloittamista, jotta ne tottuvat laboratorio-oloihin.

#### 1.4.4 Annosten valmistelu

Yleensä testiaineen testattavat annokset annostellaan vakioitavuudessa niin, että annosteltavan valmisteen pitoisuus vaihtelee. Testattaessa nestemäistä lopputuotetta tai sekoitusta testiaineen käyttö laimentamattomana eli vakiopitoisena saattaa kuitenkin olla oleellista kyseisen aineen myöhemmän riskinarvioinnin kannalta, ja jotkut sääntelyviranomaiset edellyttävätkin tällaista menettelyä. Kummassakaan tapauksessa annoksen enimmäistilavuutta ei saa ylittää. Kerralla annettavan nesteen enimmäismäärä riippuu koe-eläimen koosta. Jyrsijöillä määrä ei yleensä saa olla yli 1 ml sataa painogrammaa kohti. Vesiliuoksia voidaan kuitenkin antaa 2 ml sataa painogrammaa kohti. Annostellun valmisteen koostumukseksi suositellaan vesipitoista liuosta/suspensiota/emulsiota aina, kun se on mahdollista. Muussa tapauksessa on mieluiten käytettävä öljypohjaista (esimerkiksi maissiöljy) liuosta/suspensiota/emulsiota tässä järjestyksessä ja sen jälkeen muihin kantaja-aineisiin pohjautuvia liuoksia. Jos kantaja-aine on muu kuin vesi, sen toksiset ominaisuudet on tunnettava. Annokset on valmistettava vähän ennen annostelua paitsi, jos valmisteen tiedetään säilyttävän stabiileittinsa käytön ajan ja sen on osoitettu olevan hyväksyttävä.

### 1.5 TESTIN SUORITUS

#### 1.5.1 Annostelu

Testiaine annetaan kerta-annoksena mahaletkun tai sopivan intubaatiokanyylin kautta. Mikäli kerta-annostelu ei poikkeuksellisesti ole mahdollinen, annos voidaan antaa pienempinä osina enintään 24 tunnin kuluessa.

Eläimiä ei saa ruokkia ennen annostelua (esimerkiksi rottaa on pidettävä ruoatta yli yön ja hiirtä 3–4 tuntia, mutta vettä tulee olla tarjolla). Paaston jälkeen eläimet punnitaan ja niille annetaan testiaine. Aineen annostelun jälkeen ruokintaa voidaan siirtää rotilla vielä 3–4 tuntia ja hiirillä 1–2 tuntia. Mikäli annos annetaan osina tietyn ajan kuluessa, eläimille saatetaan joutua antamaan ruokaa ja vettä jakson pituudesta riippuen.

#### 1.5.2 Esikoe

Esikokeen tarkoituksena on sopivan alkuannoksen valinta päätutkimusta varten. Testiaine annostellaan yksittäisille eläimille vaiheittain liitteessä 1 esitetyn toimenpidekaavion mukaisesti. Esikoe on valmis, kun päätös päätutkimuksessa käytettävästä alkuannoksesta voidaan tehdä (tai jos kuolleisuutta ilmenee alhaisimman vakioannoksen yhteydessä).

Esikokeen alkuannos valitaan vakioannostasoista 5, 50, 300 ja 2000 mg/kg. Valitun alkuannoksen odotetaan aiheuttavan ilmeistä toksisuutta ja sen on mahdollisuuksien mukaan perustuttava samalla kemikaalilla tai rakenteellisesti samanlaisilla kemikaaleilla suoritettujen *in vivo* tai *in vitro* testien tietoihin. Jos tällaisia tietoja ei ole käytettävissä, alkuannos on 300 mg/kg.

Annokset annetaan eläimille vähintään 24 tunnin välein. Kaikkia eläimiä on havainnoidava vähintään 14 päivää.

Korkeinta 5000 mg:n/kg vakioannostaso voidaan käyttää poikkeuksellisesti ja vain silloin, kun se on perusteltua erityisten sääntelyyn liittyvien vaatimusten vuoksi (katso liite 3). Eläinten hyvinvoinnin takia eläinkokeiden tekeminen GHS-luokassa 5 annoksella 2000-5000 mg/kg ei ole suositeltavaa, ja sitä tulee käyttää vain, kun on erittäin todennäköistä, että tällaisen kokeen tuloksilla on välitöntä merkitystä eläinten tai ihmisten terveyden tai ympäristön suojelemiselle.

Kun esikokeessa alhaisimmalla vakioannostasolla (5mg/kg) testattu eläin kuolee, tavanomainen menettely on päättää tutkimus ja luokitella aine GHS-luokkaan 1 (kuten liitteessä 1 on esitetty). Mikäli luokitus on kuitenkin vielä varmennettava, voidaan suorittaa seuraavanlainen vaihtoehtoinen lisätoimenpide: Toiselle eläimelle annetaan 5 mg:n/kg annos. Mikäli eläin kuolee, vahvistetaan luokituksesi GHS-luokka 1 ja tutkimus päätetään välittömästi. Mikäli eläin jää henkiin, annetaan korkeintaan kolmelle muulle eläimelle 5 mg:n/kg annos. Koska kuolleisuusriski on suuri, annostelun tulee tapahtua vaiheittain eläinten hyvinvoinnin turvaamiseksi. Annokset on annettava eläimille riittävän aikavälein, jotta voidaan osoittaa edellisen eläimen todennäköisesti jäävän henkiin. Mikäli toinen eläin kuolee, annostelu keskeytetään välittömästi eikä enempää eläimiä testata. Koska toisen eläimen kuolema (riippumatta testattujen eläinten määrästä päättymishetkellä) kuuluu tuloluokkaan A (kaksi tai useampia eläimiä kuolee), noudatetaan 5 mg:n/kg vakioannokselle liitteessä 2 esitettyä luokitussääntöä (luokka 1 mikäli kaksi tai useampia eläimiä kuolee tai luokka 2 mikäli vain yksi eläin kuolee). Lisäksi liitteessä 4 annetaan ohjeita EU:n järjestelmän mukaisesta luokituksesta ennen uuden GHS-järjestelmän käyttöönottoa.

### 1.5.3 **Päätutkimus**

#### 1.5.3.1 *Eläinten määrä ja annostasot*

Alkuannostasolla tapahtuneen testauksen jälkeen suoritettavat toimet on esitetty toimenpidekaavioissa liitteessä 2. Valittavana on kolme toimintavaihtoehtoa: testauksen keskeyttäminen ja sopivan vaarallisuusluokan määrittäminen, korkeamman vakioannoksen testaaminen tai matalamman vakioannoksen testaaminen. Eläinten suojelemiseksi päätutkimuksessa ei kuitenkaan käytetä uudestaan esikokeessa kuolemaan johtanutta annostasoa (katso liite 2). Kokemusten mukaan todennäköisin tulos alkuannostasolla on, että aine voidaan luokitella eikä uutta testausta tarvita.

Yleensä kullakin tutkitulla annostasolla käytetään yhteensä viittä samaa sukupuolta olevaa eläintä. Näihin viiteen eläimeen kuuluu yksi esikokeessa valitulla annostasolla testattu eläin sekä neljä muuta eläintä (paitsi jos päätutkimuksessa käytetty annostaso ei poikkeuksellisesti sisällynyt katsaustutkimukseen).

Annostelun aikaväli kullakin tasolla määritellään toksisten oireiden alkamishetken, keston ja vaikeusasteen mukaan. Seuraavan annoksen antamista tulee siirtää, kunnes jo annosteltujen eläinten eloonjäämisestä on saatu varmuus. Tarvittaessa annosteluväliksi suositellaan jokaisella annostasolla 3–4 päivää viivästyneen toksisuuden havainnoimiseksi. Aikaväliä voidaan muuttaa sopivaksi esimerkiksi, jos vasteesta ei vielä ole täyttä varmuutta.

Käytettäessä korkeinta 5000 mg:n/kg vakioannosta on noudatettava liitteessä 3 esitettyä menettelytapaa (katso myös kappale 1.6.2).

#### 1.5.3.2 *Raja-annostesti*

Raja-annostestiä käytetään pääasiassa silloin, kun tutkimuksen tekijällä on tietoa, jonka mukaan testiaine on todennäköisesti ei-toksinen, toisin sanoen se on toksista ainoastaan ylittäessään säädösten mukaiset raja-annokset. Tietoa testiaineen toksisuudesta saadaan samanlaisia testattuja yhdisteitä tai seoksia koskevista tiedoista, kun otetaan huomioon toksikologisesti merkittävien ainesosien tunnistetiedot ja prosenttiosuus. Päätutkimus on suoritettava, kun testiaineen toksisuudesta on vain vähän tai ei lainkaan tietoa tai kun se todennäköisesti on toksinen.

Näiden ohjeiden mukaisena raja-annostestinä voidaan tavanomaista menettelytapaa käytettäessä käyttää katsaustutkimusta, jossa alkuannos on 2000 mg/kg (tai poikkeuksellisesti 5000 mg/kg), ja jossa sen jälkeen annetaan neljälle muulle eläimelle sama annos.

### 1.6 **HAVAINNOINTI**

Eläimiä havainnoidaan yksittäin annostelun jälkeen vähintään yhden kerran ensimmäisten 30 minuutin aikana ja säännöllisin väliajoin ensimmäisten 24 tunnin aikana. Havainnointiin on oltava erityisen tarkkaa ensimmäisten neljän tunnin aikana. Sen jälkeen havainnointi tapahtuu päivittäin 14 päivän ajan paitsi, jos eläin on poistettava tutkimuksesta ja lopetettava humanilla tavalla eläinten hyvinvointia koskevien periaatteiden vuoksi tai se löydetään kuolleena. Havainnoinnin kesto ei pitäisi kuitenkaan määritellä tiukasti. Se tulee määrittää toksisten reaktioiden, niiden alkamishetken ja toipumisen keston perusteella ja sitä tulisi voida pidentää tarvittaessa. Toksisuusoireiden ilmaantumisen ja häviämisaikakohdat ovat tärkeitä etenkin, jos toksisilla oireilla on taipumus viivästyä (11). Kaikki havainnot kirjataan järjestelmällisesti eläinkohtaisesti.

Lisähavainnointi on tarpeen jos eläinten toksisuusoireet jatkuvat. Havaintoihin tulee sisältyä ihon, karvapeitteen, silmien, limakalvojen, hengitys- ja verenkiertojärjestelmän, autonomisen hermoston ja keskushermoston, somatomotorisen toiminnan ja käyttäytymisen muutokset. Huomiota tulee kiinnittää vapinaan, kouristuksiin, syljeneritykseen, ripuliin, letargiaan, uneen ja koomaan. Eläinkokeiden humaaneja lopettamiskriteereitä koskevassa ohjeasiakirjassa esitetyt periaatteet ja perustelut on otettava huomioon (8). Kuolevat eläimet ja eläimet, jotka osoittavat merkkejä voimakkaasta kivusta ja jatkuvasta kovasta kärsimyksestä, tulee lopettaa humaanilla tavalla. Humaaneista syistä lopetettujen tai kuolleen löydettyjen eläinten kuolinajankohta tulee kirjata muistiin mahdollisimman tarkasti.

#### 1.6.1 **Ruumiinpaino**

Kunkin eläimen paino on määritettävä hieman ennen testiaineen annostelua ja vähintään viikoittain sen jälkeen. Painon muutokset on laskettava ja kirjattava. Kokeen päätyttyä henkiin jääneet eläimet punnitaan ja lopetetaan sen jälkeen humaanilla tavalla.

#### 1.6.2 **Patologia**

Kaikkii koe-eläimet (myös kokeen aikana kuolleet tai eläinten hyvinvointia koskevien periaatteiden vuoksi tutkimuksesta poistetut) avataan. Kunkin eläimen kaikki makroskooppiset muutokset tulee kirjata. Ensimmäisen annostelun jälkeen vähintään 24 tuntia hengissä säilyneiden eläinten makroskooppisia muutoksia sisältävät elimet voidaan myös tutkia mikroskooppisesti siitä mahdollisesti saatavan hyödyllisen tiedon vuoksi.

### 2 **TULOKSET**

Tuloksina on esitettävä yksittäisiä eläimiä koskevat tulokset. Kaikki tulokset tulee esittää myös yhteenvedona taulukossa, josta käy ilmi kussakin koeryhmässä käytettyjen eläinten lukumäärä, toksisuusoireita osoittaneiden eläinten lukumäärä, kokeen aikana kuolleen löydettyjen tai humaaneista syistä lopetettujen eläinten lukumäärä, yksittäisten eläinten kuolinajankohta, toksisten vaikutusten ja palautuvuuden kuvaus ja niiden ajallinen esiintyminen sekä ruumiinavauslöydökset.

### 3 **TULOSTEN ILMOITTAMINEN**

#### 3.1 **Loppuraportti**

Loppuraportin tulee tarpeen mukaan sisältää seuraavat tiedot:

Testiaine:

- fysikaalinen olomuoto, puhtaus ja tarvittaessa fysikaalis-kemialliset ominaisuudet (myös isomeroituminen)
- tunnistetiedot CAS-numero mukaan lukien.

Kantaja-aine (tarvittaessa):

- perustelut kantaja-aineen valinnalle, mikäli se on muu kuin vesi.

Koe-eläimet:

- käytetty eläinlaji ja -kanta
- eläinten mikrobiologinen status, mikäli se on tiedossa
- eläinten lukumäärä, ikä ja sukupuoli (tarvittaessa myös perusteet urosten käytölle naaraiden sijasta)
- lähde, ylläpito-olosuhteet, ravinto jne.

Koeolosuhteet:

- yksityiskohtaiset tiedot testiainevalmisteesta, mukaan luettuna annostellun aineen fysikaalinen muoto
- yksityiskohtaiset tiedot testiaineen annostelusta, mukaan luettuina annostelutilavuudet ja -ajankohta
- yksityiskohtaiset tiedot ravinnon ja veden laadusta (mukaan lukien eläinrehun tyyppi/lähde, veden lähde)
- alkuannoksen valintaperusteet.

## Tulokset:

- kunkin eläimen vastetulosten ja annostason taulukot (toksisuusoireet, mukaan lukien kuolleisuus, vaikutusten luonne, vaikeusaste ja kesto)
- ruumiinpainon ja siinä tapahtuneiden muutosten taulukot
- kunkin eläimen paino annostelupäivänä, sen jälkeen viikon välein sekä kuolin- tai lopettamishetkellä
- kuolinpäivä ja -ajankohta, mikäli eläin kuolee ennen suunniteltua lopettamista
- kunkin eläimen toksisuusoireiden alkamisajankohta ja niiden mahdollinen palautuminen
- kunkin eläimen ruumiinavauslöydökset ja histopatologiset löydökset, mikäli saatavilla.

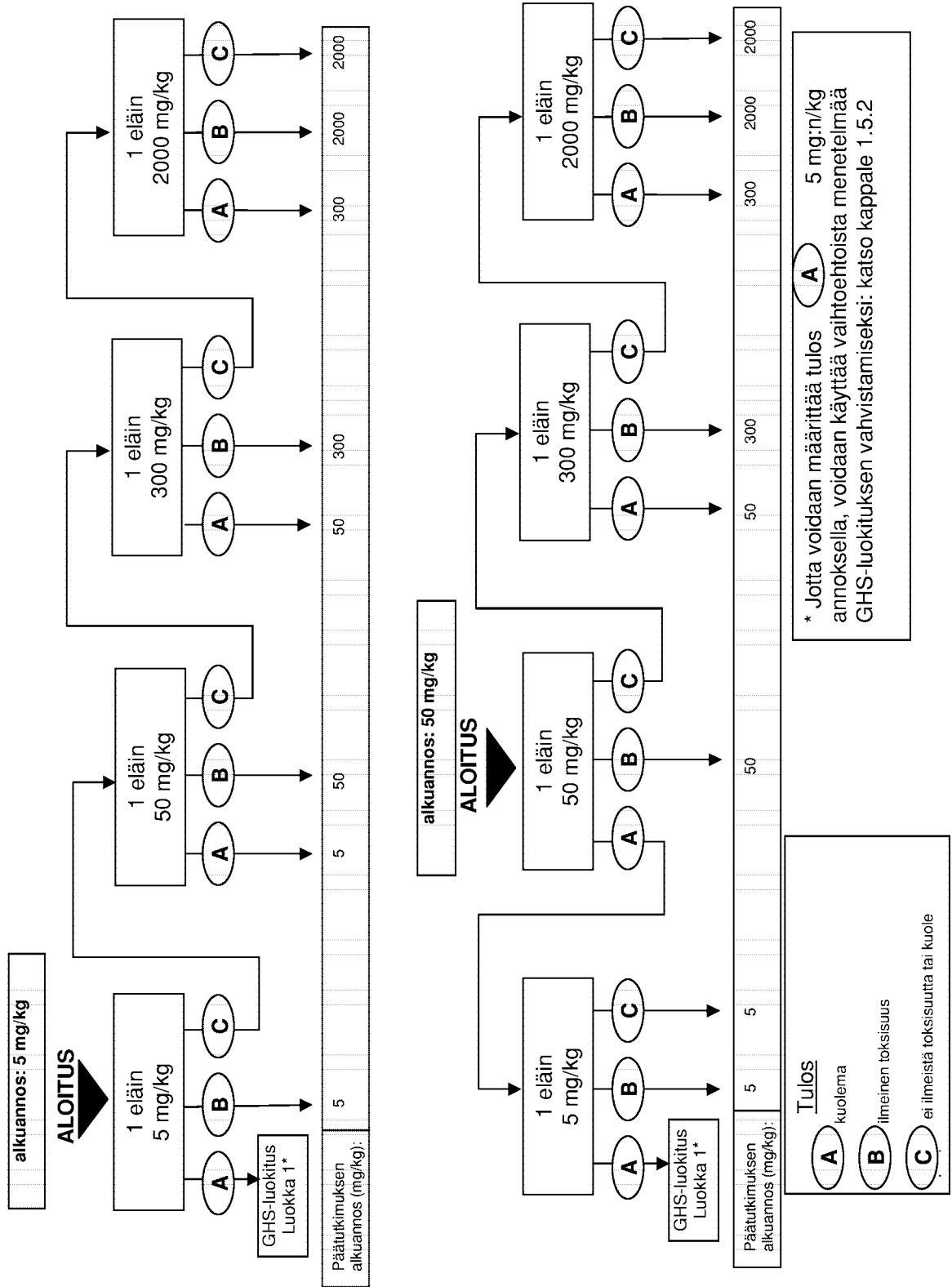
Tulosten tarkastelu ja tulkinta.

Johtopäätökset

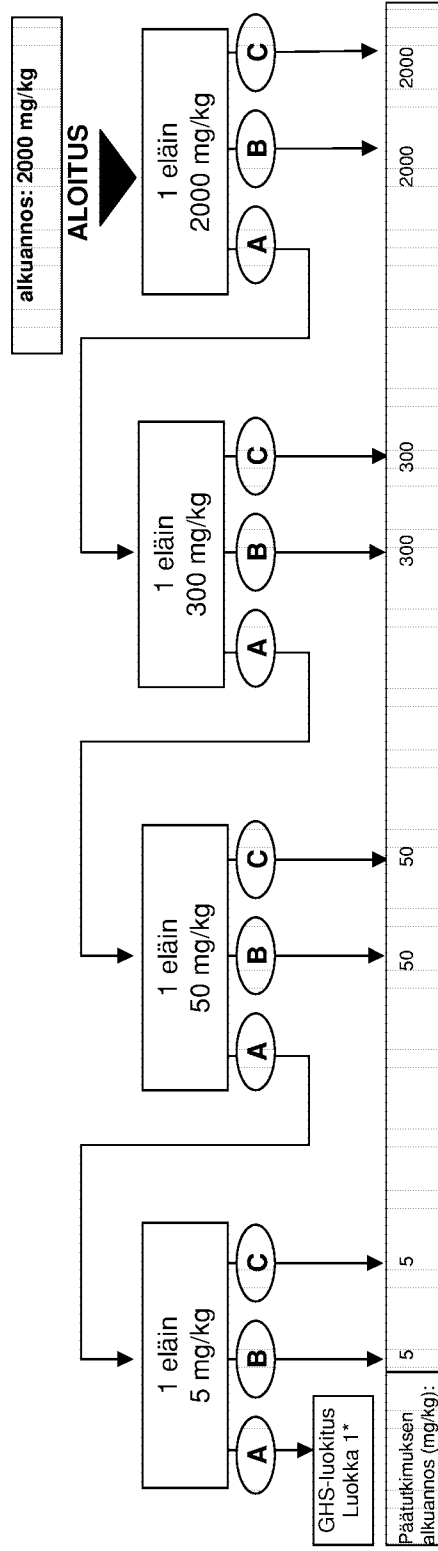
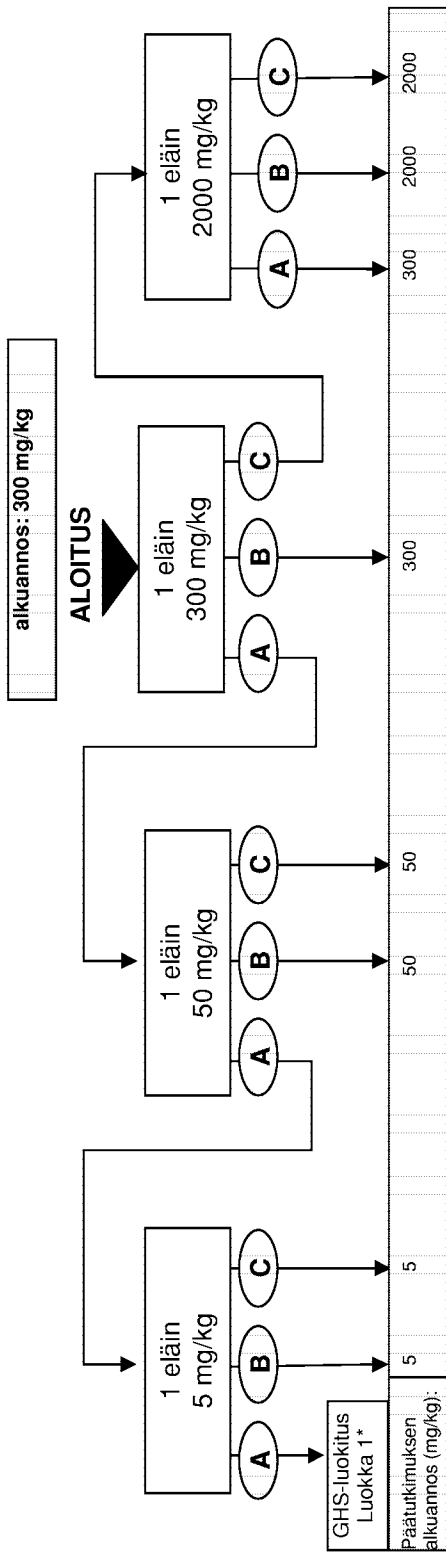
#### 4 VIITTEET

- (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<sub>50</sub> 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 Assessment N. 19.
- (9) OECD (1998). Harmonised Integrated Hazard Classification for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals in November 1998, Part 2, 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<sub>50</sub>, 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<sup>rd</sup> Edition. A.W. Hayes , Editor. Raven Press, Ltd. New York, USA.

LIITE 1: ESIKOKEEN TOIMENPIDEKAAVIO



LIITE 1: ESIKOKEEN TOIMENPIDEKAAVIO



**Tulos**

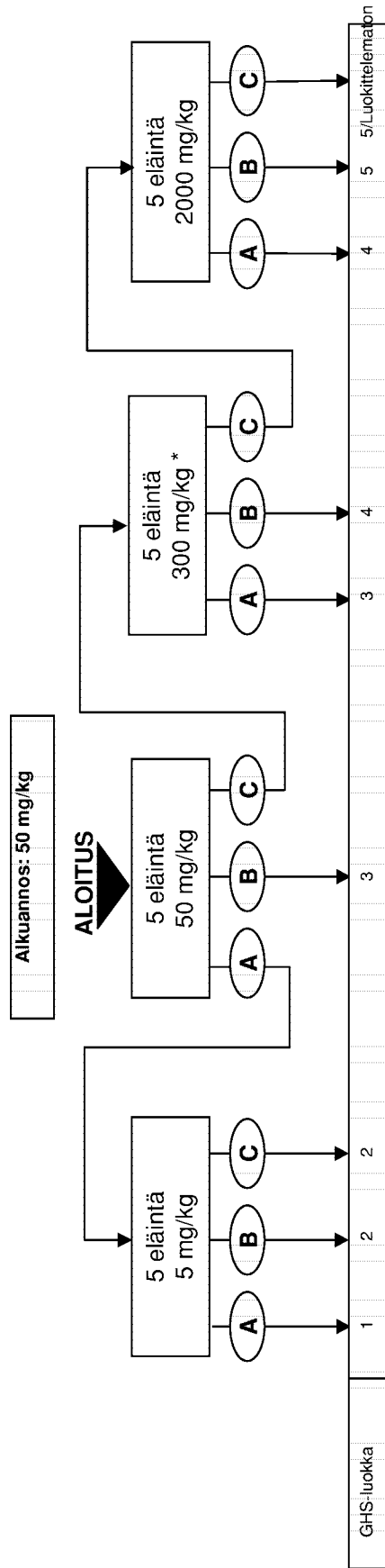
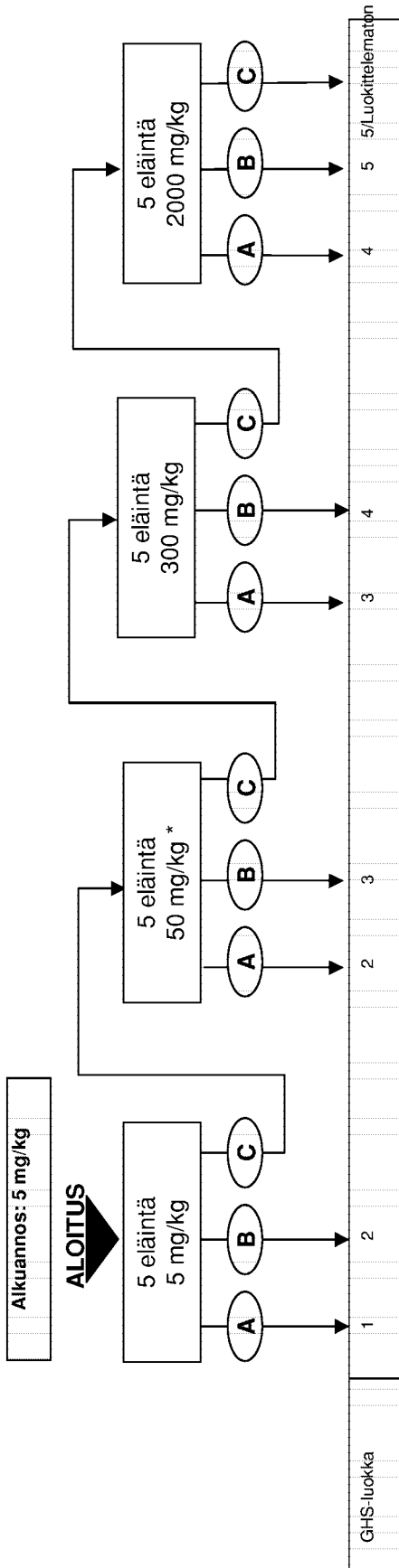
**A** kuolema

**B** ilmeinen toksisuus

**C** ei ilmeistä toksisuutta tai kuolemaa

\* Jotta voidaan **A** tttää tulos annoksella, voidaan käyttää vaihtoehtoista menetelmää GHS-luokituksen vahvistamiseksi: katso kappale 1.5.2

LIITE 2: PÄÄTUTKIMUKSEN TOIMENPIDEKAAVIO



**Tulos**

**A** ≥ 2 kuolemaa

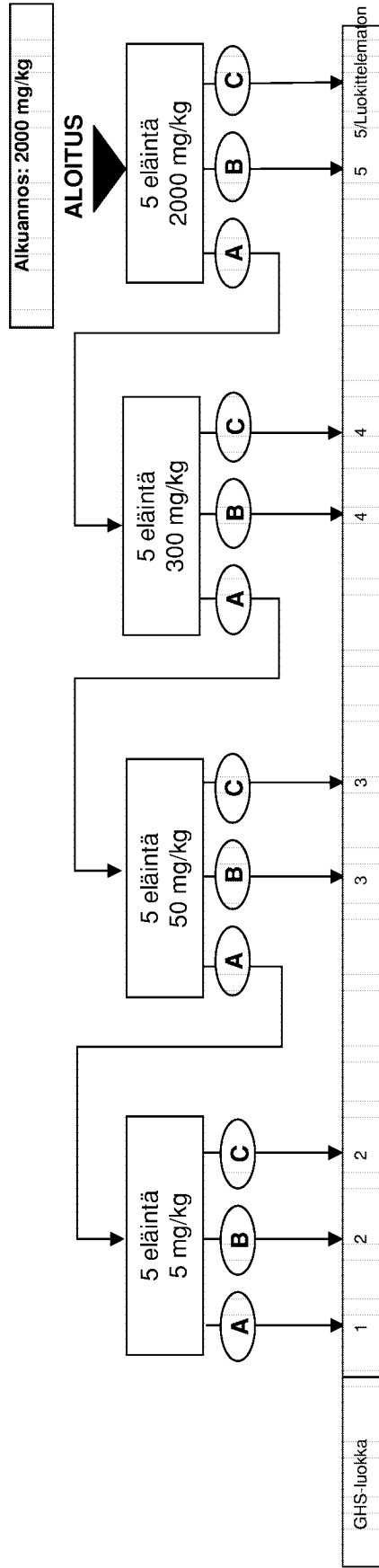
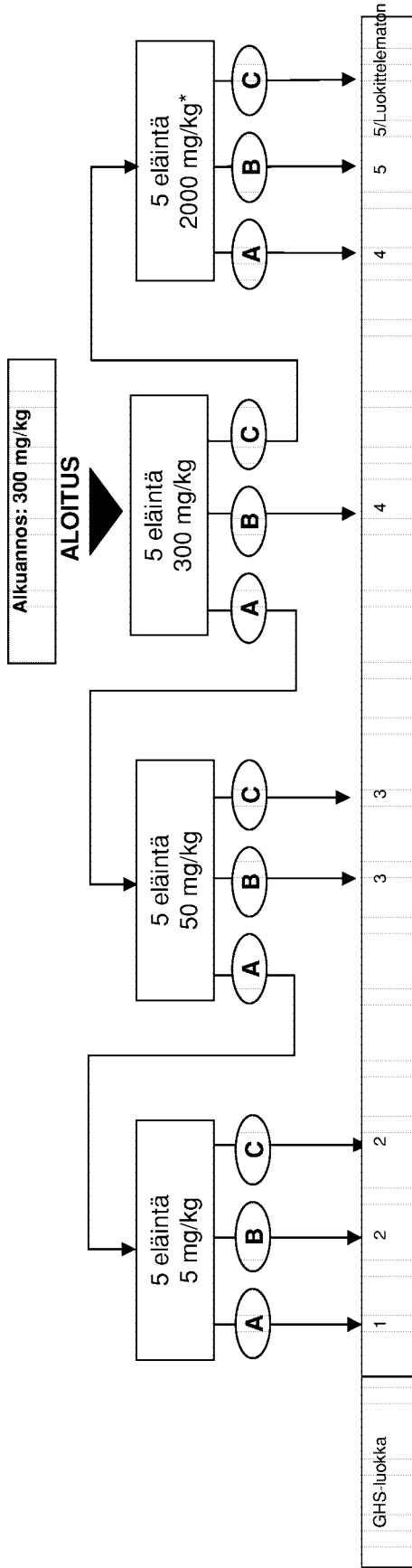
**B** ≥ 1 ilmeinen toksisuus ja / tai 1 kuolema

**C** Ei ilmeistä toksisuutta eikä kuolemaa

**Ryhmäkoko**  
Päätutkimusryhmän viiden eläimen joukkoon sisällytetään esikokeessa samalla annostasolla mahdollisesti testatut eläimet.

\*Eläinten hyvinvointia koskevat näkökohdat ratkaisevat Jos tämä annostaso aiheutti kuoleman esikokeessa, enempää eläimiä ei testata. Suoraan tulokseen **A**

**LIITE 2: PÄÄTUTKIMUKSEN TOIMENPIDEKAAVIO**



**Ryhmäkoko**  
Päätutkimusryhmän viiden eläimen joukkoon sisällytetään esikokeessa samalla annostasolla mahdollisesti testatut eläimet.

\*Eläinten hyvinvointia koskevat näkökohdat ratkaisevat  
Jos tämä annostaso aiheutti kuoleman esikokeessa, enempää eläimiä ei testata.  
Suoraan tulokseen **A**

**Tulos**

**A** ≥ 2 kuolemaa

**B** ≥ 1 ilmeinen toksisuus ja / tai 1 kuolema

**C** Ei ilmeistä toksisuutta eikä kuolemaa

## LIITE 3

**PERUSTEET SELLAISTEN TESTIAINEIDEN LUOKITTELULLE, JOIDEN ODOTETTAVISSA OLEVA LD<sub>50</sub>-ARVO YLITTÄÄ 2000 MG/KG JA JOITA EI TARVITSE TESTATA**

Vaarallisuusluokkaa 5 koskevien kriteereiden avulla on tarkoitus tunnistaa sellaiset testiaineet, joiden akuutti toksisuusvaara on suhteellisen alhainen, mutta jotka tietyissä olosuhteissa voivat olla vaaraksi heikommille populaatioille. Näiden aineiden LD<sub>50</sub>-arvon odotetaan vaihtelevan välillä 2000–5000 mg/kg ihon tai suun kautta annosteltuna tai vastaavina annoksina muuta kautta annettuna. Testiaineet voidaan luokitella vaarallisuusluokkaan, jonka rajat ovat 2000 mg/kg <LD<sub>50</sub> < 5000 mg/kg (luokka 5 GHS-järjestelmässä) seuraavissa tapauksissa:

- a) mikäli aine määritellään missä tahansa liitteessä 2 esitetystä koejärjestelyistä tähän luokkaan kuuluvaksi kuolleisuuden esiintymisen perusteella
- b) mikäli on jo käytettävissä luotettavia todisteita, joiden mukaan LD<sub>50</sub> on luokkaan 5 kuuluvien arvojen vaihteluvälän rajoissa tai mikäli muut eläinkokeet tai toksiset vaikutukset ihmisillä osoittavat, että asialla on välitöntä merkitystä ihmisten terveydelle
- c) tietoja ekstrapoloimalla, arvioimalla tai mittaamalla, jos määrittelemisen korkeampaan vaarallisuusluokkaan ei ole aiheellista ja kun
  - käytettävissä on luotettavaa tietoa, joka osoittaa huomattavia toksisuusvaikutuksia ihmisillä tai
  - kun havaitaan kuolleisuutta testattaessa suun kautta enintään luokkaa 4 vastaavia arvoja tai kun
  - asiantuntija-arvio vahvistaa huomattavia kliinisiä toksisuusoireita testattaessa enintään luokkaa 4 vastaavia arvoja, lukuun ottamatta ripulia, piloerektiota tai puhtauden laiminlyöntiä tai kun
  - asiantuntija-arvio vahvistaa muista eläinkokeista saadut luotettavat tiedot, joiden mukaan huomattavat akuutit vaikutukset ovat mahdollisia.

**TESTAAMINEN 2000 MG/KG YLITTÄVILLÄ ANNOKSILLA**

Korkeinta 5000 mg:n/kg vakioannostaso voidaan käyttää poikkeuksellisesti ja vain silloin, kun se on perusteltua erityisten sääntelyyn liittyvien vaatimusten vuoksi. Koska eläinten hyvinvointia on suojeltava, kokeiden tekeminen 5000 mg:n/kg annoksella ei ole suositeltavaa, ja sitä tulee käyttää vain kun on erittäin todennäköistä, että tällaisen kokeen tuloksilla on välitöntä merkitystä eläinten tai ihmisten terveyden tai ympäristön suojelemiselle (9).

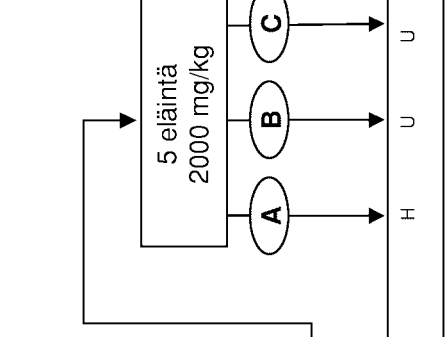
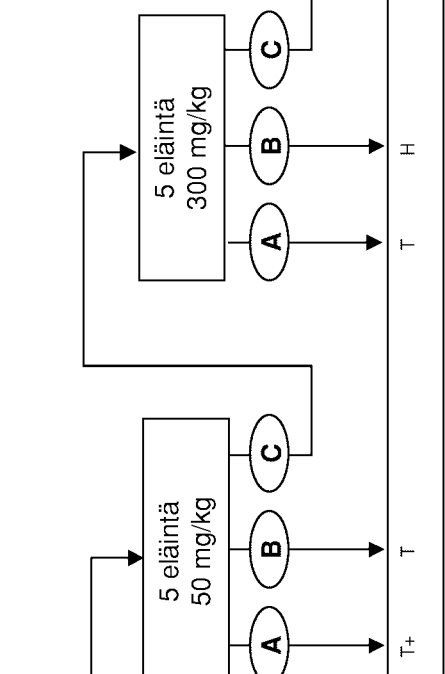
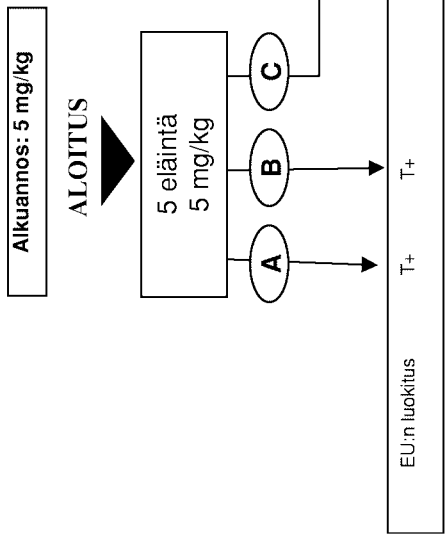
**Esikoe**

Liitteessä 1 esitettyä vaiheittaista menettelyä koskevia päätöksentekosääntöjä laajennetaan siten, että niihin sisältyy 5000 mg:n/kg annostaso. Käytettäessä esikokeen alkuannoksena 5000 mg:aa/kg tulos A (kuolema) edellyttää kokeen tekemistä toisella eläimellä 2000 mg:n/kg annoksella. Jos saadaan tulos B tai C (ilmeinen toksisuus tai ei toksisuutta), voidaan päätutkimuksen alkuannokseksi valita 5000 mg/kg. Vastaavasti käytettäessä muuta alkuannosta kuin 5000 mg:aa/kg koetta jatketaan 5000 mg:aan/kg asti siinä tapauksessa, että kokeen tulos on B tai C 2000 mg:n/kg annoksella. Mikäli 5000 mg:n/kg annoksella saadaan myöhemmin tulokseksi A, on päätutkimuksen alkuannos 2000 mg/kg. Mikäli tulokseksi saadaan B ja C, on päätutkimuksen alkuannos 5000 mg/kg.

**Päätutkimus**

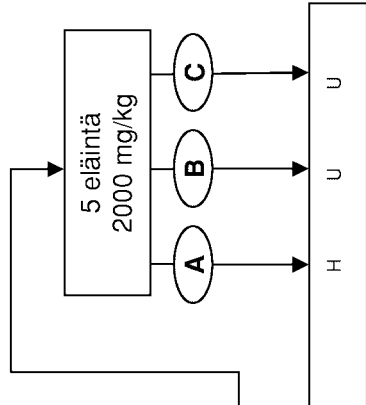
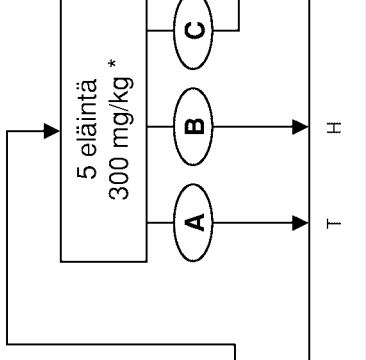
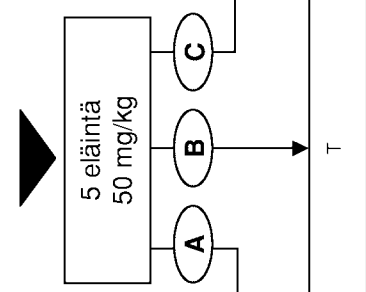
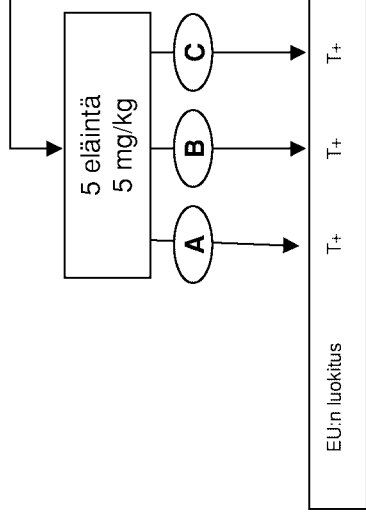
Liitteessä 2 esitettyä vaiheittaista menettelyä koskevia päätöksentekosääntöjä laajennetaan siten, että niihin sisältyy 5000 mg:n/kg annostaso. Käytettäessä päätutkimuksen alkuannoksena 5000 mg:aa/kg tulos A ( $\geq 2$  kuolemaa) edellyttää kokeen tekemistä toisella ryhmällä 2000 mg:n/kg annoksella. Mikäli tulos on B (ilmeinen toksisuus ja/tai  $\leq 1$  kuolemaa) tai C (ei toksisuutta), ainetta ei GHS-järjestelmän mukaan luokitella. Vastaavasti käytettäessä muuta alkuannosta kuin 5000 mg:aa/kg koetta jatketaan 5000 mg:aan/kg asti siinä tapauksessa että kokeen tulos on C 2000 mg:n/kg annoksella. Mikäli myöhemmin saadaan 5000 mg:n/kg annoksella tulos A, aine luokitellaan kuuluvaksi GHS-järjestelmän luokkaan 5. Mikäli tulos on B tai C, ainetta ei luokitella.

**LIITE 4 :**  
**KOEMENETELMÄ B.1 a – EU:n järjestelmän mukaiset luokitteluohteet, joita käytetään siirtymäkaudella ennen kemikaalien kansainvälisesti yhdenmukaistetun järjestelmän (GHS) (viitteessä (8)) täysimääräistä täytäntöönpanoa**



**Alkuannos: 50 mg/kg**

**ALOITUS**



**Tulos**

**A** ≥ 2 kuolemaa

**B** ≥ 1 ilmeinen toksisuus ja/tai 1 kuolema

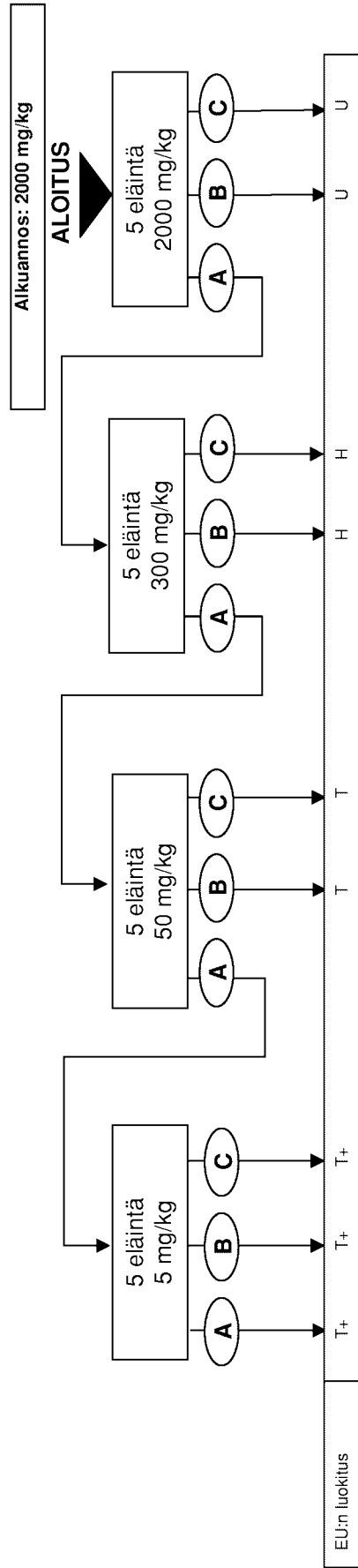
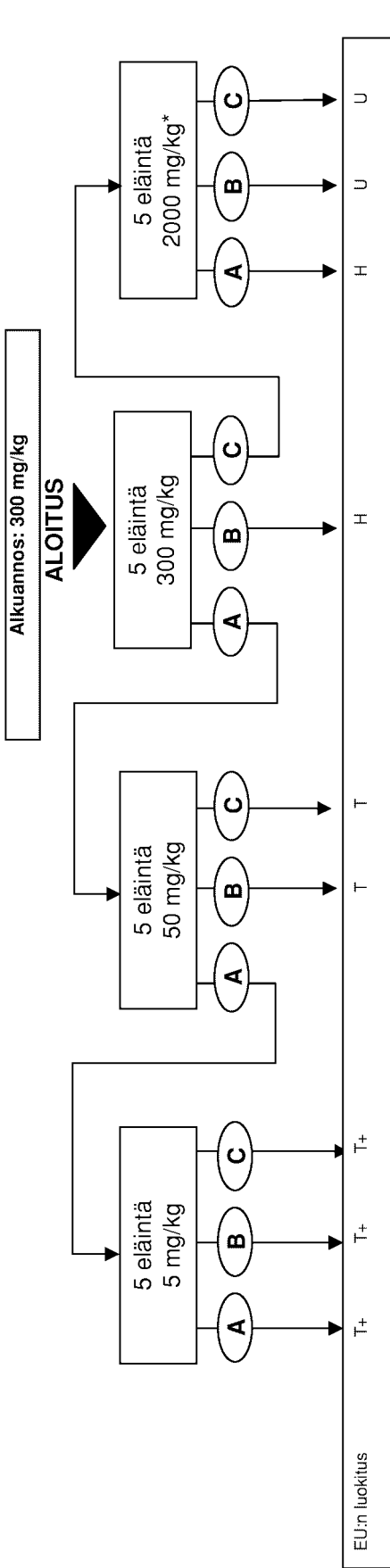
**C** Ei ilmeistä toksisuutta eikä kuolemia

T+ = critiäin toksinen  
 T = toksinen  
 H = haitallinen  
 U = luokittelematon

\* Eläinten hyvinvointi: Mikäli tämä annostaso aiheutti kuoleman esikokeessa, ei enempää eläimiä testata. Suoraan tulokseen **A**

Ryhmäkoke Kunkin päättyneeseen ryhmään viiden eläimen joukkoon sisällytetään esikokeessa samalla annostasolla mahdollisesti testatut eläimet.

**LIITE 4:**  
**KOEMENETELMÄ B. 1 a – EU:n järjestelmän mukaiset luokitteluohteet, joita käytetään siirtymäkaudella ennen kansainvälisesti yhdenmukaistettua järjestelmän (GHS) (viitteessä (8)) täysimääräistä täytäntöönpanoa**



**Tulos**

**A** ≥ 2 kuolemaa

**B** ≥ 1 ilmeinen toksisuus ja / tai 1 kuolema

**C** Ei ilmeistä toksisuutta tai kuolemaa

**Ryhmäkoko**

Kunkin päättökimuryhmän viiden eläimen joukkoon sisällytetään esikokeessa samalla annostasolla mahdollisesti testatut eläimet.

T+ = erittäin toksinen  
 T = toksinen  
 H = Haitallinen  
 U = luokittelematon

\*Eläinten hyvinvointia koskevat näkökohdat ratkaisevat Jos tämä annostaso aiheutti kuoleman esikokeessa, ei enempää eläimiä testata. Suoraan tulokseen **A**

## **LIITE 2C**

**B.1 b AKUUTTI ORAALINEN TOKSISUUS – AKUUTIN TOKSISUUSLUOKAN MENETELMÄ****1. MENETELMÄ**

Tämä menetelmä vastaa OECD:n testiohjetta nro TG 423 (2001)

**1.1 JOHDANTO**

Tässä esitetään vaiheittainen akuutin toksisuusluokan menetelmä (1), jonka kussakin vaiheessa käytetään kolmea samaa sukupuolta olevaa eläintä. Testiaineen akuutin toksisuuden arvioimiseksi saatetaan tarvita keskimäärin kahdesta neljään vaihetta riippuen eläinten kuolleisuudesta ja/tai siitä, ovatko ne kuolemaisillaan. Menetelmä on toistettava ja siinä käytetään erittäin vähän eläimiä. Sillä voidaan luokitella aineita vaarallisuuden mukaan samalla tavoin kuin muilla akuutin toksisuuden tutkimusmenetelmillä. Akuutin toksisuusluokan menetelmä perustuu biometrisiin arviointeihin (2)(3)(4)(5) vakioannoksilla, jotka eroavat toisistaan riittävästi aineen luokittelumiseksi vaarallisuuden mukaan ja riskin arvioimiseksi. Menetelmä hyväksyttiin vuonna 1996, ja se on validoitu laajasti sekä kansallisella tasolla (6) että kansainvälisellä tasolla (7) *in vivo* vertaamalla tuloksia kirjallisuudesta saatuihin LD<sub>50</sub>-arvoja koskeviin tietoihin.

Ohjeita tiettyyn tarkoitukseen sopivimman tutkimusmenetelmän valinnasta on annettu akuutin oraalisesta toksisuuden testausta käsittelevässä ohjeasiakirjassa (Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing (8)). Ohjeasiakirjassa on myös lisätietoa tutkimusmenetelmä B.1 b:n käyttämisestä ja tulkinnasta.

Testiaineita ei tarvitse annostella annoksina, joiden tiedetään aiheuttavan voimakasta kipua ja kärsimystä syövyttävien tai vaikea-asteisten ärsytysvaikutusten vuoksi. Kuolemaisillaan olevat, selvästi kärsivät tai voimakkaasta ja jatkuvasta kivusta merkkejä osoittavat eläimet on lopetettava humanilla tavalla, ja koetulosten tulkinnassa ne on otettava huomioon samalla tavalla kuin kokeessa kuolleet eläimet. Erillisessä ohjeasiakirjassa (9) on esitetty kriteerit, joiden perusteella tehdään päätös kuolemaisillaan olevan tai voimakkaasti kärsivän eläimen lopettamisesta. Lisäksi siinä on annettu ohjeita ennustettavan tai uhkaavan kuoleman tunnistamiseksi.

Menetelmässä käytetään etukäteen määriteltyjä annoksia, ja tulosten avulla voidaan määrittää aineen vaarallisuusaste ja luokitella se akuuttia toksisuutta aiheuttavien kemikaalien kansainvälisesti yhdenmukaistetun luokitusjärjestelmän mukaisesti (Globally Harmonised System for the classification of chemicals which cause acute toxicity (10)).

Periaatteessa menetelmän avulla ei ole tarkoitus laskea tarkkaa LD<sub>50</sub>-annosta, vaan sillä voidaan määrittää tietty altistusalue, jolla kuolleisuutta on odotettavissa, sillä kokeen tärkein päätepiste on edelleenkin se, että osa eläimistä kuolee. Menetelmän avulla voidaan määrittää LD<sub>50</sub>-arvo vain silloin, kun vähintään kaksi annosta aiheuttaa kuolleisuuden, joka on korkeampi kuin 0 % ja alhaisempi kuin 100 %. Menetelmässä käytetään testiaineesta riippumatta tiettyjä etukäteen määriteltyjä annoksia, ja luokitus tehdään selkeästi eri tilassa olevien eläinten määrästä tehtyjen havaintojen perusteella. Tämän ansiosta eri laboratorioiden raportit ovat yhdenmukaisempia ja toistettavampia.

Koelaboration on otettava huomioon kaikki testiaineesta saatavilla olevat tiedot ennen tutkimuksen suorittamista. Näitä tietoja ovat mm. aineen tunnistetiedot ja kemiallinen rakenne, sen fysikaalis-kemialliset ominaisuudet, kaikkien muiden aineella *in vitro* tai *in vivo* suoritettujen toksisuuskokeiden tulokset, rakenteellisesti samanlaisten aineiden toksikologiset tiedot ja aineen odotettu käyttö. Nämä tiedot ovat välttämättömiä kaikkien asianosaisten vakuuttamiseksi siitä, että kokeella on merkitystä ihmisten terveyden suojelun kannalta ja että sen avulla voidaan valita sopiva alkuannos.

## 1.2 MÄÄRITELMÄT

**Akuutti oraalinen toksisuus:** haittavaikutukset, joita esiintyy, kun ainetta on annosteltu suun kautta kerta-annoksena tai useina annoksina 24 tunnin aikana.

**Viivästynyt kuolema:** eläin ei kuole tai vaikuta kuolevalta 48 tunnin kuluessa, mutta kuolee myöhemmin 14 päivän havainnointijakson aikana.

**Annos:** annostellun testiaineen määrä. Annos ilmaistaan testiaineen painona koe-eläimen painoyksikköä kohti (esimerkiksi mg/kg).

**GHS:** Globally Harmonised Classification System for Chemical Substances and Mixtures (Kemiallisten aineiden ja seosten kansainvälisesti yhdenmukaistettu luokitusjärjestelmä). Yhteinen toimi, johon osallistuvat OECD (ihmisten terveys ja ympäristö), YK:n vaarallisten aineiden kuljettamista käsittelevä asiantuntijakomitea (fysikaalis-kemialliset ominaisuudet) ja ILO (vaarojen ilmoittaminen) ja jota koordinoi kemikaalien järkevää hallinnointia koskeva organisaatioiden välinen ohjelma (IOMC).

**Uhkaava kuolema:** eläin on vakavasti sairas tai kuolee todennäköisesti ennen seuraavaa suunniteltua havainnointijakohtaa. Jyrsijöillä tällaista tilaa osoittavia merkkejä voivat olla kouristukset, kyljellään makaaminen, velttous ja vapina. (Katso tarkempia tietoja eläinkokeen humaaneja lopettamiskriteereitä koskevasta ohjeasiakirjasta (9)).

**LD<sub>50</sub> (median lethal oral dose, keskimääräinen tappava annos suun kautta annettuna):** on tilastollinen kerta-annos, jonka voidaan suun kautta annosteltuna odottaa tappavan puolet annoksen saaneista eläimistä. LD<sub>50</sub>-arvo ilmoitetaan testiaineen painona koe-eläimen painoyksikköä kohti (mg/kg).

**Raja-annos:** kokeen yläraja-annos (2000 tai 5000 mg/kg).

**Kuolemaisillaan oleva:** eläin, joka on kuolemaisillaan tai ei kykene säilymään hengissä hoidosta huolimatta. (Katso tarkempia lisätietoja eläinkokeen humaaneja lopettamiskriteereitä koskevasta ohjeasiakirjasta (9)).

**Ennustettava kuolema:** sellaisten kliinisten oireiden esiintyminen, jotka viittaavat siihen, että eläin tulee kuolemaan tietyn ajan kuluttua ennen kokeen suunniteltua päättymistä. Näitä oireita ovat esimerkiksi kykenemättömyys käyttää vettä tai ruokaa. (Katso tarkempia lisätietoja eläinkokeen humaaneja lopettamiskriteereitä koskevasta ohjeasiakirjasta (9)).

## 1.3 TESTIN PERIAATE

Testin periaate on, että vaiheittaisella menetelmällä ja käyttämällä mahdollisimman vähän eläimiä kussakin vaiheessa saadaan riittävästi tietoa testiaineen akuutista toksisuudesta sen luokittelemiseksi. Ainetta annetaan koe-eläinryhmälle suun kautta yhdellä määritellyistä annostasoista. Ainetta testataan vaiheittain siten, että kussakin vaiheessa käytetään kolmea samaa sukupuolta olevaa eläintä (yleensä naaraita). Kyseisestä yhdisteestä johtuva kuolleisuus kussakin testin vaiheessa määrää kokeen seuraavan vaiheen, eli

- lisäkokeita ei tarvita
- ainetta annetaan kolmelle muulle eläimelle samalla annostasolla
- ainetta annetaan kolmelle muulle eläimelle astetta korkeammalla tai astetta matalammalla annostasolla.

Testin suoritus on kuvattu yksityiskohtaisesti liitteessä 1. Menetelmän avulla testiaine voidaan luokitella johonkin niistä toksisuusluokista, jotka on määritelty kiinteiden LD<sub>50</sub>-raja-arvojen perusteella.

## 1.4 MENETELMÄN KUVAUS

### 1.4.1 Eläinlajin valinta

Suosittelavin jyrsijälaji on rotta, tosin muitakin jyrsijöitä voidaan käyttää. Yleensä käytetään naaraita (9). Syynä tähän on, että tavanomaisia LD<sub>50</sub>-kokeita koskevien kirjallisuustutkimusten perusteella sukupuolten herkkyydessä on vähäisiä eroja, mutta silloin kun eroja on havaittu, naaraat ovat yleensä hieman herkempiä (11). Mikäli rakenteellisesti samanlaisten kemikaalien toksikologisia ja toksikokineettisiä ominaisuuksia koskevat tiedot osoittavat urosten olevan herkempiä, on käytettävä uroksia. Kokeen tekeminen uroksilla edellyttää riittäviä perusteita.

Kokeeseen on käytettävä terveitä, nuoria ja täysikasvuisia yleisesti käytettyjä koe-eläinkantoja. Naaraat eivät saa olla synnyttäneitä eivätkä kantavia. Kunkin eläimen on annostuksensa alussa oltava 8–12 viikon ikäinen, ja sen paino saa poiketa korkeintaan  $\pm 20\%$  aikaisemmin annoksen saaneiden eläinten keskipainosta.

### 1.4.2 Koe-eläintilat ja eläinten ruokinta

Koe-eläinhuoneen lämpötilan tulee olla 22 °C ( $\pm 3$  °C). Vaikka riittävät vaatimukset suhteellisen kosteuden suhteen ovat vähintään 30 % eikä mielellään yli 70% muulloin kuin huoneen puhdistuksen aikana, pitäisi kuitenkin pyrkiä 50–60 %:n suhteelliseen kosteuteen. Huoneessa tulee käyttää keinovalaistusta 12 tunnin jaksoissa (12 tuntia valoa, 12 tuntia pimeää). Eläinten ruokinnassa voidaan käyttää normaalia laboratorioruokavaliota, eikä juomaveden määrää saa rajoittaa. Eläimet voidaan sijoittaa eri häkkeihin ryhmissä annoksen mukaan, mutta eläinten lukumäärä häkkiä kohti ei saa häiritä kunkin eläimen selkeää havainnointia.

### 1.4.3 Eläinten valmistelu

Eläimet valitaan satunnaisesti ja merkitään yksilötunnistusta varten. Eläimiä pidetään häkeissään vähintään viiden päivän ajan ennen annostelun aloittamista, jotta ne tottuvat laboratorio-oloihin.

### 1.4.4 Annosten valmistelu

Yleensä testiaineen testattavat annokset annostellaan vakiotilavuudessa niin, että annosteltavan valmisteen pitoisuus vaihtelee. Testattaessa nestemäistä lopputuotetta tai seosta testiaineen käyttö laimentamattomana eli vakioipitoisena saattaa kuitenkin olla oleellista kyseisen aineen myöhemmän riskinarvioinnin kannalta, ja jotkut sääntelyviranomaiset edellyttävätkin tällaista menettelyä. Kummassakaan tapauksessa annoksen enimmäistilavuutta ei saa ylittää. Kerralla annettava nesteen enimmäismäärä riippuu koe-eläimen koosta. Jyrsijöillä määrä ei yleensä saa olla yli 1 ml sataa painogrammaa kohti. Vesiliuoksia voidaan kuitenkin antaa 2 ml sataa painogrammaa kohti. Annostellun valmisteen koostumukseksi suositellaan vesipohjaista liuosta/suspensiota/emulsiota aina kun se on mahdollista. Muussa tapauksessa on mieluiten käytettävä öljypohjaista (esimerkiksi maissiöljy) liuosta/suspensiota/emulsiota tässä järjestyksessä ja sen jälkeen muihin kantaja-aineisiin pohjautuvia liuoksia. Jos kantaja-aine on muu kuin vesi, sen toksiset ominaisuudet on tunnettava. Annokset on valmistettava vähän ennen annostelua paitsi, jos valmisteen tiedetään säilyttävän stabiilitteinsä käytön ajan ja sen on osoitettu olevan hyväksyttävä.

## 1.5 TESTIN SUORITUS

### 1.5.1 Annostelu

Testiaine annetaan kerta-annoksena mahaletkun tai sopivan intubaatiokanyylin kautta. Mikäli kerta-annostelu ei poikkeuksellisesti ole mahdollinen, annos voidaan antaa pienempinä osina enintään 24 tunnin kuluessa.

Eläimiä ei saa ruokkia ennen annostelua (esimerkiksi rottaa on pidettävä ruoatta yli yön ja hiirtä 3–4 tuntia, mutta vettä tulee olla tarjolla). Paaston jälkeen eläimet punnitaan ja niille annetaan testiaine. Aineen annostelun jälkeen ruokintaa voidaan siirtää rotilla vielä 3-4 tuntia ja hiirillä 1-2 tuntia. Mikäli annos annetaan osina tietyn ajan kuluessa, eläimille saatetaan joutua antamaan ruokaa ja vettä jakson pituudesta riippuen.

#### 1.5.2 Eläinten määrä ja annostasot

Kussakin vaiheessa käytetään kolmea eläintä. Alkuannostasoksi valitaan yksi neljästä vakiotasosta, jotka ovat 5, 50, 300 ja 2000 mg/kg. Alkuannostason tulee olla sellainen, että se todennäköisesti tappaa muutaman annoksen saaneista eläimistä. Liitteessä 1 esitetyissä toimenpidekaavioissa kuvataan kunkin alkuannoksen yhteydessä noudatettava menetelmä. Lisäksi liitteessä 4 annetaan ohjeita EU:n järjestelmän mukaisesta luokituksesta ennen uuden GHS-järjestelmän käyttöönottoa.

Kun saatavissa olevat tiedot viittaavat siihen, ettei korkein alkuannostaso (2000 mg/kg) todennäköisesti aiheuta eläinten kuolemaa, on tehtävä raja-annostesti. Kun testiaineesta ei ole tietoja, alkuannokseksi suositellaan eläinten hyvinvointia koskevien periaatteiden vuoksi 300 mg/kg.

Testiryhmien testaamisen aikavälit määritellään toksisten oireiden alkamishetken, keston ja vaikeusasteen mukaan. Seuraavan annoksen antamista tulee siirtää, kunnes jo annosteltujen eläinten eloonjäämisestä on saatu varmuus.

Korkeinta 5000 mg:n/kg annostasoa voidaan käyttää poikkeuksellisesti ja vain silloin, kun se on perusteltua erityisten sääntelyyn liittyvien vaatimusten vuoksi (katso liite 2). Eläinten hyvinvointia koskevien periaatteiden vuoksi eläinkokeiden tekeminen GHS-luokan 5 annoksilla (2000–5000 mg/kg) ei ole suositeltavaa, ja niitä tulee käyttää vain, kun on erittäin todennäköistä, että tällaisen kokeen tuloksilla on välitöntä merkitystä ihmisten tai eläinten terveyden tai ympäristön suojelemiselle.

#### 1.5.3 Raja-annostesti

Raja-annostestiä käytetään pääasiassa silloin, kun tutkimuksen tekijällä on tietoa, jonka mukaan testiaine on todennäköisesti ei-toksinen, toisin sanoen se on toksista ainoastaan ylittäessään säädösten mukaiset raja-annokset. Tietoa testiaineen toksisuudesta saadaan samanlaisia testattuja yhdisteitä tai seoksia koskevista tiedoista, kun otetaan huomioon, mitä toksikologisesti merkittävät ainesosat ovat ja mikä on niiden prosenttiosuus. Päätutkimus on suoritettava, kun testiaineen toksisuudesta on vain vähän tai ei lainkaan tietoa tai kun se todennäköisesti on toksinen.

Raja-annostesti voidaan tehdä yhdellä annostasolla 2000 mg/kg käyttäen kuutta eläintä (kolme eläintä vaihetta kohden). Poikkeuksellisesti voidaan tehdä raja-annostesti yhdellä annostasolla 5000 mg/kg käyttäen kolmea eläintä (katso liite 2). Mikäli testiaineeseen liittyvää kuolleisuutta esiintyy, voidaan tarvita lisäkokeita seuraavaksi alemmalla annostasolla.

#### 1.6 HAVAINNOINTI

Eläimiä havainnoidaan yksittäin annostelun jälkeen vähintään yhden kerran ensimmäisten 30 minuutin aikana ja säännöllisin väliajoin ensimmäisten 24 tunnin aikana. Havainnoinnin on oltava erityisen tarkkaa ensimmäisten neljän tunnin aikana. Sen jälkeen havainnointi tapahtuu päivittäin 14 päivän ajan paitsi, jos eläin on poistettava tutkimuksesta ja lopetettava humanilla tavalla eläinten hyvinvointia koskevien periaatteiden vuoksi tai se löydetään kuolleena. Havainnoinnin kesto ei pitäisi kuitenkaan määritellä tiukasti. Se tulee määrittää toksisten reaktioiden, niiden alkamishetken ja toipumisen keston perusteella ja sitä tulisi voida pidentää tarvittaessa. Toksisuusoireiden ilmaantumisen- ja häviämisaikajankohdat ovat tärkeitä etenkin, jos toksisilla oireilla on taipumus viivästyä (12). Kaikki havainnot kirjataan järjestelmällisesti eläinkohtaisesti.

Lisähavainnointi on tarpeen jos eläinten toksisuusoireet jatkuvat. Havaintoihin tulee sisältyä ihon, karvapeitteen, silmien, limakalvojen, hengitys- ja verenkiertojärjestelmän, autonomisen hermoston ja keskushermoston, somatomotorisen toiminnan ja käyttäytymisen muutokset. Huomiota tulee kiinnittää vapinaan, kouristuksiin, syljeneritykseen, ripuliin, letargiaan, uneen ja koomaan. Eläinkokeiden humaaneja lopettamiskriteereitä koskevassa ohjeasiakirjassa (9) esitetyt periaatteet ja perustelut on otettava huomioon. Kuolevat eläimet ja eläimet, jotka osoittavat merkkejä voimakkaasta kivusta ja jatkuvasta kovasta kärsimyksestä, tulee lopettaa humanilla tavalla. Humaaneista syistä lopetettujen tai kuolleenä löydettyjen eläinten kuolinajankohta tulee kirjata mahdollisimman tarkasti.

#### 1.6.1 **Ruumiinpaino**

Kunkin eläimen paino on määritettävä hieman ennen testiaineen annostelua ja vähintään viikoittain sen jälkeen. Painon muutokset on laskettava ja kirjattava. Kokeen päätyttyä henkiin jääneet eläimet punnitaan ja lopetetaan humanilla tavalla.

#### 1.6.2 **Patologia**

Kaikki koe-eläimet (myös kokeen aikana kuolleet tai eläinten hyvinvointia koskevien periaatteiden vuoksi tutkimuksesta poistetut) on avattava. Kunkin eläimen kaikki makroskooppiset muutokset tulee kirjata. Vähintään 24 tuntia hengissä säilyneiden eläinten makroskooppisia muutoksia sisältävät elimet voidaan myös tutkia mikroskooppisesti siitä mahdollisesti saatavan hyödyllisen tiedon vuoksi.

### 2. **TULOKSET**

Tuloksina on esitettävä yksittäisiä eläimiä koskevat tulokset. Kaikki tulokset tulee esittää myös yhteenvetona taulukossa, josta käy ilmi kussakin koeryhmässä käytettyjen eläinten lukumäärä, toksisuusoireita osoittaneiden eläinten lukumäärä, kokeen aikana kuolleenä löydettyjen tai humaaneista syistä lopetettujen eläinten lukumäärä, yksittäisten eläinten kuolinajankohta, toksisten vaikutusten ja palautuvuuden kuvaus ja niiden ajallinen esiintyminen sekä ruumiinavauslöydökset.

### 3. **TULOSTEN ILMOITTAMINEN**

#### 3.1 **Loppuraportti**

Loppuraportin tulee tarpeen mukaan sisältää seuraavat tiedot:

Testiaine:

- fysikaalinen olomuoto, puhtaus ja tarvittaessa fysikaalis-kemialliset ominaisuudet (myös isomeroituminen)
- tunnistetiedot, CAS-numero mukaan lukien.

Kantaja-aine (tarvittaessa):

- perustelut kantaja-aineen valinnalle, mikäli se on muu kuin vesi.

Koe-eläimet:

- käytetty eläinlaji ja -kanta
- eläinten mikrobiologinen status, mikäli se on tiedossa
- eläinten lukumäärä, ikä ja sukupuoli (tarvittaessa myös perusteet urosten käytölle naaraiden sijasta)
- lähde, ylläpito-olosuhteet, ravinto jne.

## Koeolosuhteet:

- yksityiskohtaiset tiedot testiainevalmisteesta, mukaan luettuna annostellun aineen fysikaalinen muoto
- yksityiskohtaiset tiedot testiaineen annostelusta, mukaan luettuina annostelutilavuudet ja -ajankohta
- yksityiskohtaiset tiedot ravinnon ja veden laadusta (mukaan lukien eläinrehun tyyppi/lähde, veden lähde)
- alkuannoksen valintaperusteet.

## Tulokset:

- kunkin eläimen vastetulosten ja annostason taulukot (toksisuusoireet, mukaan lukien kuolleisuus, vaikutusten luonne, vaikeusaste ja kesto)
- ruumiinpainon ja siinä tapahtuneiden muutosten taulukot
- kunkin eläimen paino annostelupäivänä, sen jälkeen viikon välein sekä kuolin- tai lopettamishetkellä
- kuolinpäivä ja -ajankohta, mikäli eläin kuolee ennen suunniteltua lopettamista
- kunkin eläimen toksisuusoireiden alkamisajankohta ja niiden mahdollinen palautuminen
- kunkin eläimen ruumiinavauslöydökset ja histopatologiset löydökset, mikäli saatavilla.

Tulosten tarkastelu ja tulkinta.

Johtopäätökset.

4

## VIITTEET

- (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<sub>50</sub> 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<sub>50</sub> 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 28<sup>th</sup> 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<sub>50</sub>, 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.

**LIITE 1****TESTIN SUORITUS ERI ALKUANNOKSILLA***YLEISIÄ HUOMAUTUKSIA*

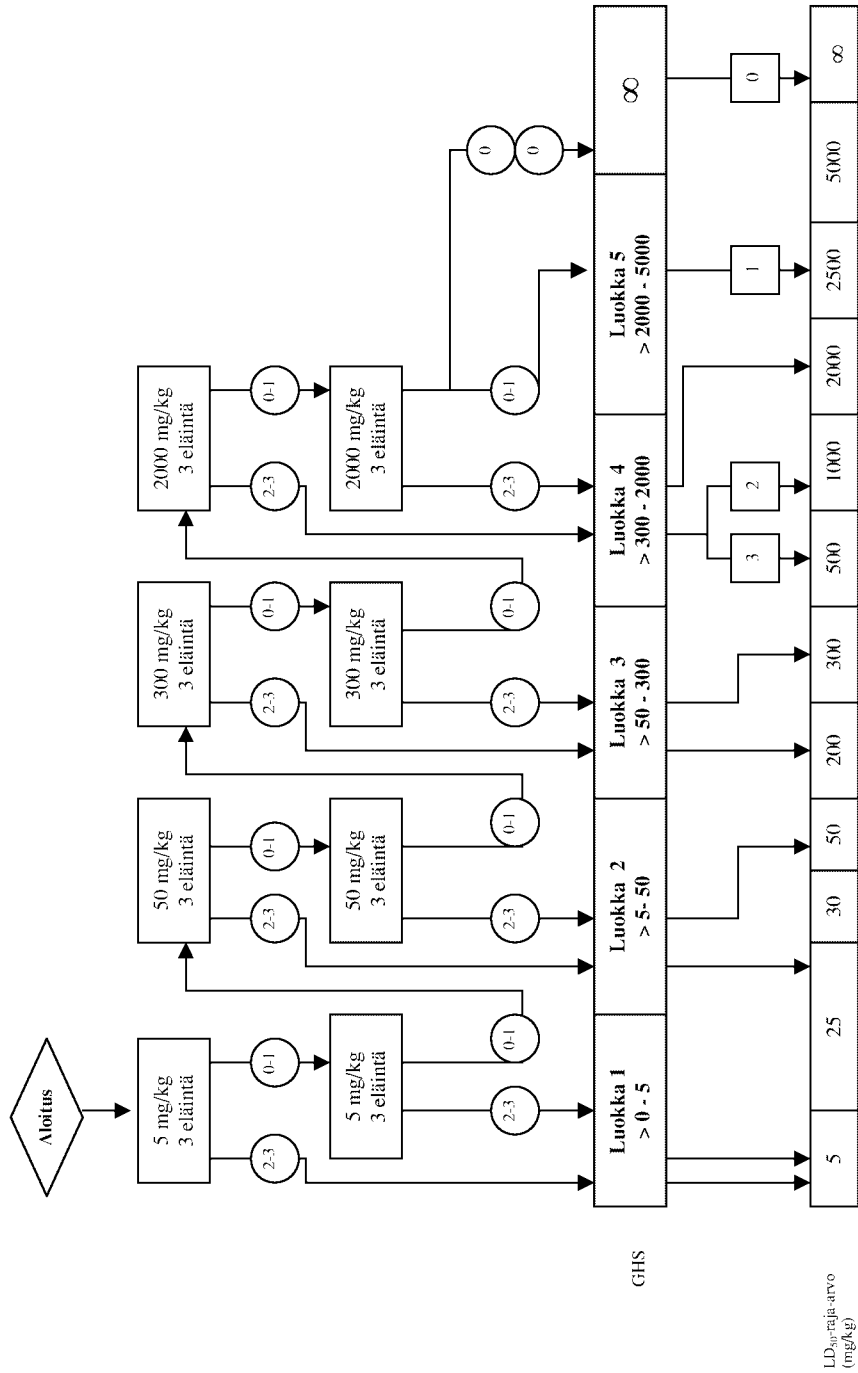
Tässä liitteessä selostetaan testin suoritus kullekin alkuannokselle.

- Liite 1 a: alkuannos 5 mg/kg
- Liite 1 b: alkuannos 50 mg/kg
- Liite 1 c: alkuannos 300 mg/kg
- Liite 1 d: alkuannos 2000 mg/kg

Humaanilla tavalla lopetettujen tai kuolleiden eläinten lukumäärästä riippuen koe etenee nuolten osoittamalla tavalla.



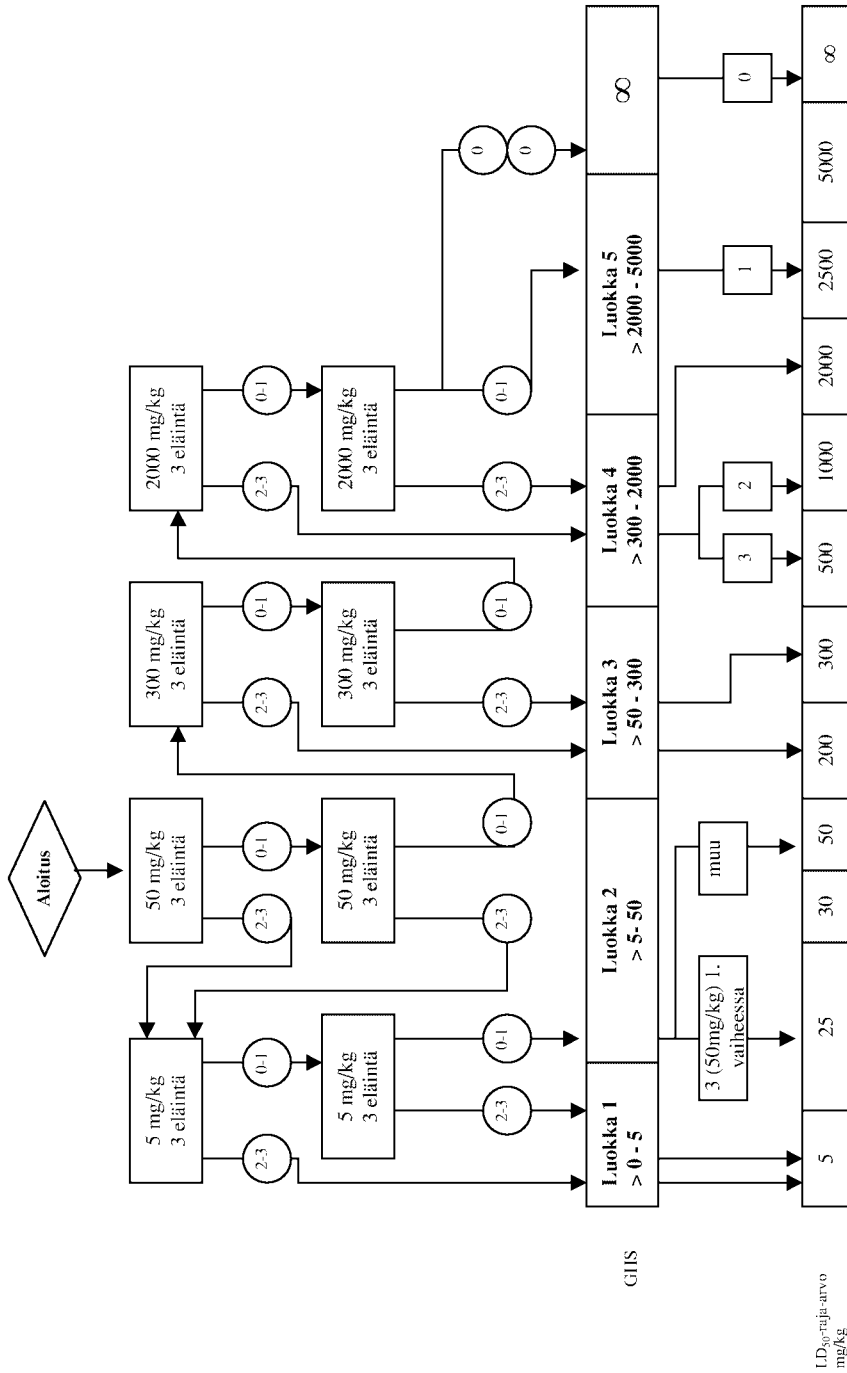
**LIITE 1 A**  
**TESTIN SUORITUS ALKUANNOKSELLA 5 MG/KG**



- kukin vaihe tehdään kolmella samaa sukupuolta olevalla eläimellä (tavallisesti naarailta)  
 - 0, 1, 2, 3: kuolemattomasti oloviin tai kuolleiden eläinten lukumäärä kussakin vaiheessa  
 - GHS: kansainvälisesti yhdenmukaistettu luokitusjärjestelmä (mg/kg)

- : luokittelematon  
 - : Testi annoksella 5000 mg/kg: katso liite 2

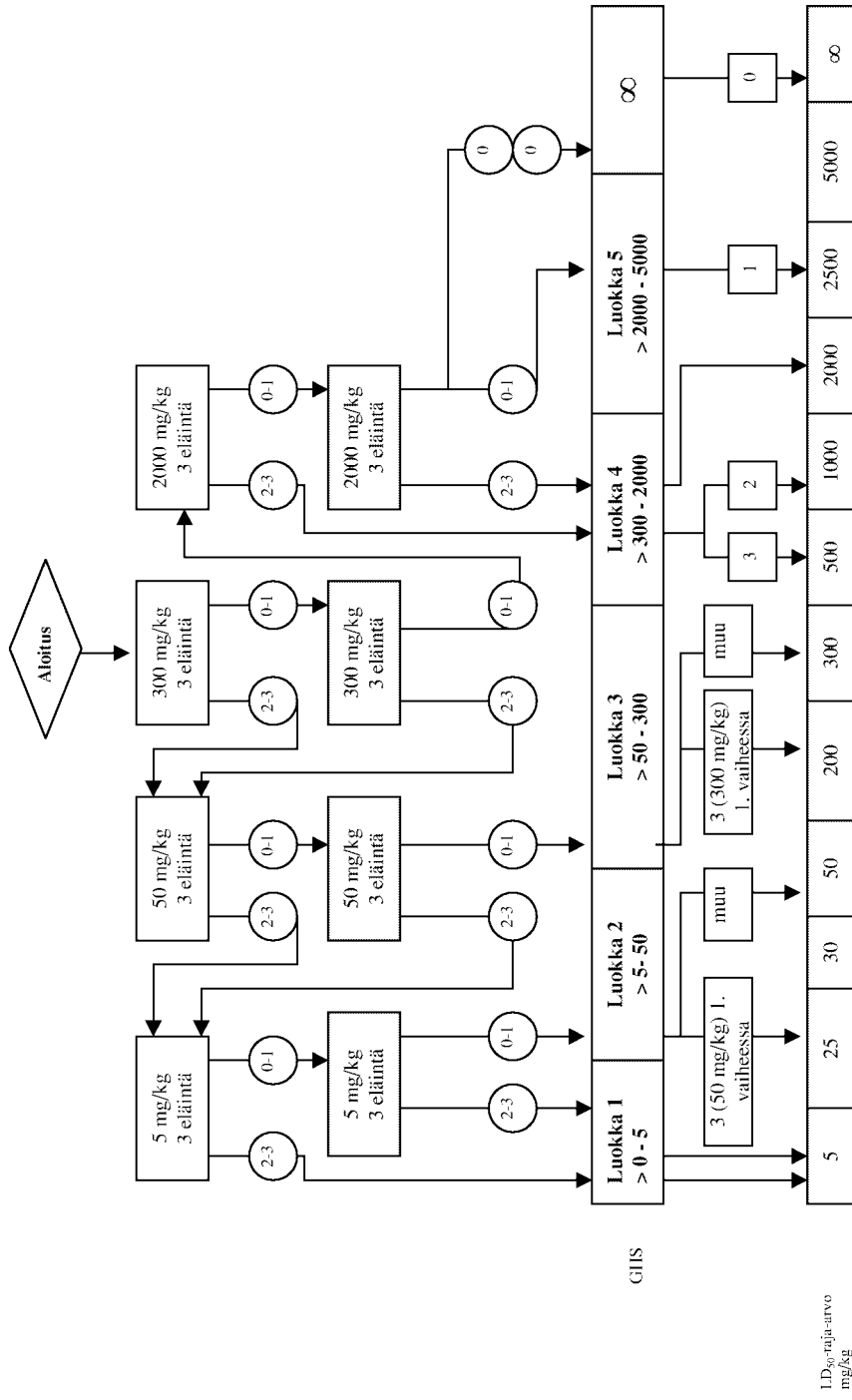
LIITE 1 B  
TESTIN SUORITUS ALKUANNOKSELLA 50 MG/KG



- kukin vaihe tehdään kolmea samaa sukupuolta olevalla eläimellä (tavallisesti naarailla)  
 - 0, 1, 2, 3: kuolemattomien eläinten lukumäärä kussakin vaiheessa  
 - GHS: kansainvälisesti yhdenmukaistettu luokitusjärjestelmä (mg/kg)

- x: luokittelematon  
 - Testi annoksella 5000 mg/kg: katso liite 2

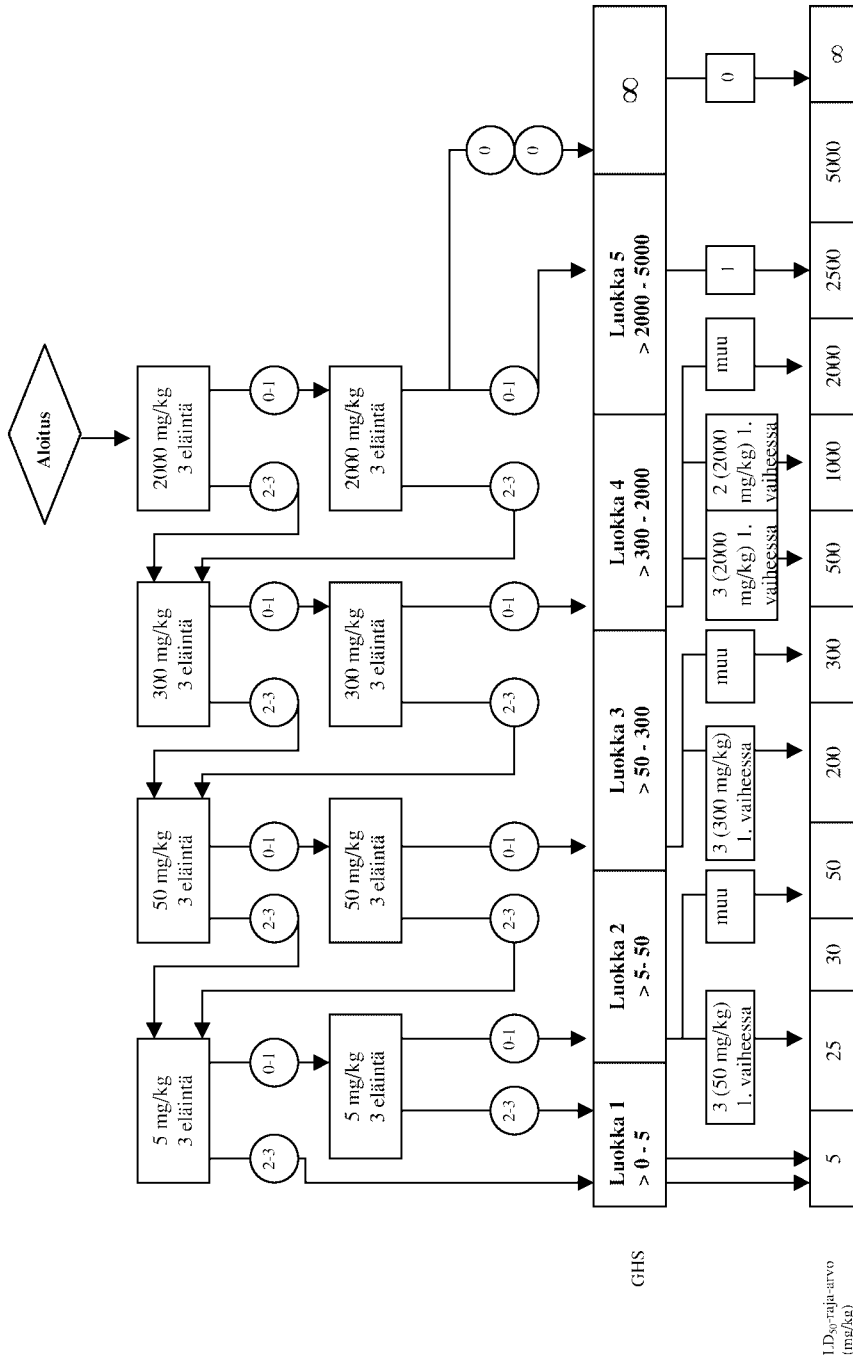
LIITE I C  
TESTIN SUORITUS ALKUANNOKSELLE 300 MG/KG



- kukin vaihe tehdään kolmea samaa sukupuolta olevalla eläimellä (tavallisesti naaraita)  
 - 0, 1, 2, 3: kuolemattomien eläinten tai kuolleiden eläinten lukumäärä kussakin vaiheessa  
 - GHS: kansainvälisesti yhdenmukaistettu luokitusjärjestelmä (mg/kg)

- ∞: luokittelematon  
 - - Testi annoksella 5000 mg/kg; katso liite 2

LIITE I D  
TESTIN SUORITUS ALKUANNOKSELLA 2000 MG/KG



GHS

- kukin vaihe tehdään kolmella samaa sukupuolta olevalla eläimellä (tavallisesti naarailla)
  - 0, 1, 2, 3: kuolemaisillaan olevien tai kuolleiden eläinten lukumäärä kussakin vaiheessa
  - GHS: kansainvälisesti yhdenmukaistettu luokitusjärjestelmä
- ∞: luokittelematon
  - - Testi annoksella 5000 mg/kg: katso liite 2

## LIITE 2

**PERUSTEET SELLAISTEN TESTIAINEIDEN LUOKITTELULLE, JOIDEN ODOTETTAVISSA OLEVA LD<sub>50</sub>-ARVO YLITTÄÄ 2000 MG/KG JA JOITA EI TARVITSE TESTATA**

Vaarallisuusluokkaa 5 koskevien kriteereiden avulla on tarkoitus tunnistaa sellaiset testiaineet, joiden akuutti toksisuusvaara on suhteellisen alhainen, mutta jotka tietyissä olosuhteissa voivat olla vaaraksi herkimmille populaatioille. Näiden aineiden LD<sub>50</sub>-arvon odotetaan vaihtelevan välillä 2000–5000 mg/kg ihon tai suun kautta annosteltuna tai vastaavina annoksina muuta kautta annettuna. Testiaineet on luokiteltava vaarallisuusluokkaan, jonka rajat ovat 2000 mg/kg < LD<sub>50</sub> < 5000 mg/kg (luokka 5 GHS-järjestelmässä) seuraavissa tapauksissa:

- a) mikäli aine määritellään missä tahansa liitteissä 1a–1d esitetyistä koejärjestelyistä tähän luokkaan kuuluvaksi kuolleisuuden esiintymisen perusteella
- b) mikäli on jo käytettävissä luotettavaa näyttöä, jonka mukaan LD<sub>50</sub> on luokkaan 5 kuuluvien arvojen vaihteluvälin rajoissa tai mikäli muut eläinkokeet tai toksiset vaikutukset ihmisillä osoittavat, että aineella on välitöntä merkitystä ihmisten terveydelle
- c) tietoja ekstrapoloimalla, arvioimalla tai mittaamalla, jos määrittely korkeampaan vaarallisuusluokkaan ei ole aiheellista ja kun
  - käytettävissä on luotettavaa tietoa, joka osoittaa huomattavia toksisuusvaikutuksia ihmisillä tai
  - kun havaitaan kuolleisuutta testattaessa suun kautta enintään luokkaa 4 vastaavia arvoja tai kun
  - asiantuntija-arvio vahvistaa huomattavia klinisiä toksisuusoireita testattaessa enintään luokkaa 4 vastaavia arvoja lukuun ottamatta ripulia, piloerektiota tai puhtauden laiminlyöntiä tai kun
  - asiantuntija-arvio vahvistaa muista eläinkokeista saadut luotettavat tiedot, joiden mukaan huomattavat akuutit vaikutukset ovat mahdollisia.

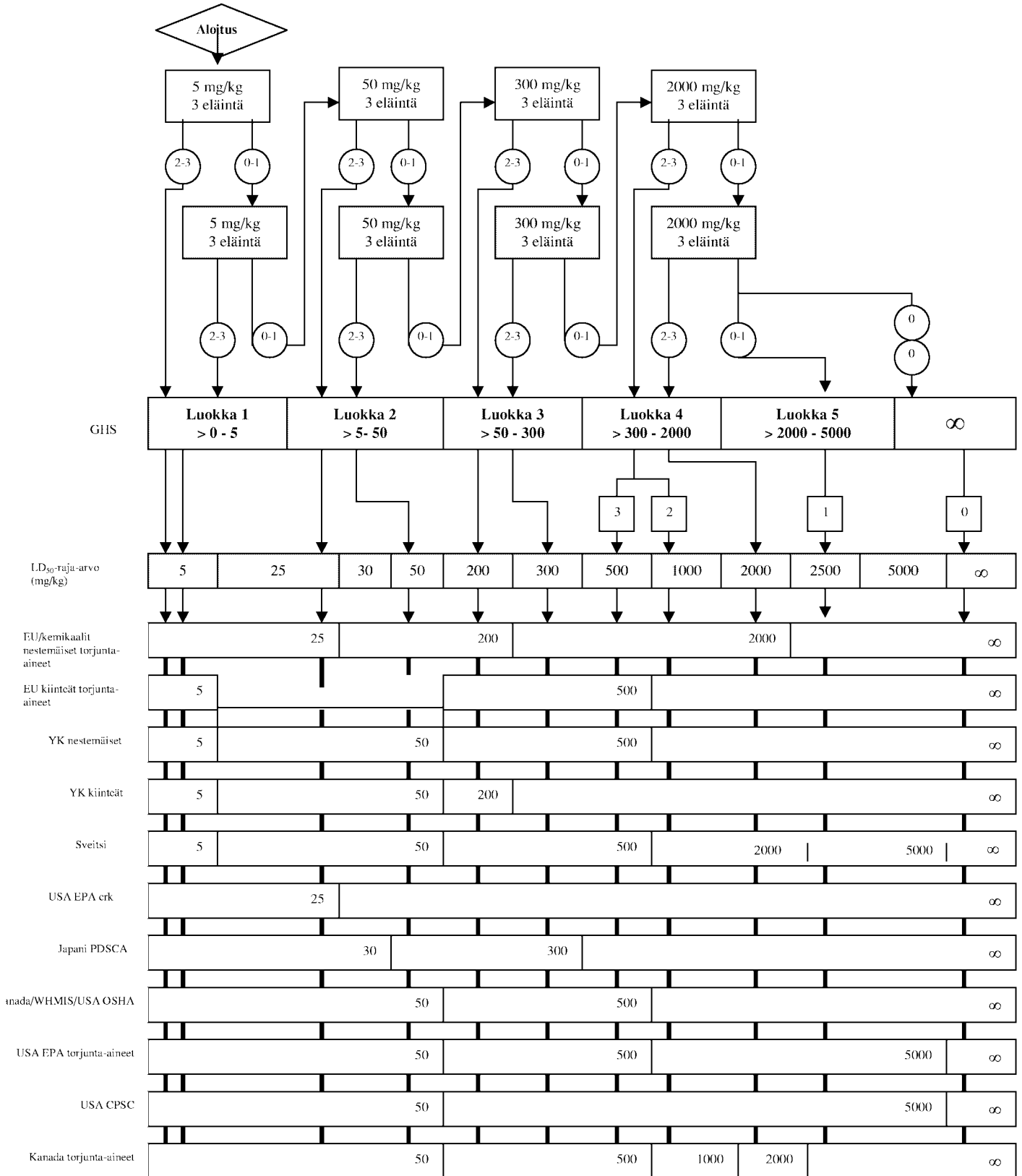
**TESTAAMINEN 2000 MG/KG YLITTÄVILLÄ ANNOKSILLA**

Koska eläinten hyvinvointia on suojeltava, testaaminen eläimillä luokan 5 (5000 mg/kg) rajoissa ei ole suositeltavaa, ja sitä tulee käyttää vain kun on erittäin todennäköistä, että tällaisen kokeen tuloksilla on välitöntä merkitystä eläinten tai ihmisten terveyden suojelemiselle (10). Lisäkokeita korkeammilla annostasoilla ei pidä tehdä.

Kun kokeen tekeminen 5000 mg:n/kg annoksella on välttämätöntä, tarvitaan vain yksi vaihe (eli kolme eläintä). Jos ensimmäinen annoksen saanut eläin kuolee, annostelua jatketaan 2000 mg:n/kg annoksella liitteessä I esitettyjen toimenpidekaavioiden mukaisesti. Jos ensimmäinen eläin jää henkiin, kahdelle muulle eläimelle annetaan annos testiainetta. Jos vain yksi kolmesta eläimestä kuolee, LD<sub>50</sub>-arvo ylittää todennäköisesti 5000 mg/kg. Jos molemmat eläimet kuolevat, annostelua jatketaan 2000 mg:lla/kg.

LIITE 3

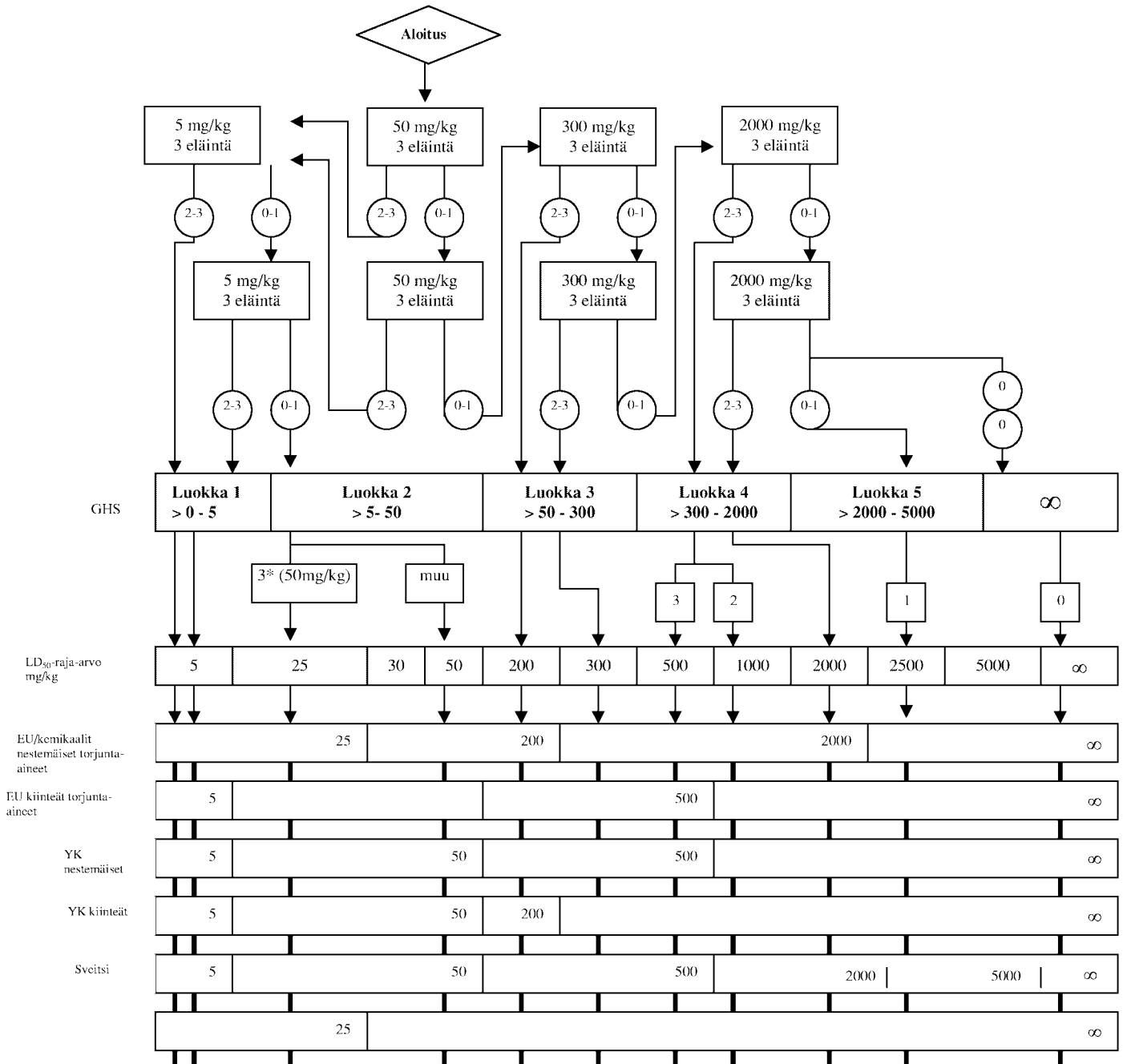
KOEMENETELMÄ B.1 b: EU:n järjestelmän mukaiset luokitteluohteet, joita käytetään siirtymäkaudella ennen kemikaalien kansainvälisesti yhdenmukaistetun järjestelmän (GHS) (viitteessä (8)) täysimääräistä täytäntöönpanoa



-kukin vaihe tehdään kolmea samaa sukupuolta olevalla eläimellä (tavallisesti naarailla)  
 - 0, 1, 2, 3: kuolemaisillaan olevien ja kuolleiden eläinten lukumäärä kussakin vaiheessa

- ∞: luokittelematon  
 - GHS: kansainvälisesti yhdenmukaistettu luokitusjärjestelmä (mg/kg)

**LIITE 3 (JATKOA 1)**  
**KOEMENETELMÄ B.1 b: EU:n järjestelmän mukaiset luokitteluohjeet, joita käytetään siirtymäkaudella ennen kemikaalien kansainvälisesti yhdenmukaistetun järjestelmän (GHS) (viitteessä (8)) täysimääräistä täytäntöönpanoa**



USA EPA erk

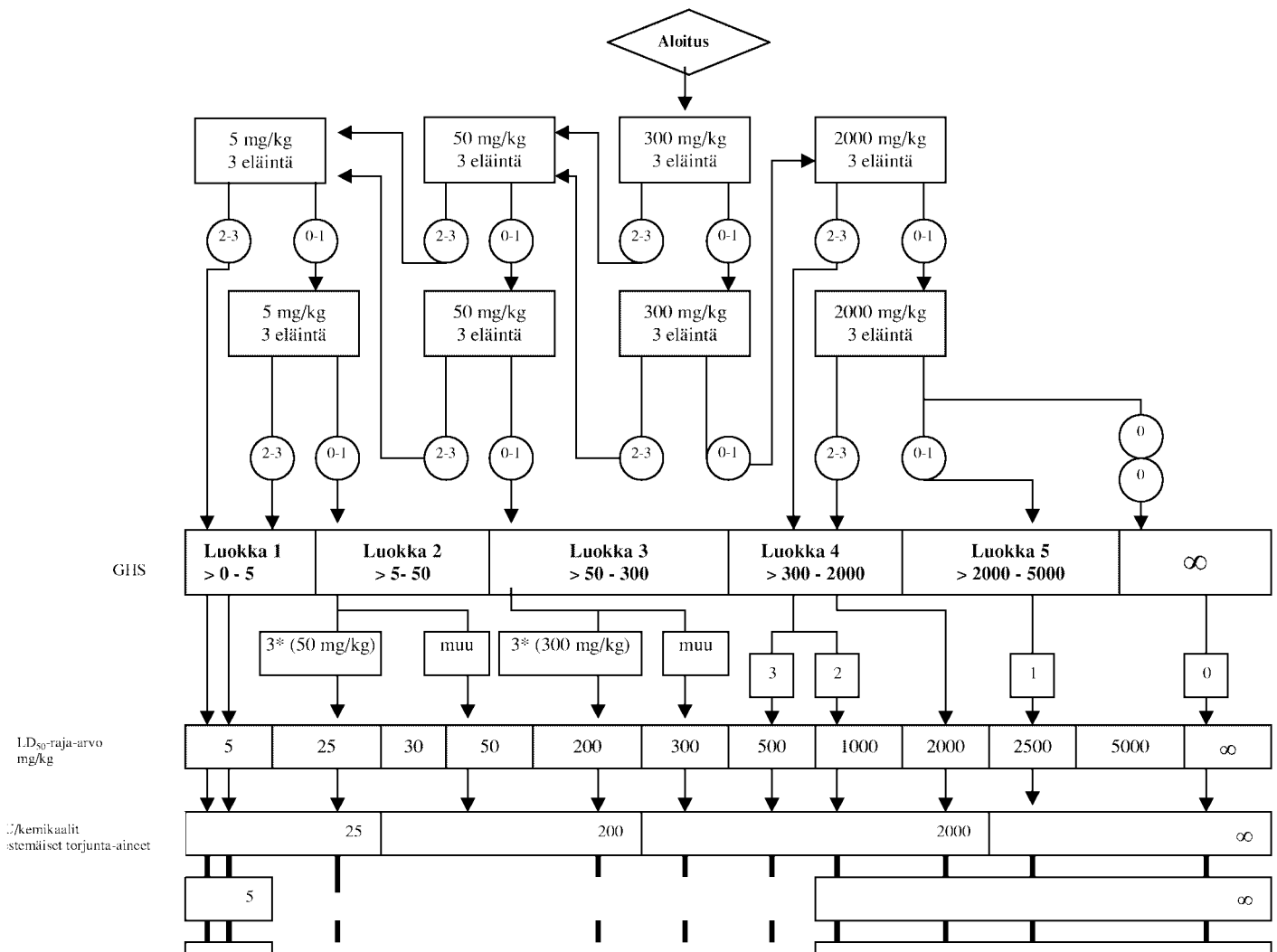
USA EPA torjunta-  
aineet

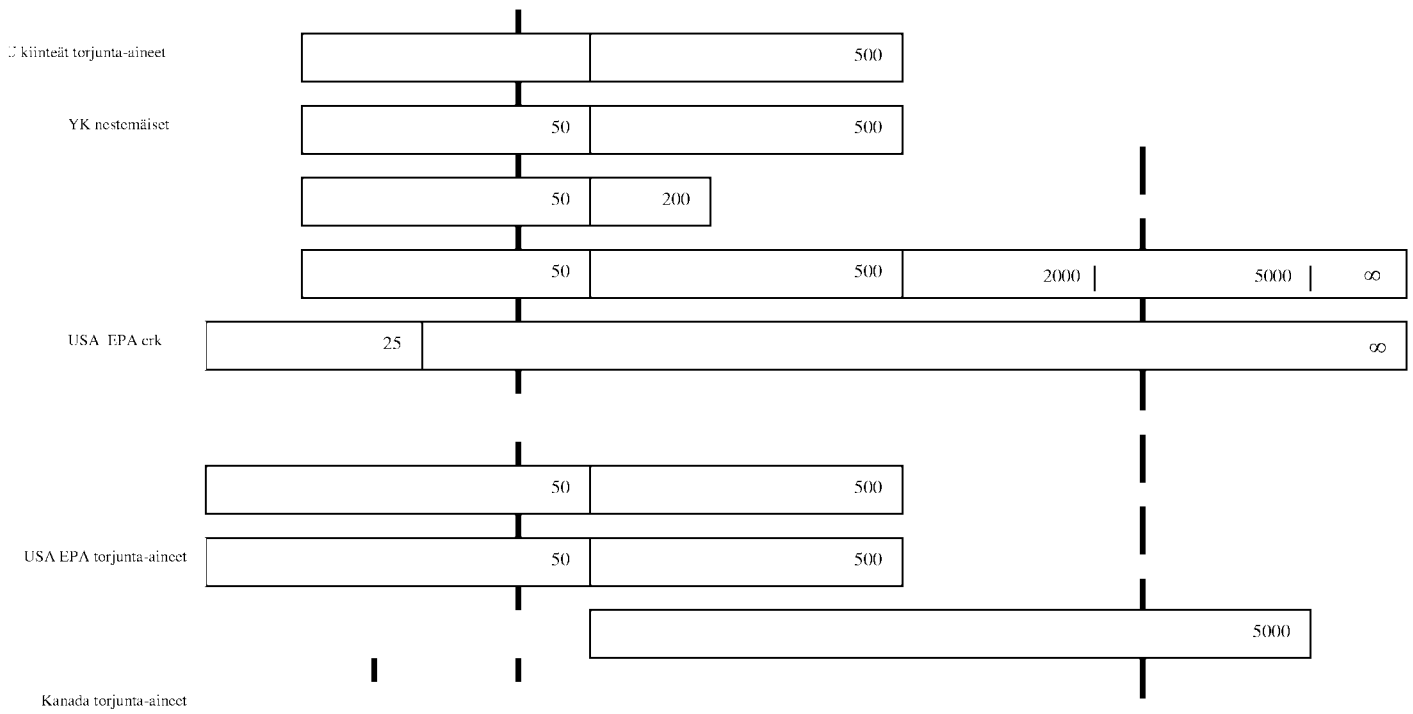
Kanada torjunta-  
aineet

- |   |  |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>- kukin vaihe tehdään kolmella samalla sukupuolta olevalla eläimellä (tavallisesti naarailla)</li> <li>- 0, 1, 2, 3: kuolemaisillaan olevien tai kuolleiden eläinten lukumäärä kussakin vaiheessa</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ∞: luokittelematon</li> <li>- *: ensimmäisessä vaiheessa</li> <li>- GHS: kansainvälisesti yhdenmukaistettu luokitusjärjestelmä (mg/kg)</li> </ul> |
|---|--|

LIITE 3 (JATKOA 2)

**KOEMENETELMÄ B.1 b: EU:n järjestelmän mukaiset luokitteluohjeet, joita käytetään siirtymäkaudella ennen kemikaalien kansainvälisesti yhdenmukaistetun järjestelmän (GHS) (viitteessä (8)) täysimääräistä täytäntöönpanoa**

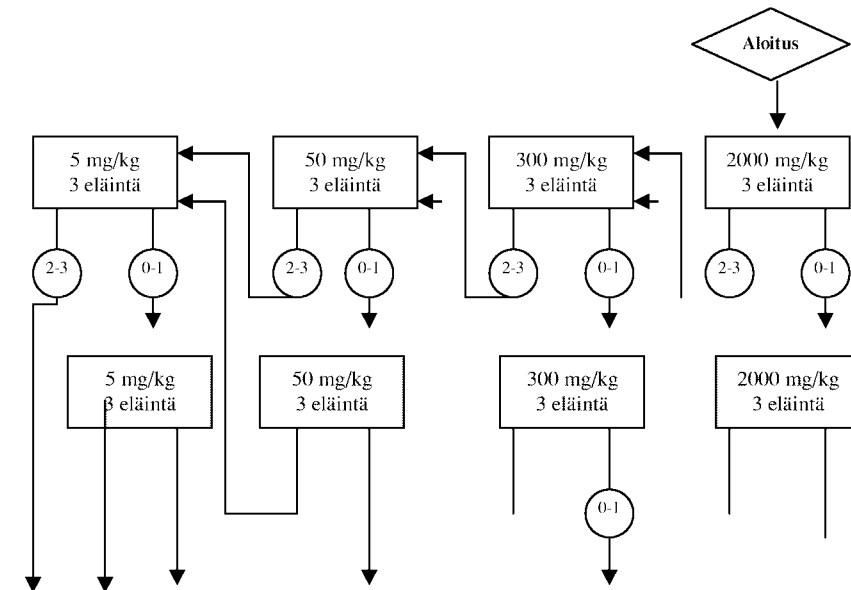


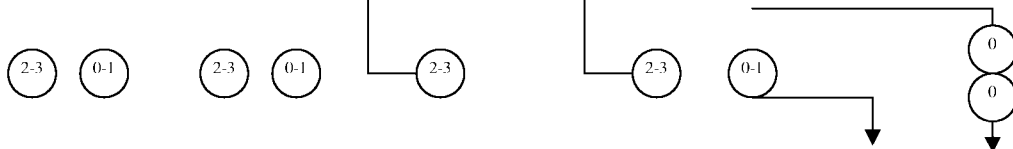


- kukin vaihe tehdään vaiheittain kolmella samalla sukupuolta olevalla eläimellä (tavallisesti naarailla)
- 0, 1, 2, 3: kuolemaisillaan olevien tai kuolleiden eläinten lukumäärä kussakin vaiheessa
- ∞: luokittelematon
- \*: ensimmäisessä vaiheessa
- GHS: kansainvälisesti yhdenmukaistettu luokitusjärjestelmä (mg/kg)

LIITE 3 (JATKOA 3)

**KOEMENETELMÄ B.1 b:** EU:n järjestelmän mukaiset luokitteluohjeet, joita käytetään siirtymäkaudella ennen kemikaalien kansainvälisesti yhdenmukaistetun järjestelmän (GHS) (viitteessä (8)) täysimääräistä täytäntöönpanoa





<b>Luokka 2</b> > 5 - 50	<b>Luokka 3</b> > 50 - 300	<b>Luokka 4</b> > 300 - 2000	<b>Luokka 5</b> > 2000 - 5000	∞
-----------------------------	-------------------------------	---------------------------------	----------------------------------	---

3* (50mg/kg)	muu	3* (300 mg/kg)	muu	3* (2000 mg/kg)	2* (2000 mg/kg)	muu	1	0
-----------------	-----	-------------------	-----	-----------------	--------------------	-----	---	---

LD <sub>50</sub> -arvo mg/kg	5	25	30	50	200	300	500	1000	2500	5000	∞
------------------------------	---	----	----	----	-----	-----	-----	------	------	------	---

EU/kemikaalit nestemäiset torjunta-aineet	25				200				2000		∞
---	----	--	--	--	-----	--	--	--	------	--	---

kiinteät torjunta-aineet							500				∞
--------------------------	--	--	--	--	--	--	-----	--	--	--	---

YK nestemäiset			50				500				∞
----------------	--	--	----	--	--	--	-----	--	--	--	---

			50	200							∞
--	--	--	----	-----	--	--	--	--	--	--	---

			50				500		2000	5000	∞
--	--	--	----	--	--	--	-----	--	------	------	---

USA EPA erk	25										∞
-------------	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	---

		30				300					∞
--	--	----	--	--	--	-----	--	--	--	--	---

			50				500				∞
--	--	--	----	--	--	--	-----	--	--	--	---

USA EPA torjunta-aineet			50				500			5000	∞
-------------------------	--	--	----	--	--	--	-----	--	--	------	---

										5000	
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	------	--

Kanada torjunta-aineet			50				500	1000	2000		∞
------------------------	--	--	----	--	--	--	-----	------	------	--	---

- kukin vaihe tehdään kolmella samalla sukupuolta olevalla eläimellä (tavallisesti naarailla)  
 - 0, 1, 2, 3: kuolemallaan olevien tai kuolleiden eläinten lukumäärä kussakin vaiheessa

- ∞: luokittelematon  
 - \*: ensimmäisessä vaiheessa  
 - GHS: kansainvälisesti yhdenmukaistettu luokitusjärjestelmä (mg/kg)

## **LIITE 2D**

## B. 4. AKUUTTI TOKSISUUS: IHOÄRSYTTÄVYYS/-SYÖVYTTÄVYYS

### 1. TESTIMENETELMÄ

Tämä menetelmä on toisinto OECD:n testiohjeesta nro 404 (2002).

#### 1.1 JOHDANTO

Tämän päivitetyn testimenetelmän valmistelun yhteydessä on erityisesti pyritty ottamaan huomioon eläinten hyvinvointiin liittyvät näkökohdat sekä kaikkien testiaineesta aiemmin saatujen tietojen arviointi, jotta voidaan välttää tarpeettomia eläinkokeita. Tässä menetelmässä esitetään suositus, että ennen tässä kuvatun, aineen ärsyttävyyttä/syövyttävyyttä tutkivan *in vivo* -testin toteuttamista on arvioitava aiempien relevanttien tutkimustulosten painoarvo. Jos saatavissa olevat tiedot ovat puutteellisia, niitä voidaan täydentää vaiheittaisen menettelyn avulla (1). Suositeltava testausstrategia, joka on selostettu tämän menetelmän liitteessä, sisältää validoitujen ja hyväksytyjen *in vitro* -testien suorittamisen. Lisäksi suositellaan tilanteen mukaan, että *in vivo* -alkutestissä eläimelle asetetaan kolme testilappua peräkkäin eikä samanaikaisesti.

Sekä järkevien tieteellisten menettelytapojen että eläinten hyvinvoinnin vuoksi *in vivo* -testiä ei pidä suorittaa ennen kuin kaikkien saatavissa olevien testiaineen mahdolliseen ihoärsyttävyyteen/-syövyttävyyteen liittyvien tietojen painoarvo on arvioitu. Tällaisia tietoja ovat todisteet aiemmista ihmisille ja/tai koe-eläimille tehdyistä tutkimuksista, todisteet yhden tai usean rakenteellisesti samankaltaisen aineen tai ainetta sisältävän seoksen ärsyttävyydestä/syövyttävyydestä, aineen voimakasta happamuutta tai emäksisyyttä osoittavat tulokset (2)(3) sekä validoidut ja hyväksytyt *in vitro*- tai *ex vivo* -testit (4)(5)(5a). Tällainen analyysi vähentää *in vivo* -testien tarvetta sellaisten aineiden kohdalla, joiden ihoärsyttävyydestä/-syövyttävyydestä aiempi tutkimus on jo tuottanut riittävästi todisteita.

Suosittelava tapa toteuttaa vaiheittainen menettely, johon sisältyy validoituja ja hyväksytyjä *in vitro*- tai *ex vivo* -testejä ärsyttävyyden/syövyttävyyden selvittämiseksi, selostetaan tämän menetelmän liitteessä. Tämä menettelytapa kehitettiin OECD:n seminaarissa (6), jonka osanottajat suosittelevat sitä yksimielisesti, ja se hyväksyttiin suositeltavaksi testimenettelyksi Globally Harmonised System for the Classification of Chemical Substances (GHS) -kokouksessa (7). Vaikka tämä menettely ei olekaan olennainen osa testimenetelmää B.4, sen käyttöä suositellaan ennen *in vivo* -testin suorittamista. Uusia aineita testattaessa se on suositeltava vaiheittainen menettelytapa tieteellisesti pätevien tulosten tuottamiseksi aineen ärsyttävyydestä/syövyttävyydestä. Sellaisten aineiden kohdalla, joiden ihoärsyttävyydestä/-syövyttävyydestä ei ole riittävästi tietoja, menettelytapaa voidaan käyttää puuttuvien tietojen hankkimiseen. Jos päätetään käyttää jotain muuta menettelytapaa tai olla käyttämättä vaiheittaista menettelytapaa, päätös on perusteltava.

Jos aineen ärsyttävyyttä tai syövyttävyyttä ei voida määrittää vaiheittaisen menettelyn mukaisesti aiempien tulosten painoarvoanalyysin avulla, on syytä harkita *in vivo* -testiä (katso liite).

#### 1.2 MÄÄRITELMÄT

**Ihoärsytys:** korjautuvan ihovaurion syntyminen enintään neljä tuntia kestäneen testiaineen annostelun jälkeen.

**Ihon syöpyminen:** korjautumattoman ihovaurion eli näkyvän orvasketeen ja verinahkaan ulottuvan kuolion ilmaantuminen enintään neljä tuntia kestäneen aineen annostelun jälkeen. Tyypillisiä syöpymisreaktioita ovat haavaumat, verenvuoto, veriset ruvet, 14 päivän tarkkailujakson lopussa ihon vaalenemisen aiheuttama värinmuutos, kokonaan kaljuuntuneet alueet ja arvet. Epäselvien vaurioiden tapauksessa olisi harkittava histopatologista tutkimusta.

### 1.3 TESTIMENETELMÄN PERIAATE

Testiaine annostellaan yhtenä annoksena koe-eläimen iholle; eläimen ihon käsittelemättömät alueet toimivat kontrollina. Ärsytyksen/syöpymisen aste todetaan ja pisteytetään määrävälein, ja vauriota kuvaillaan vaikutusten arvioinnin täydentämiseksi. Testin on kestävä niin pitkään, että havaittujen vaikutusten korjautuvuus tai korjautumattomuus voidaan arvioida.

Eläimet, joissa havaitaan merkkejä jatkuvasta vakavasta stressistä ja/tai tuskista missä tahansa testin vaiheessa, on lopetettava inhimillisellä tavalla, ja tämä on otettava huomioon testiaineen arvioinnissa. Kuolevien ja kärsivien eläinten lopettamiskriteerit ovat lähteessä (8).

### 1.4 TESTIMENETELMÄN KUVAUS

#### 1.4.1 *In vivo* -testin valmistelu

##### 1.4.1.1 *Eläinlajin valinta*

Suosittelava koe-eläinlaji on albiinokaniini. Kokeessa käytetään nuoria ja terveitä täysikasvuisia yksilöitä. Muiden lajien käyttö on perusteltava.

##### 1.4.1.2 *Eläinten valmistelu*

Noin 24 tuntia ennen testiä eläinten selkäpuolen karva ajetaan lyhyeksi. Ihoa on varottava hankaamasta. Testissä voidaan käyttää vain eläimiä, joiden iho on terve ja vahingoittumaton.

Joillakin kaniinikannoilla esiintyy tiheitä karvalaikkuja, jotka ovat tavallista voimakkaampia tiettyinä vuodenaikoina. Tällaisia tiheäkarvaisia alueita ei pidä käyttää testikohtina.

##### 1.4.1.3 *Eläinten häkit ja ruokinta*

Jokaisella eläimellä on oltava oma häkki. Koe-eläinhuoneen lämpötilan on oltava kaniineilla 20 °C (±3 °C). Vaikka riittää, että suhteellinen kosteus on vähintään 30 % eikä mielellään ylitä 70 %:a muulloin kuin huoneen puhdistuksen aikana, pitäisi kuitenkin pyrkiä 50–60 %:n suhteelliseen kosteuteen. Huoneessa täytyy käyttää keinovalaistusta 12 tunnin jaksoissa (12 tuntia valoa, 12 tuntia pimeää). Eläinten ruokinnassa voidaan käyttää normaalia laboratorioruokavaliota, eikä juomaveden määrää saa rajoittaa.

#### 1.4.2 **Testin suoritus**

##### 1.4.2.1 *Testiaineen annostelu*

Testiaine annostellaan pienelle ihoalueelle (noin 6 cm<sup>2</sup>) ja peitetään sideharsolapulla, joka kiinnitetään ihoa ärsyttämättömällä teipillä. Jos suora annostelu ei ole mahdollinen (esimerkiksi nesteiden tai joidenkin tahnojen tapauksessa), testiaine annostellaan ensin sideharsolapulle, joka sitten asetetaan iholle. Lappu on pidettävä kevyessä kosketuksessa ihoon sopivan, puolitiiviin siteen avulla koko altistusjakson ajan. Jos testiaine annostellaan lappuun, se on kiinnitettävä ihoon siten, että aine on hyvässä kosketuksessa ihoon ja leviää tasaisesti. Eläimen yltäminen lappuun ja testiaineen nieleminen tai sisäänhengittäminen on estettävä.

Nestemäisiä testiaineita käytetään yleensä laimentamattomina. Testattaessa kiinteitä aineita (jotka voidaan tarvittaessa jauhaa) testiaine on kostutettava mahdollisimman pienellä määrällä vettä (tai tarvittaessa jollain muulla sopivalla kantaja-aineella), jotta saadaan hyvä ihokosketus. Jos käytetään muuta kantaja-ainetta kuin vettä, kantaja-aineen mahdollisen vaikutuksen testiaineen aiheuttamaan ihoärsytykseen pitäisi olla olematon tai mahdollisimman vähäinen.

Tavallisesti neljän tunnin mittaisen altistusjakson lopussa ylimääräinen testiaine on poistettava, jos se on käytännössä mahdollista, vedellä tai sopivalla liuottimella muuttamatta orvaskeden sen hetkistä vastetta tai eheyttä.

#### 1.4.2.2 *Annostaso*

Testikohtaan annostellaan 0,5 ml nestettä tai 0,5 g kiinteää ainetta tai tahnaa.

#### 1.4.2.3 *Alkutesti (ihoärsyttävyyden/-syövyttävyyden in vivo -testi yhdelle eläimelle)*

On erittäin suositeltavaa suorittaa *in vivo* -testi aluksi yhdelle eläimelle, erityisesti jos testiaineella arvellaan mahdollisesti olevan syövyttävä vaikutus. Tämä on vaiheittaisen menettelyn mukaista (katso liite 1).

Kun aine on todettu syövyttäväksi aiempien tietojen painoarvoanalyysin perusteella, eläinkokeita ei enää tarvita. Useimmille syövyttäviksi epäillyille aineille *in vivo* -jatkotesti ei yleensä ole tarpeen. Tapauksissa, joissa lisätietoja katsotaan tarvittavan puutteellisten todisteiden takia, rajoitettuja eläinkokeita voidaan kuitenkin tehdä seuraavasti: Enintään kolme testilappua asetetaan yksi toisensa jälkeen eläimen iholle. Ensimmäinen niistä poistetaan kolmen minuutin kuluttua. Jos vakavaa ihoreaktiota ei havaita, toinen lappu asetetaan iholle ja poistetaan tunnin kuluttua. Jos havainnot tässä vaiheessa osoittavat, että altistusta voidaan inhimillisesti jatkaa neljään tuntiin asti, kolmas lappu asetetaan paikoilleen ja poistetaan neljän tunnin kuluttua. Vaste pisteytetään.

Jos syövyttävä vaikutus havaitaan minkä tahansa kolmen peräkkäisen altistuksen aikana, testi lopetetaan heti. Jos syövyttävää vaikutusta ei havaita viimeisen lapun poistamisen jälkeen, eläintä tarkkaillaan 14 päivän ajan, mikäli söpymistä ei kehity sitä ennen.

Jos testiaineen ei odoteta aiheuttavan söpymistä vaan ärsytystä, eläimelle asetetaan yksi lappu neljän tunnin ajaksi.

#### 1.4.2.4 *Vahvistustesti (ihoärsyttävyyden in vivo -testi useille eläimille)*

Jos alkutestissä ei havaita syövyttävää vaikutusta, ärsyttävyyttä tai negatiivinen vaste on vahvistettava testaamalla vielä kaksi eläintä. Kummallekin asetetaan lappu neljän tunnin altistusjakson ajaksi. Jos ärsyttävä vaikutus havaitaan alkutestissä, vahvistustesti voidaan tehdä peräkkäistestinä tai altistamalla kaksi lisäeläintä yhtäaikaaisesti. Siinä poikkeustapauksessa, että alkutestiä ei tehdä, kahdelle tai kolmelle eläimelle voidaan asettaa yksi lappu, joka poistetaan neljän tunnin kuluttua. Kun käytetään kahta eläintä, lisätestiä ei tarvita, jos molemmilla esiintyy sama vaste. Muussa tapauksessa testataan myös kolmas eläin. Epäselvät vasteet täytyy mahdollisesti arvioida testaamalla lisää eläimiä.

#### 1.4.2.5 *Tarkkailujakso*

Tarkkailujakson on oltava riittävän pitkä havaittujen vaikutusten korjautuvuuden arvioimiseksi täydellisesti. Testi on kuitenkin lopetettava heti, jos eläin osoittaa jatkuvia kovien tuskien tai stressin merkkejä. Vaikutusten korjautuvuuden määrittämiseksi eläimiä on tarkkailtava enintään 14 päivän ajan lappujen poistamisen jälkeen. Jos korjautuvuus todetaan ennen kuin 14 päivää on kulunut, testi on lopetettava silloin.

#### 1.4.2.6 *Kliiniset havainnot ja ihoreaktioiden pisteytys*

Kaikista eläimistä tutkitaan eryteeman ja ödeeman merkit ja vasteet pisteytetään ensiksi 60 minuutin jälkeen ja sitten 24, 48 ja 72 tunnin kuluttua lapun poistamisesta. Yhdelle eläimelle tehtävän alkutestin jälkeen testikohta tutkitaan myös heti lapun poistamisen jälkeen. Ihoreaktiot pisteytetään ja kirjataan jäljempänä esitetyn taulukon asteikon mukaan. Jos iholla esiintyy vaurioita, joita ei voida tunnistaa ärsytykseksi tai syöpymiseksi 72 tunnin kuluttua, voi olla tarpeen jatkaa havainnointia päivään 14 asti, jotta vaikutusten korjautuvuus voidaan todeta. Ärsytyksen lisäksi kaikki paikalliset toksiset vaikutukset, kuten ihon rasvan liukeneminen ja mitkä tahansa koko elimistöön kohdistuvat vaikutukset (esimerkiksi vaikutukset kliinisiin toksisuuden merkkeihin ja ruumiinpainoon), on kuvattava ja kirjattava täydellisesti. Epäselvien vaurioiden tapauksessa olisi harkittava histopatologista tutkimusta.

Ihovasteiden pisteytys on väistämättä subjektiivista. Ihovasteiden pisteytyksen yhdenmukaistamiseksi sekä testilaboratorion ja havaintoja tekevien ja tulkitsevien henkilöiden työn helpottamiseksi havaintoja tekevän henkilöstön on oltava riittävän perehtynyttä pisteytysjärjestelmään (katso jäljempänä olevaa taulukkoa). Kuvitettu opas ihoärsytyksen ja muiden vaurioiden asteista voi olla hyödyllinen (9). Ihovasteiden pisteytys on arvioitava sokkona.

## 2. **MÄÄRITYSTULOKSET**

### 2.1 TULOSTEN ESITYSTAPA

Tutkimuksen tulokset on esitettävä taulukkomuodossa lopullisessa testiselosteessa, ja niiden on sisällettävä kaikki kohdassa 3.1 luetellut asiat.

### 2.2 TULOSTEN ARVIOINTI

Ihoärsytyspisteet on arvioitava yhdessä vaurioiden luonteen ja vakavuuden sekä niiden korjautuvuuden tai korjautumattomuuden kanssa. Yksittäiset pisteet eivät edusta aineen ärsyttävyyssominaisuuksien absoluuttista tasoa, koska testiaineen muutkin vaikutukset ovat arvioinnissa mukana. Sen sijaan yksittäisiä pisteitä voidaan tarkastella viitearvoina, jotka on arvioitava kaikkien muiden tutkimuksessa tehtyjen havaintojen yhteydessä.

Ihovaurioiden korjautuvuus on otettava huomioon ärsytysvastetta arvioitaessa. Jos vasteet kuten kaljuuntuminen (suppealla alueella), liikasarveistuminen, liikkasvu ja hilseily jatkuvat 14 päivän tarkkailujakson loppuun asti, testiainetta voidaan pitää ihoa ärsyttävänä.

### 3. TULOSTEN ILMOITTAMINEN

#### 3.1 LOPPURAPORTTI

Loppuraportti on oltava seuraavat tiedot:

Perustelut *in vivo* -testin tekemiselle: aiemmista tutkimuksista saatujen testitulosten painoarvoanalyysi, mukaan luettuina vaiheittaisen menettelyn tulokset:

- aiemmista testeistä saatujen relevanttien tulosten kuvaus
- testissä käytetyn menettelytavan kustakin vaiheesta saadut tulokset
- kuvaus tehdyistä *in vitro* -testeistä, mukaan luettuina suoritusta koskevat yksityiskohtaiset tiedot ja testi-/vertailuaineesta saadut tulokset
- painoarvoanalyysi *in vivo* -testiä varten.

Testiaine:

- eränumero)
- tunnistetiedot (esimerkiksi CAS-numero, alkuperä, puhtaus, tunnetut epäpuhtaudet,
  - fysikaalinen olomuoto ja fysikokemialliset ominaisuudet (esimerkiksi pH, haihtuvuus, liukoisuus, stabiilius)
  - jos kyseessä on seos, sen koostumus ja ainesosien suhteellinen osuus.

Kantaja-aine:

- tunnistetiedot, konsentraatio (tilanteen mukaan), käytetty tilavuus
- perustelut kantaja-aineen valinnalle.

Koe-eläin:

- käytetty laji ja kanta, perustelut muiden eläinten kuin albiinokaniinien käytölle
- uros- ja naaraseläinten määrä
- eläinyksilöiden paino testin alussa ja lopussa
- eläinten ikä testin alussa
- eläinten alkuperä, häkkijärjestelyt, ruokavalio ja niin edelleen.

Testiolosuhteet:

- lapun asetuskohdan valmistelu
- tiedot lapun materiaalista ja asetustekniikasta
- tiedot testiaineen valmistelusta, annostelusta ja iholta poistamisesta.

Tulokset:

- kunkin eläimen ärsytys-/syöpymisvasteen pisteytys jokaiselta mittauskerralta taulukkomuodossa
- havaittujen vaurioiden kuvaus
- sanallinen kuvaus havaitun ärsytyksen/syöpymisen luonteesta ja asteesta sekä mahdolliset histopatologiset löydökset
- kuvaus muista paikallisista haittavaikutuksista (esimerkiksi ihon rasvan liukeneminen) ja ihoärsytyksen/-syöpymisen lisäksi koko elimistöön kohdistuvat vaikutukset.

Tulosten pohdinta

4.

**LÄHDELUETTELO**

- (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 Substance Without Testing on Animals. Toxicol. *In Vitro*, 2, 19–26.
- (3) Worth, A. P., Fentem, J. H., Balls, M., Botham, P. A., Curren, R. D., Earl, L. K., Esdaile, D. J., Liebsch, M. (1998). Evaluation of the proposed OECD Testing Strategy for skin corrosion. ATLA 26, 709–720.
- (4) ECETOC (1990) Monograph No. 15, "Skin Irritation", European Chemical Industry, Ecology and Toxicology Centre, Bryssel.
- (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. and Liebsch, M. (1998). The ECVAM international validation study on in vitro tests for skin corrosivity. 2. Results and evaluation by the Management Team. Toxicology in Vitro 12, 483–524.
- (5a) Testimenetelmä B.40 Skin Corrosion.
- (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. Pidetty Solnassa, Ruotsissa 22.–24. tammikuuta 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, as endorsed by the 28<sup>th</sup> Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, marraskuu 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, elokuu 1990. (Saatavana OECD:n sihteeristöltä pyydettyäessä.)

**TAULUKKO I: IHOREAKTIOIDEN PISTEYTYS****Eryteeman ja karstan muodostus**

Ei eryteemaa .....	0
Hyvin lievä eryteema (tuskin havaittava) .....	1
Selkeästi erottuva eryteema .....	2
Keskivakava – vakava eryteema .....	3
Vakava eryteema (voimakas punoitus) – karsta, joka estää eryteeman pisteetyksen .....	4

Suurin mahdollinen pistemäärä: 4

**Ödeeman (turvotuksen) muodostus**

Ei ödeemaa .....	0
Hyvin lievä ödeema (tuskin havaittava) .....	1
Lievä ödeema (selvärajainen alue, jonka reunat ovat koholla) .....	2
Keskivakava ödeema (noin 1 mm koholla) .....	3
Vakava ödeema (enemmän kuin 1 mm koholla ja levinnyt altistuskohtaa laajemmalle) .....	4

Suurin mahdollinen pistemäärä: 4

Epäselvien vaurioiden tapauksessa voidaan tehdä histopatologinen tutkimus.

## LIITE

## Ihoärsyttävyyden ja -syövyttävyyden vaiheittainen testaus

## YLEISIÄ NÄKÖKOHTIA

Vaikka tämä vaiheittainen testausstrategia ei ole olennainen osa testimenetelmää B.4, siinä kuvataan suositeltavaa lähestymistapaa aineen ihoärsyttävyyden/-syövyttävyyssominaisuuksien määrittämiseen. Tämä lähestymistapa edustaa sekä parhaita käytäntöjä että eettistä vertailukohtaa ihoärsyttävyyden/-syövyttävyyden *in vivo* -testauksessa. Siinä annetaan ohjeita *in vivo* -testin suorittamiseen ja esitetään yhteenveto tekijöistä, jotka on käsiteltävä ennen testin aloittamista. Strategia tarjoaa lähestymistavan aiemmin saatujen tulosten arviointiin testiaineen ihoärsyttävyyden/-syövyttävyyssominaisuuksien selvittämiseksi, ja sen avulla voidaan vaihe vaiheelta tuottaa merkitseviä tuloksia aineista, joista tarvitaan lisätietoja tai joita ei ole aikaisemmin tutkittu. Strategiassa suositellaan myös tietyissä tapauksissa käyttämään validoituja ja hyväksytyjä *in vitro*- tai *ex vivo* -testejä ihoärsyttävyyden/-syövyttävyyden toteamiseksi.

Sekä järkevien tieteellisten menettelytapojen että eläinten hyvinvoinnin vuoksi on tärkeää välttää tarpeettomia eläinkokeita ja tehdä mahdollisimman vähän sellaisia testejä, jotka todennäköisesti aiheuttavat elämissä vakavia vasteita. Ennen *in vivo* -testin suunnittelemista on arvioitava kaikki tiedot testiaineen mahdollisesta ihoärsyttävyydestä/-syövyttävyydestä. Riittävät todisteet testiaineen ihoärsyttävyyden/-syövyttävyyden luokitteluksi voivat jo olla olemassa, jolloin koe-eläintestejä ei tarvita. Painoarvoanalyysin ja vaiheittaisen menettelyn käyttö vähentää *in vivo* -testien tarvetta, erityisesti jos on todennäköistä, että testiaine aiheuttaa vakavia reaktioita.

On suositeltavaa arvioida aineiden ihoärsyttävyydestä ja -syövyttävyydestä saatavissa olevien tietojen painoarvo, jotta voidaan päättää, tarvitaanko aineen ihoärsytyspotentiaalin määrittämiseksi muita testejä kuin *in vivo* -ihotesti. Jos muita testejä tarvitaan, on suositeltavaa käyttää vaiheittaista menettelyä relevanttien koetulosten hankkimiseksi. Jos ainetta ei ole aikaisemmin testattu, vaiheittaisen menettelyn avulla voidaan hankkia ihoärsyttävyyden/-syövyttävyyden arviointiin tarvittavat tulokset. Tässä liitteessä kuvattu testimenettely on kehitetty OECD:n seminaarissa (1), ja se on vahvistettu ja laajennettu myöhemmin järjestelmässä *Harmonised Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances*, sellaisena kuin se vahvistettiin kemikaalikomitean ja kemikaalityöryhmän 28. yhteisessä kokouksessa marraskuussa 1998 (2).

## ARVIOINTI- JA TESTAUSSTRATEGIAN KUVAUS

Ennen vaiheittaiseen menettelyyn sisältyvien testien suorittamista (kaavio) on analysoitava kaikki saatavissa olevat tiedot, jotta *in vivo* -ihotestauksen tarve voidaan määrittää. Vaikka yksittäisistä parametreista (esimerkiksi äärimmäiset pH-arvot) voidaan saada merkitseviä tietoja, on syytä ottaa huomioon tulokset kokonaisuudessaan. Kaikkien kyseessä olevan aineen tai sen kaltaisten aineiden vaikutusta koskevien tietojen painoarvo on arvioitava testauspäätöksen yhteydessä, ja päätökselle on esitettävä perustelut. Ensimmäiseksi on painotettava sekä ihmisillä että eläimillä aiemmin saatuja tuloksia ja seuraavaksi *in vitro*- tai *ex vivo* -testien tuloksia. Syövyttävien aineiden *in vivo* -testejä on vältettävä aina kun se on mahdollista. Testimenettelyssä on otettava huomioon seuraavat asiat:

*Ihmisillä ja eläimillä aiemmin saatujen tulosten arviointi (vaihe 1).* Aiemmat ihmisillä saadut tulokset, esimerkiksi kliiniset tai työperäiseen altistukseen liittyvät tutkimustulokset ja tapauselostukset ja/tai eläinkokeiden tulokset, esimerkiksi yksittäisten tai toistettujen ihoaltistustestien tulokset, on otettava ensiksi huomioon, koska niistä saadaan suoraan aineen ihoaiikutuksiin liittyviä tietoja. *In vivo* -testejä ei tarvitse tehdä aineille, joiden ärsyttävyyden tai syövyttävyyden tiedetään, eikä aineille, joista on selvästi todistettu, että ne eivät ole ärsyttäviä tai syövyttäviä.

*Rakenteellisyysanalyysi (SAR) (vaihe 2).* Jos saatavilla on rakenteellisesti samankaltaisten aineiden testituloksia, ne on otettava huomioon. Kun rakenteellisesti samankaltaisista aineista tai niitä sisältävistä seoksista on saatavilla riittävästi ihmisillä tehtyjen testien ja eläinkokeiden tuloksia, jotka osoittavat niiden ihoärsyttävyyden/-syövyttävyyden potentiaalin, voidaan olettaa, että arvioitava testiaine tuottaa samanlaiset vasteet. Tällaisessa tapauksessa ainetta ei kenties tarvitse testata. Negatiiviset tulokset rakenteellisesti samankaltaisten aineiden tai sellaisista aineista koostuvien seosten tutkimuksista eivät vaiheittaisessa menettelyssä ole riittävä todiste siitä, että aine ei ole ihoa ärsyttävä tai syövyttävä. Ihoärsyttävyyden ja -syövyttävyyden selvittäminen on valitettavasti jätettävä jatkotestien ja hyväksyttyjen SAR-menettelyjen avulla.

*Fysikokemialliset ominaisuudet ja kemiallinen reaktiivisuus (vaihe 3).* Aineella, jolla esiintyy äärimmäisiä pH-arvoja, kuten  $\leq 2,0$  ja  $\geq 11,5$ , voi olla voimakkaita paikallisia vaikutuksia. Jos aine määritetään ihoa syövyttäväksi äärimmäisen pH-arvon perusteella, sen happo-/emäsreservi (eli puskurointikyky) voidaan myös ottaa huomioon (3)(4). Jos puskurointikyky viittaa siihen, että aine ei ole ihoa syövyttävä, tämän vahvistamiseksi on tehtävä jatkotesti, jonka on ensisijaisesti oltava validoitu ja hyväksytty *in vitro*- tai *ex vivo*-testi (katso vaiheet 5 ja 6).

*Toksisuus iholla (vaihe 4).* Jos aine on todettu erittäin toksiseksi ihon kautta annosteltuna, ihoärsyttävyyden/-syövyttävyyden testaaminen *in vivo*-testillä ei kenties ole järkevää, koska tavallisesti käytetty testianemäärä voi ylittää erittäin toksisen annoksen ja siten johtaa eläinten kuolemaan tai vakaviin kärsimyksiin. Jos lisäksi toksisuuden ihotestejä albiinokaniineilla on jo tehty raja-annosarvoon 2 000 mg/ruumiinpainokilo tai sitä suurempaan arvoon eikä ihoärsytystä tai -syöpymistä ole havaittu, ihoärsyttävyyden/-syövyttävyyden lisätieto ei kenties ole tarpeen. Joitakin seikkoja on syytä pitää mielessä arvioitaessa aiempien tutkimusten tuloksia akuutista toksisuudesta iholla. Esimerkiksi ihovaurioista raportoidut tiedot voivat olla puutteellisia. Testeissä ja havainnoinnissa on saatettu käyttää muuta eläinlajia kuin kaniinia, ja eri eläinlajien vasteherkkyyden poikkeama toisistaan suuresti. Niin ikään eläimille annostellun testiaineen ei välttämättä ole ollut sopivassa muodossa ihoärsyttävyyden/-syöpymisen arvioimiseksi (esimerkiksi aineiden laimentaminen toksisuuden testaamiseksi iholla (5)). Tapauksissa, joissa hyvin suunnitellut ja toteutetut ihotoksisuutta tutkivat testit on tehty kaniineille, negatiiviset löydökset voidaan kuitenkin katsoa riittäviksi todisteiksi siitä, että aine ei ole syövyttävä eikä ärsyttävä.

*In vitro- tai ex vivo -testien tulokset (vaiheet 5 ja 6).* Aineita, joilla on todettu olevan syövyttäviä tai vakavasti ärsyttäviä ominaisuuksia valitettavasti ja hyväksytyissä, nimenomaan näiden ominaisuuksien mittaamista varten kehitetyissä *in vitro*- tai *ex vivo*-testeissä (6)(7), ei tarvitse testata eläimillä. Voidaan olettaa, että tällaiset aineet aiheuttavat samoja vaikutuksia *in vivo*-testeissä.

*In vivo -testi kaniineilla (vaiheet 7 ja 8).* Jos painoarvoanalyysin jälkeen päätetään toteuttaa *in vivo*-testi, se on aloitettava testaamalla ensin yksi eläin. Jos tämän testin tulokset osoittavat, että aine on ihoa syövyttävä, jatkotestiä ei pidä tehdä. Jos alkutestissä ei todeta syövyttävää vaikutusta, ärsyttävyyden tai negatiivinen vaste on vahvistettava testaamalla vielä enintään kaksi eläintä neljän tunnin altistusjakson ajan. Jos alkutestissä todetaan ihoa ärsyttävä vaikutus, vahvistustesti voidaan toteuttaa peräkkäistestinä tai altistamalla mainitut kaksi eläintä samanaikaisesti.

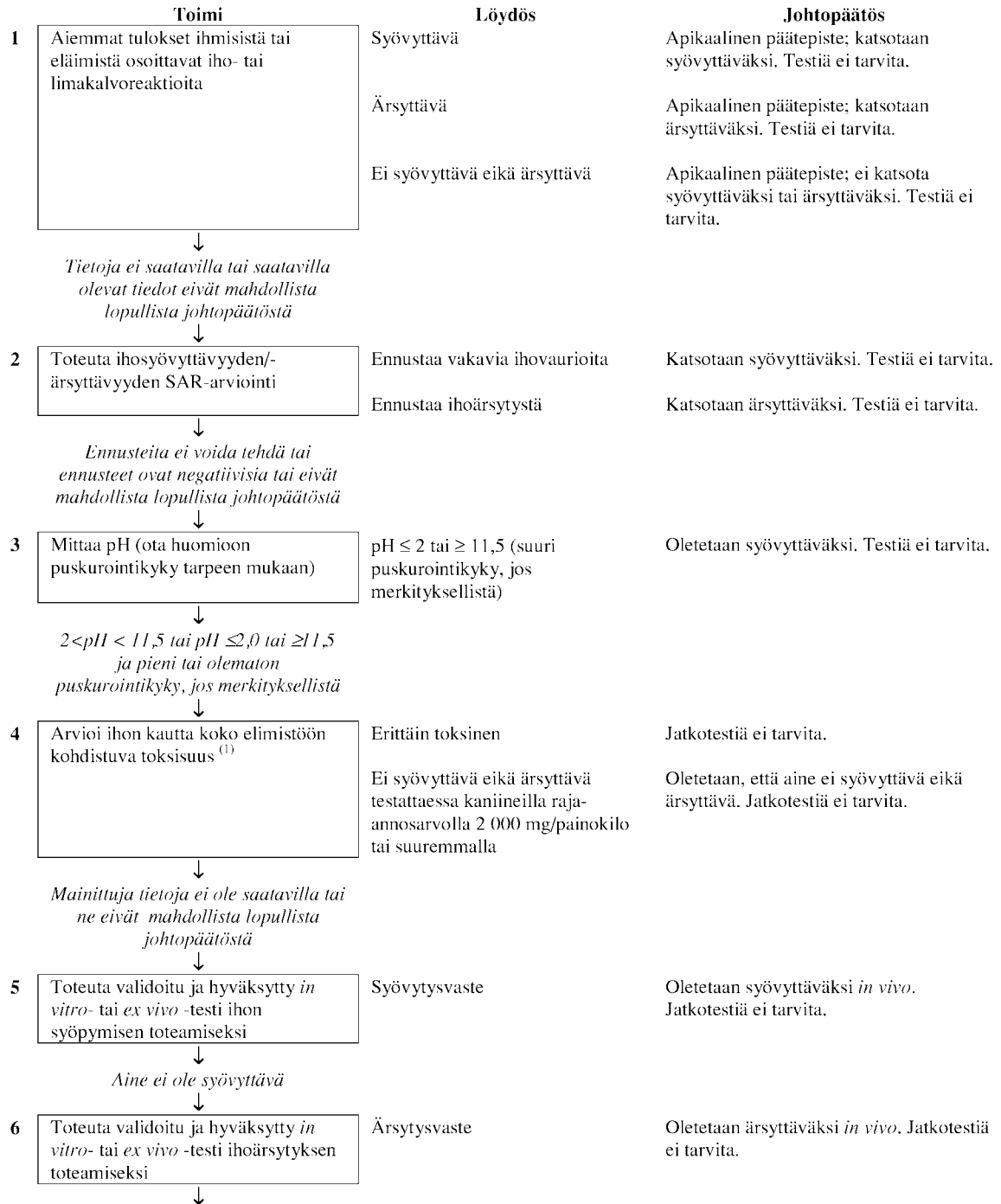
## LÄHDELUETTELO

- 1) OECD (1996). Test Guidelines Programme: Final Report on the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Pidetty Solnassa, Ruotsissa, 22.–24. tammikuuta 1996 (<http://www1.oecd.org/ehs/test/background.htm>).
- 2) OECD (1998). Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, as endorsed by the 28<sup>th</sup> Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, marraskuu 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. 1926.
- 5) Patil, S. M., Patrick, E., Maibach, H. I. (1996). Animal, Human, and In Vitro Test Methods for Predicting Skin Irritation teoksessa Francis N. Marzulli and Howard I. Maibach (toim.): *Dermatotoxicology*. Viides painos. ISBN 1-56032-356-6, luku 31, 411–436.

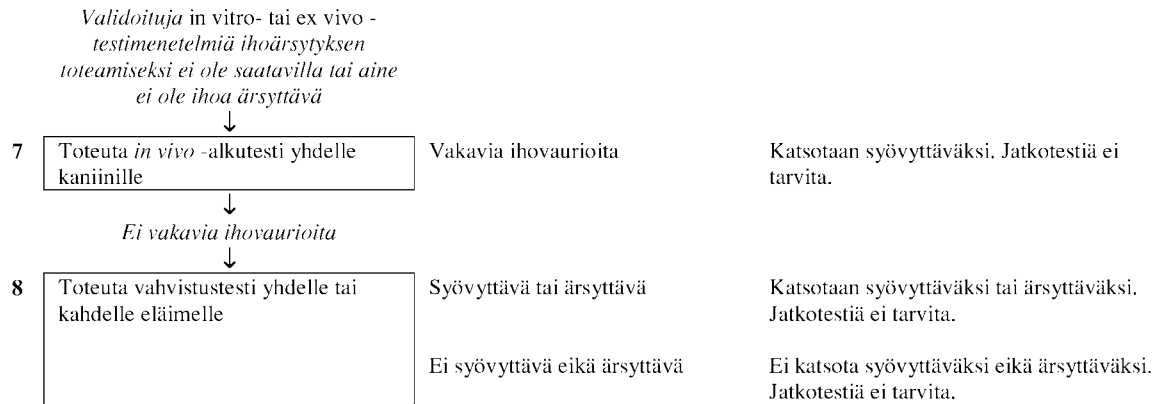
- 6) Testimenetelmä B.40.
- 7) Fentem, J. H., Archer, G. E. B., Balls, M., Botham, P. A., Curren, R. D., Earl, L. K., Esdaile, D. J., Holzhutter, H. G. and Liebsch, M. (1998). The ECVAM international validation study on in vitro tests for skin corrosivity. 2. Results and evaluation by the Management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

## KAAVIO

## IHOÄRSYTTÄVYYDEN/SYÖVYTTÄVYYDEN TESTAUS- JA ARVIOINTIMENETTELY



<sup>(1)</sup> Voidaan tehdä myös ennen vaiheita 2 ja 3.



## **LIITE 2E**

**B. 5. AKUUTTI TOKSISUUS: SILMÄN ÄRSYTTÄVYYS/SYÖVYTTÄVYYS****1. MENETELMÄ**

Tämä menetelmä on toisinto OECD:n testiohjeesta nro 405 (2002).

**1.1 JOHDANTO**

Tämän päivitetyn testimenetelmän valmistelun yhteydessä on erityisesti pyritty ottamaan huomioon kaikkien testiaineesta aiemmin saatujen tietojen arviointi ja eläinten hyvinvointiin liittyvät näkökohdat, jotta voidaan välttää tarpeettomia eläinkokeita. Tässä menetelmässä esitetään suositus, että ennen tässä kuvatun, akuuttia silmä-ärsyttävyyttä/syövyttävyyttä tutkivan *in vivo* -testin toteuttamista on arvioitava aiempien relevanttien tutkimustulosten painoarvo (1). Jos saatavissa olevat tiedot ovat puutteellisia, niitä voidaan täydentää vaiheittaisen menettelyn avulla (2) (3). Suositeltava testausstrategia, joka on selostettu tämän menetelmän liitteessä, sisältää validoitujen ja hyväksytyjen *in vitro* -testien suorittamisen. Lisäksi suositellaan, että ennen *in vivo* -silmatestin tekemistä tehdään *in vivo* -ihoärsyttävyyttä/syövyttävyyttä silmäsyövytyksen ennustamiseksi.

Sekä järkevien tieteellisten menettelytapojen että eläinten hyvinvoinnin vuoksi *in vivo* -testiä ei pidä suorittaa ennen kuin kaikkien saatavissa olevien testiaineen mahdolliseen silmä-ärsyttävyyteen/syövyttävyyteen liittyvien tietojen painoarvo on arvioitu. Tällaisia tietoja ovat todisteet aiemmista ihmisille ja/tai koe-eläimille tehdyistä tutkimuksista, todisteet yhden tai usean rakenteellisesti samankaltaisen aineen tai ainetta sisältävän seoksen ärsyttävyydestä/syövyttävyydestä, aineen voimakasta happamuutta tai emäksisyyttä osoittavat tulokset (4)(5) sekä validoidut ja hyväksytyt *in vitro*- tai *ex vivo* -ihoärsyttävyyttä/syövyttävyyttä (6)(6a). Tutkimukset voivat olla painoarvoanalyysia aiemmin tehtyjä tai sen tuloksena syntyneitä.

Joidenkin aineiden kohdalla painoarvoanalyysi voi osoittaa, että *in vivo* -testi on tarpeen aineen mahdollisen silmä-ärsyttävyyden/syövyttävyyden selvittämiseksi. Kaikissa sellaisissa tapauksissa on ennen *in vivo* -silmatestin harkitsemista suositeltavaa tehdä ensin *in vivo* -ihotesti iho- ja silmä-ärsyttävyyden selvittämiseksi ja arvioida se testimenetelmän B.4 mukaan (7). Painoarvoanalyysi ja vaiheittainen menettely vähentävät tarvetta *in vivo* -testeihin silmä-ärsyttävyyden/syövyttävyyden selvittämiseksi aineilla, joiden ominaisuuksista muut tutkimukset ovat jo tuottaneet riittävästi todisteita. Jos aineen silmä-ärsyttävyyttä/syövyttävyyttä ei voida määrittää vaiheittaisen menettelyn avulla eikä edes *in vivo* -ihotestin jälkeen, *in vivo* -silmatesti voidaan tehdä.

Suosittelava tapa toteuttaa vaiheittainen menettely, johon sisältyy validoituja ja hyväksytyjä *in vitro*- tai *ex vivo* -testejä ärsyttävyyden/syövyttävyyden selvittämiseksi, selostetaan tämän menetelmän liitteessä. Tämä menettelytapa kehitettiin OECD:n seminaarissa (8), jonka osanottajat suosittelivat sitä yksimielisesti, ja hyväksyttiin suositeltavaksi testimenettelyksi Globally Harmonised System for the Classification of Chemical Substances (GHS) -kokouksessa (9). Vaikka tämä menettely ei olekaan olennainen osa testimenetelmää B.4, sen käyttöä suositellaan ennen *in vivo* -testin suorittamista. Uusia aineita testattaessa se on suositeltava vaiheittainen menettelytapa, jonka avulla voidaan kehittää tieteellisesti päteviä tuloksia aineen ärsyttävyydestä/syövyttävyydestä. Sellaisten aineiden kohdalla, joiden iho- ja silmä-ärsyttävyydestä/syövyttävyydestä ei ole riittävästi tietoja, menettelytapaa voidaan käyttää puuttuvien tietojen hankkimiseen. Jos päätetään käyttää jotain muuta menettelytapaa tai olla käyttämättä vaiheittaista menettelytapaa, päätös on perusteltava.

**1.2 MÄÄRITELMÄT**

**Silmä-ärsytys:** silmän muutokset, jotka syntyvät, kun testiainetta on annosteltu silmän etupinnalle, ja korjautuvat täysin 21 päivän kuluessa annostelusta.

**Silmän syöpyminen:** silmän kudosaauriot tai vakava fyysinen näön rappeutuminen, joka syntyy, kun testiainetta on annosteltu silmän etupinnalle, eikä se korjautu täysin 21 päivän kuluessa annostelusta.

### 1.3 TESTIMENETELMÄN PERIAATE

Testiaine annostellaan yhtenä annoksena koe-eläimen toiseen silmään. Käsittelemätön silmä toimii kontrollina. Silmän ärtymisen/syöpymisen aste arvioidaan pisteyttämällä sidekalvon, sarveiskalvon ja värikanalon vammat tietyin väliajoin. Muut silmään kohdistuvat vaikutukset ja koko elimistöön kohdistuvat haittavaikutukset kuvataan myös, jotta vaikutuksia voidaan arvioida kokonaisuudessaan. Testin on kestävä niin pitkään, että havaittujen vaikutusten korjautuvuus tai korjautumattomuus voidaan arvioida.

Eläimet, joissa havaitaan merkkejä jatkuvasta vakavasta stressistä ja/tai tuskista missä tahansa testin vaiheessa, on lopetettava inhimillisellä tavalla, ja tämä on otettava huomioon testiaineen arvioinnissa. Kuolevien ja kärsivien eläinten lopettamiskriteerit ovat lähteessä (10).

### 1.4 TESTIMENETELMÄN KUVAUS

#### 1.4.1 *In vivo* -testin valmistelu

##### 1.4.1.1 *Eläinlajin valinta*

Suosittelava koe-eläinlaji on albiinokaniini. Kokeessa käytetään nuoria ja terveitä täysikasvuaisia yksilöitä. Muiden lajien käyttö on perusteltava.

##### 1.4.1.2 *Koe-eläinten valmistelu*

Kunkin alustavasti testiin valitun koe-eläimen molemmat silmät tutkitaan testin alkua edeltävän 24 tunnin aikana. Eläimiä, joilla esiintyy silmien ärtyneisyyttä, silmävikoja tai aiempia sarveiskalvon vaurioita, ei voi käyttää testissä.

##### 1.4.1.3 *Eläinten häkit ja ruokinta*

Jokaisella eläimellä on oltava oma häkki. Koe-eläinhuoneen lämpötilan on oltava kaniineilla 20 °C (±3 °C). Vaikka riittää, että suhteellinen kosteus on vähintään 30 % eikä mielellään ylitä 70 %:a muulloin kuin huoneen puhdistuksen aikana, pitäisi kuitenkin pyrkiä 50–60 %:n suhteelliseen kosteuteen. Huoneessa tulee käyttää keinovalaistusta 12 tunnin jaksoissa (12 tuntia valoa, 12 tuntia pimeää). Eläinten ruokinnassa voidaan käyttää normaalia laboratorioruokavaliota, eikä juomaveden määrää saa rajoittaa.

#### 1.4.2 Testimenettely

##### 1.4.2.1 *Testiaineen annostelu*

Eläimen alaluomea vedetään varovasti silmämunasta pois päin ja testiaine annostellaan eläimen toisen silmän sidekalvopussiin. Sen jälkeen luomia pidetään varovasti yhdessä sekunnin ajan, jotta aine ei valuisi ulos silmästä. Toinen silmä, jota ei käsitellä, toimii kontrollina.

##### 1.4.2.2 *Huuhtelu*

Koe-eläinten silmiä ei saa pestä vähintään 24 tuntiin testiaineen annostelun jälkeen, paitsi jos kyseessä on kiinteä aine (katso kohta 1.4.2.3.2) tai välitön ärsyttävä tai syövyttävä vaikutus. Silmät voidaan pestä 24 tunnin kuluttua, jos se katsotaan tarpeelliseksi.

Pesemisen vaikutuksen selvittämiseksi ei suositella kontrolliryhmää, paitsi jos sille on tieteellisiä perusteita. Jos kontrolliryhmä tarvitaan, käytetään kahta kaniinia. Pesuolosuhteet on dokumentoitava tarkasti, esimerkiksi pesuaika, pesulioksen koostumus ja lämpötila, pesun kesto, nesteen tilavuus ja virtausnopeus.

1.4.2.3 *Annostaso*1.4.2.3.1 *Nesteiden testaus*

Testattaessa nesteitä testiannos on 0,1 ml. Ainetta ei saa annostella suoraan suihkepumpusta silmään. Nestesuihke on ensin kerättävä astiaan ennen 0,1 ml:n annostelua silmään.

1.4.2.3.2 *Kiinteiden aineiden testaus*

Testattaessa kiinteitä aineita, tahnoja ja hiukkasmaisia aineita annoksen tilavuuden on oltava 0,1 ml tai painon enintään 100 mg. Testiaine jauhetaan hienoksi pölyksi. Kiinteän aineen tilavuus mitataan, kun aine on ensin kevyesti tiivistetty esimerkiksi naputtamalla mitta-astiaa. Jos kiinteä aine ei ole poistunut koe-eläimen silmästä fysiologisten mekanismien seurauksena ensimmäiseen havainnointiaikaan mennessä eli tunnin kuluttua käsittelystä, silmä voidaan huuhdella fysiologisella suolaliuksella tai tislattulla vedellä.

1.4.2.3.3 *Aerosolien testaus*

On suositeltavaa kerätä kaikki pumpattavat suihkeet ja aerosolit ennen niiden annostelua silmään. Ainoa poikkeus ovat paineistetuissa aerosolisäiliöissä olevat aineet, joita ei voida kerätä höyrystymisen takia. Sellaisessa tapauksessa silmää pidellään auki ja testiaine annostellaan silmään yhtenä sekunnin kestäväenä purskauksena 10 cm:n etäisyydeltä suoraan silmän edestä. Välimatka voi vaihdella suihkesäiliön paineen ja sisällön mukaan. On varottava, ettei suihkesäiliön paine vahingoita silmää. Joissakin tapauksissa voi olla syytä arvioida suihkeen voimakkuuden silmälle mahdollisesti aiheuttamat ”mekaaniset” vauriot.

Aerosoliannoksen suuruus voidaan arvioida simuloimalla testiä seuraavalla tavalla. Testiaine suihkutetaan punnituspaperille suoraan paperin edessä olevasta kaniinin silmän kokoisesta aukosta. Paperin painon lisäyksen avulla arvioidaan silmään suihkutettu määrä. Haihtuvien aineiden tapauksessa annoksen suuruus voidaan arvioida punnitsemalla keräysastia ennen ja jälkeen testiaineen poistamisen.

1.4.2.4 *Alkutesti (in vivo -silmiä-ärsyttävyyttä/-syövyttävyyttä yhdelle eläimelle)*

Vaiheittaisen menettelyn mukaan (katso liite 1) on erittäin suositeltavaa suorittaa *in vivo* -testi aluksi vain yhdelle eläimelle.

Jos testitulokset osoittavat, että aine on silmää syövyttävä tai vakavasti ärsyttävä kuvattua menettelyä käytettäessä, silmän ärtymistä ei pidä enää testata.

1.4.2.5 *Paikallisuudutusaineet*

Paikallisuudutusainetta voidaan käyttää tapauskohtaisesti. Jos painoarvoanalyysi tai vaiheittainen menettely osoittaa, että aine saattaa aiheuttaa tuskia, tai jos alkutestissä on todettu kipureaktio, paikallisuudutusainetta voidaan antaa ennen testiaineen annostelua. Paikallisuudutusaineen laji, konsentraatio ja annos on valittava huolellisesti, jotta varmistetaan, että erot testiaineen aiheuttamissa reaktioissa eivät johdu puudutusaineesta. Testiaineella käsittelemätön silmä on puudutettava samalla tavoin.

1.4.2.6 *Vahvistustesti (in vivo -silmiä-ärsyttävyyttä useille eläimille)*

Jos alkutestissä ei havaita syövyttävää vaikutusta, ärsyttävyyttä tai negatiivinen vaste on vahvistettava testaamalla vielä enintään kaksi eläintä. Jos alkutestissä todetaan voimakas ärsyttävä vaikutus, joka viittaa mahdolliseen voimakkaaseen (korjautumattomaan) vaikutukseen vahvistustestissä, on suositeltavampaa tehdä vahvistustesti vaiheittaisen menettelyn mukaan yhdelle eläimelle kerrallaan kuin altistaa uudet kaksi eläintä samalla kertaa. Jos toisella eläimellä esiintyy syöpymisoireita tai vakavia ärsytysoireita, testiä ei jatketa. Heikon tai keskinkertaisen ärsyttävän vaikutuksen vahvistamiseksi saattaa olla tarpeen testata useampia eläimiä.

#### 1.4.2.7 *Tarkkailujakso*

Tarkkailujakson on oltava riittävän pitkä havaittujen vaikutusten voimakkuuden ja korjautuvuuden arvioimiseksi täydellisesti. Testi on kuitenkin lopetettava heti, jos eläin osoittaa jatkuvia kovien tuskien tai stressin merkkejä (9). Vaikutusten korjautuvuuden määrittämiseksi eläimiä on tarkkailtava tavallisesti 21 päivän ajan testiaineen antamisen jälkeen. Jos korjautuvuus todetaan ennen kuin 21 päivää on kulunut, testi on lopetettava silloin.

#### 1.4.2.7.1 *Kliiniset havainnot ja silmäreaktioiden pisteytys*

Silmät tutkitaan 1, 24, 48 ja 72 tuntia testiaineen annostelun jälkeen. Eläintä ei saa pitää testattavana sen jälkeen kun lopulliset tiedot on saatu. Eläimet, jotka osoittavat jatkuvia stressin tai vakavien tuskien merkkejä, on viipymättä lopetettava inhimillisellä tavalla, ja tämä on otettava huomioon testiaineen vaikutusten arvioinnissa. Inhimillisellä tavalla on lopetettava eläimet, joilla esiintyy testiaineen annostelun jälkeen seuraavia silmävammoja: sarveiskalvon puhkeaminen tai huomattava sarveiskalvon haavauma mukaan luettuna pullistuma, verta silmän etukammiossa, asteen 4 sarveiskalvosamentuma, joka jatkuu 48 tuntia, valorefleksin puuttuminen (värikalvon vaste 2), joka jatkuu 72 tuntia, sidekalvon haavauma, sidekalvon tai vilkkukalvon kuolio tai arpeutuminen. Näin menetellään siksi, että kyseiset vauriot ovat yleensä korjautumattomia.

Eläimet, joille ei kehity silmävammoja, voidaan lopettaa aikaisintaan kolme päivää testiaineen annostelun jälkeen. Eläimiä, joilla esiintyy lieviä tai keskinkertaisia vaurioita, on tarkkailtava, kunnes vauriot häviävät, tai 21 päivää, jolloin testi lopetetaan. Havainnot on tehtävä päivinä 7, 14 ja 21, jotta voidaan määrittää vaurioiden tila ja niiden korjautuvuus tai korjautumattomuus.

Silmäreaktioiden (sidekalvon, sarveiskalvon ja värikalvon) asteet on kirjattava joka kerta, kun eläintä tutkitaan (taulukko I). Kaikki muut silmävauriot (esimerkiksi sarveiskalvoverho, värjäytyminen) tai koko elimistöön kohdistuvat haittavaikutukset on myös raportoitava.

Reaktioiden tutkimista helpottaa luuppilasien, lampun, biomikroskoopin tai muiden sopivien laitteiden käyttö. Kun havainnot on kirjattu 24 tunnin jälkeen, silmiä voidaan edelleen tutkia fluoreskeini avulla.

Silmävasteiden pisteytys on väistämättä subjektiivista. Silmävasteiden pisteytyksen yhdenmukaistamiseksi sekä testilaboratorion ja havaintoja tekevien ja tulkitsevien henkilöiden työn helpottamiseksi havaintoja tekevän henkilöstön on oltava riittävän perehtynyttä pisteytysjärjestelmään. Silmävasteiden pisteytys on arvioitava sokkona.

## 2. MÄÄRITYSTULOKSET

### 2.2 TULOSTEN ARVIOINTI

Silmä-ärsytyspisteet on arvioitava yhdessä vammojen luonteen ja vakavuuden sekä niiden korjautuvuuden tai korjautumattomuuden kanssa. Yksittäiset pisteet eivät edusta aineen ärsyttävyyssominaisuuksien absoluuttista tasoa, koska testiaineen muutkin vaikutukset ovat arvioinnissa mukana. Sen sijaan yksittäisiä pisteitä pitäisi tarkastella viitearvoina, jotka ovat merkitseviä vain, kun kaikki muut havainnot ja niiden arviointi tukevat pisteiden antamaa tietoa.

### 3. TULOSTEN ILMOITTAMINEN

#### 3.1 LOPPURAPORTTI

Loppuraportti on annettava seuraavat tiedot:

Perustelut *in vivo* -testin tekemiselle: aiemmista tutkimuksista saatujen testitulosten painoarvon analyysi, mukaan luettuna vaiheittaisen menettelyn tulokset:

- aiemmista testeistä saatujen relevanttien tulosten kuvaus
- testimenettelyn kustakin vaiheesta saadut tulokset
- kuvaus tehdyistä *in vitro* -testeistä, mukaan luettuna niiden suorittamistapa ja testi-/viiteaineesta saadut tulokset
- kuvaus tehdyistä *in vivo* -ihoärsyttävyyssyövyttävyysteesteistä sekä niiden tulokset
- painoarvoanalyysi *in vivo* -testiä varten.

Testiaine:

- tunnistetiedot (esimerkiksi CAS-numero, alkuperä, puhtaus, tunnetut epäpuhtaudet, eränumero)
- fysikaalinen olomuoto ja fysikokemialliset ominaisuudet (esimerkiksi pH, haihtuvuus, liukoisuus, stabiilius, reaktiivisuus veden kanssa)
- jos kyseessä on seos, sen koostumus ja ainesosien suhteellinen osuus
- jos on käytetty paikallispuudutusainetta, sen tunnistetiedot, puhtaus, laji, annos ja mahdollinen vuorovaikutus testiaineen kanssa.

Kantaja-aine:

- tunnistetiedot, konsentraatio (tilanteen mukaan), käytetty tilavuus
- perustelut kantaja-aineen valinnalle.

Koe-eläimet:

- käytetty laji ja kanta, perustelut muiden eläinten kuin albiinokaniinien käytölle
- eläinten ikä testin alussa
- uros- ja naaraseläinten määrä testi- ja kontrolliryhmissä (jos tarpeen)
- eläinryhmien paino testin alussa ja lopussa
- eläinten alkuperä, häkkijärjestelyt, ruokavalio ja niin edelleen.

Tulokset:

- kuvaus ärsytyksen pisteytyksessä käytetystä välineestä kullakin havaintokerralla (esimerkiksi lamppu, biomikroskooppi, fluoreskeini)
- taulukkomuotoiset tiedot kunkin eläimen ärsytys-/syöpymisvasteesta kullakin havaintokerralla siihen asti, kun eläin on poistettu testistä
- sanallinen kuvaus havaitun ärsytyksen/syöpymisen luonteesta ja asteesta
- kuvaus kaikista silmässä havaituista vaurioista (esimerkiksi verisuonittuminen, sarveiskalvoverhon muodostus, umpeen muurautuminen, värjäytyminen)
- kuvaus muualle kuin silmään kohdistuvista vaurioista sekä koko elimistöön kohdistuvista haittavaikutuksista ja mahdolliset histopatologiset löydökset.

Tulosten pohdinta.

#### 3.2 TULOSTEN TULKINTA

Koe-eläimille tehtyjen silmä-ärsytystestien tulosten ekstrapolointi ihmisiä koskeviksi on vain rajoitetusti pätevää. Monissa tapauksissa albiinokaniini on ihmistä herkempi silmää ärsyttävälle tai syövyttävälle aineille.

Tulosten tulkinnassa on huolellisesti erotettava sekundäärisestä tulehduksesta johtuva ärsytys.

## 4. LÄHDELUETTELO

- (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. and Fentem J. H. (1999). A general approach for evaluating stepwise testing strategies ATLA 27, 161–177.
- (4) Young, J. R., How, M. J., Walker, A. P., Worth W. M. H. (1988). Classification as Corrosive or Irritant to Skin of Preparations Containing Acidic or Alkaline Substance Without Testing on Animals. Toxicol. *In Vitro*, 2, 19–26.
- (5) Neun, D. J. (1993). Effects of Alkalinity on the Eye Irritation Potential of Solutions Prepared at a Single pH. J. Toxicol. Cut. Ocular Toxicol. 12, 227–231.
- (6) Fentem, J. H., Archer, G. E. B., Balls, M., Botham, P. A., Curren, R. D., Earl, L. K., Edsaile, D. J., Holzhutter, H. G. and 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) Testimenetelmä B.40. Ihosyövyttävyyys.
- (7) Testimenetelmä B.4. Akuutti toksisuus: ihoärsyttävyyss/-syövyttävyyys.
- (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. Pidetty Solnassa, Ruotsissa, 22.–24. tammikuuta 1996 (<http://www.oecd.org/ehs/test/background.htm>).
- (9) OECD (1998). Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, as endorsed by the 28<sup>th</sup> Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, marraskuu 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>).

### TAULUKKO I: SILMÄVAURIOIDEN PISTEYTYS

#### Sarveiskalvo

Samentuma: tiheysaste (mittausarvot otettava tiheimmästä kohdasta)\*

Ei haavaumia tai samentumaa .....	0
Yksittäisiä tai hajanaisia samentuma-alueita (muu kuin lievä normaalin kiillon himmentyminen); värikalvon yksityiskohdat selvästi nähtävissä .....	1
Selvästi erottuva läpinäkyvä alue; värikalvon yksityiskohdat hiukan peittyneet .....	2
Helmiäishohtoinen alue; värikalvon yksityiskohtia ei erotu lainkaan; pupilli tuskin erottuva .....	3
Samea sarveiskalvo; värikalvo ei erotu samentuman läpi .....	4

Suurin mahdollinen pistemäärä: 4

\* Sarveiskalvosamentuman alue on mainittava

#### Värikalvo

Normaali .....	0
Selvästi syventyneet poimut, verentungosta, turvotusta, keskinkertaista verekkyyttä sarveiskalvon ympärillä; värikalvon reagoiminen valoon (viivästynyt reaktio katsotaan testiaineen vaikutukseksi).....	1
Verenvuotoa, vakavasti tuhoutunut värikalvo tai ei reaktiota valoon .....	2

Suurin mahdollinen pistemäärä: 2

#### Sidekalvo

Normaali punaisuus (viittaa luomen ja silmämunan sidekalvoon; pois lukien sarveiskalvo ja värikalvo).....	0
Joitakin hypereemisiä verisuonia .....	1
Laajalle levinnyt helakka punaisuus; yksittäiset suonet eivät erotu selvästi .....	2
Laajalle levinnyt voimakas punaisuus .....	3

Suurin mahdollinen pistemäärä: 3

#### Sidekalvopöhö

Turvotus (viittaa luomiin ja/tai vilkkukalvoon)

Normaali .....	0
Hiukan normaalia enemmän turvotusta .....	1
Selvää turvotusta, luomet osittain kääntyneet ympäri .....	2
Turvotusta, luomet puoliksi muurautuneet umpeen .....	3
Turvotusta, luomet enemmän kuin puoliksi muurautuneet umpeen .....	4

Suurin mahdollinen pistemäärä: 4

## LIITE

## Silmä-ärsyttävyyden ja -syövyttävyyden vaiheittainen testaus

## YLEISIÄ NÄKÖKOHTIA

Sekä järkevien tieteellisten menettelytapojen että eläinten hyvinvoinnin vuoksi on tärkeää välttää tarpeettomia eläinkokeita ja tehdä mahdollisimman vähän sellaisia testejä, jotka todennäköisesti aiheuttavat elämissä vakavia vasteita. Ennen *in vivo* -testin suunnittelemista on arvioitava kaikki tiedot testiaineen mahdollisesta silmä-ärsyttävyydestä/-syövyttävyydestä. Riittävät todisteet testiaineen silmä-ärsyttävyyden/-syövyttävyyden luokitteluksi voivat jo olla olemassa, jolloin koe-eläintestejä ei tarvita. Painoarvoanalyysin ja vaiheittaisen menettelyn käyttö vähentää *in vivo* -testien tarvetta, erityisesti jos on todennäköistä, että testiaine aiheuttaa vakavia reaktioita.

On suositeltavaa arvioida aineiden silmä-ärsyttävyydestä/-syövyttävyydestä saatavissa olevien tietojen painoarvo, jotta voidaan päättää, tarvitaanko aineen silmä-ärsyttävyysspotentiaalin määrittämiseksi muita testejä kuin *in vivo* -silmitesti. Jos muita testejä tarvitaan, on suositeltavaa käyttää vaiheittaista menettelyä relevanttien koetulosten hankkimiseksi. Jos ainetta ei ole testattu aikaisemmin, vaiheittaisen menettelyn avulla voidaan hankkia silmä-ärsyttävyyden/-syövyttävyyden arviointiin tarvittavat tulokset. Tässä liitteessä kuvattu testimenettely on kehitetty OECD:n seminaarissa (1), ja se on vahvistettu ja laajennettu myöhemmin järjestelmässä *Harmonised Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances*, sellaisena kuin se vahvistettiin kemikaalikomitean ja kemikaalityöryhmän 28. yhteisessä kokouksessa marraskuussa 1998 (2).

Vaikka tämä vaiheittainen testausstrategia ei ole olennainen osa testimenetelmää B.4, siinä kuvataan suositeltavaa lähestymistapaa aineen silmä-ärsyttävyyden/-syövyttävyyssominaisuuksien määrittämiseen. Tämä lähestymistapa edustaa sekä parhaita käytäntöjä että eettistä vertailukohdetta silmä-ärsyttävyyden/-syövyttävyyden *in vivo* -testauksessa. Siinä annetaan ohjeita *in vivo* -testin suorittamiseen ja esitetään yhteenvedo tekijöistä, jotka on käsiteltävä ennen testin aloittamista. Strategia tarjoaa lähestymistavan aiemmin saatujen tulosten arviointiin testiaineen silmä-ärsyttävyyden/-syövyttävyyssominaisuuksien selvittämiseksi, ja sen avulla voidaan vaihe vaiheelta tuottaa merkitseviä tuloksia aineista, joista tarvitaan lisätietoja tai joita ei ole aikaisemmin tutkittu. Strategiassa suositellaan myös tietyissä tapauksissa käyttämään validoituja ja hyväksytyjä *in vitro*- tai *ex vivo* -testejä silmä-ärsyttävyyden/-syövyttävyyden toteamiseksi (3)(4).

## VAIHEITTAISEN TESTAUSSTRATEGIAN KUVAUS

Ennen vaiheittaiseen menettelyyn sisältyvien testien suorittamista (kaavio) on analysoitava kaikki saatavissa olevat tiedot, jotta *in vivo* -silmitestauksen tarve voidaan määrittää. Vaikka yksittäisistä parametreista (esimerkiksi äärimmäiset pH-arvot) voidaan saada merkitseviä tietoja, on syytä ottaa huomioon tulokset kokonaisuudessaan. Kaikkien kyseessä olevan aineen tai sitä rakenteeltaan vastaavan aineen vaikutustietojen painoarvo on arvioitava testauspäätöksen yhteydessä, ja päätökselle on esitettävä perustelut. Ensimmäiseksi on painotettava sekä ihmis- että eläintesteillä aineesta aiemmin saatuja tuloksia ja seuraavaksi *in vitro*- tai *ex vivo* -testien tuloksia. Syövyttävien aineiden *in vivo* -testejä on vältettävä aina kun se on mahdollista. Testimenettelyssä on otettava huomioon seuraavat asiat:

*Ihmisillä ja eläimillä aiemmin saatujen tulosten arviointi (vaihe 1).* Aiemmat ihmisillä saadut tulokset, esimerkiksi kliiniset tai työperäiseen altistukseen liittyvät tutkimustulokset ja tapausselostukset ja/tai eläinkokeiden tulokset silmitesteistä, on otettava ensiksi huomioon, koska niistä saadaan suoraan aineen silmävaikutuksiin liittyviä tietoja. Sen jälkeen on arvioitava saatavissa olevat tiedot ihmisillä ja/tai eläimillä tehdyistä ihoärsyttävyyden/-syövyttävyydesteistä. Eläinten silmiin ei saa annostella aineita, joiden tiedetään olevan syövyttäviä tai voimakkaasti ärsyttäviä, eikä aineita, joilla on ihoa ärsyttävä/syövyttävä vaikutus; sellaisten aineiden voidaan katsoa vaikuttavan samoin myös silmiin. *In vivo* -testejä ei tarvitse tehdä aineille, joiden silmä-ärsyttävyys tai -syövyttävyys tiedetään, eikä aineille, joista on selvästi todistettu, että ne eivät ole ärsyttäviä tai syövyttäviä.

*Rakenne-aktiivisuusanalyysi (SAR) (vaihe 2).* Jos saatavilla on rakenteellisesti samankaltaisten aineiden testituloksia, ne on otettava huomioon. Kun rakenteellisesti samankaltaisista aineista tai niitä sisältävistä seoksista on saatavilla riittävästi ihmisille tehtyjen testien ja eläinkokeiden tuloksia, jotka osoittavat niiden silmä-ärsyttävyyden/-syövyttävyyden potentiaalin, voidaan olettaa, että arvioitava testiaine tuottaa samanlaiset vasteet. Tällaisessa tapauksessa ainetta ei kenties tarvitse testata. Negatiiviset tulokset rakenteellisesti samankaltaisten aineiden tai sellaisista aineista koostuvien seosten tutkimuksista eivät vaiheittaisessa menettelyssä ole riittävä todiste siitä, että aine ei ole ärsyttävä tai syövyttävä. Sekä silmä- että ihoärsyttävyyden ja -syövyttävyyden on selvitettävä validoitujen ja hyväksytyjen SAR-menettelytapojen avulla.

*Fysikokemialliset ominaisuudet ja kemiallinen reaktiivisuus (vaihe 3).* Aineella, jolla esiintyy äärimmäisiä pH-arvoja, kuten  $\leq 2,0$  ja  $\geq 11,5$ , voi olla voimakkaita paikallisia vaikutuksia. Jos aine määritetään silmää syövyttäväksi äärimmäisen pH-arvon perusteella, sen happo-/emäsreservi (eli puskurointikyky) voidaan myös ottaa huomioon (5)(6). Jos puskurointikyky viittaa siihen, että aine ei ole silmää syövyttävä, tämän vahvistamiseksi on tehtävä jatkotesti, jonka ensisijaisesti oltava validoitu ja hyväksytty *in vitro*- tai *ex vivo*-testi (katso vaiheet 5 ja 6).

*Muiden aiempien tietojen ottaminen huomioon (vaihe 4).* Kaikki saatavissa olevat tiedot koko elimistöön ihon kautta kohdistuvasta toksisuudesta on arvioitava tässä vaiheessa. Testiaineen akuutti toksisuus ihon kautta saatuna on myös otettava huomioon. Jos testiaine on osoitettu erittäin toksiseksi ihon kautta saatuna, sitä ei kenties tarvitse testata silmille. Vaikkakaan akuutin ihotoksisuuden ja silmä-ärsyttävyyden/-syövyttävyyden välillä ei välttämättä ole suhdetta, voidaan olettaa, että jos aine on erittäin toksinen ihon kautta saatuna, se on erittäin toksinen myös silmään annosteltuna. Tällaiset tiedot voidaan ottaa huomioon myös vaiheiden 2 ja 3 välissä.

*In vitro- tai ex vivo -testien tulokset (vaiheet 5 ja 6).* Aineita, joilla on todettu olevan syövyttäviä tai vakavasti ärsyttäviä ominaisuuksia validoiduissa ja hyväksytyissä, nimenomaan silmä- ja ihoärsyttävyyden/-syövyttävyyden mittaamista varten kehitetyissä *in vitro*- tai *ex vivo*-testeissä (7)(8), ei tarvitse testata eläimillä. Voidaan olettaa, että tällaiset aineet aiheuttavat samoja vaikutuksia *in vivo*-testeissä. Jos validoituja ja hyväksytyjä *in vitro/ex vivo*-testejä ei ole saatavissa, vaiheet 5 ja 6 ohitetaan ja siirrytään suoraan vaiheeseen 7.

*Testiaineen in vivo -ihoärsyttävyyden/-syövyttävyyden arviointi (vaihe 7).* Kun testiaineesta ei ole saatavilla riittäviä todisteita painoarvoanalyysin ja lopullisen johtopäätöksen tekemiseksi testiaineen ihoärsyttävyyden/-syövyttävyyden potentiaalista edellä lueteltujen tutkimusten tietojen perusteella, *in vivo*-ihoärsyttävyyden/-syövyttävyyden potentiaali on arvioitava ensiksi testimenetelmän B.4 (4) ja sen liitteen mukaisesti (9). Jos aineen on osoitettu aiheuttavan ihon syöpymistä tai vakavaa ärsytystä, sitä on syytä pitää syövyttävänä ja silmä-ärsytystä aiheuttavana, mikäli muut tiedot eivät tue toisenlaista johtopäätöstä. Tällöin *in vivo*-silmitestiä ei tarvita. Jos aine ei ole ihoa syövyttävä tai vakavasti ärsyttävä, *in vivo*-silmitesti on tehtävä.

*In vivo -testi kaniineilla (vaiheet 8 ja 9).* *In vivo*-silmitesti on aloitettava testaamalla ensin yksi eläin. Jos tämän testin tulokset osoittavat, että aine on silmiä vakavasti ärsyttävä tai syövyttävä, jatkotestiä ei pidä tehdä. Jos alkutestissä ei todeta vakavasti ärsyttävää tai syövyttävää vaikutusta, ärsyttävyyden tai negatiivinen vaste on vahvistettava testaamalla vielä enintään kaksi eläintä.

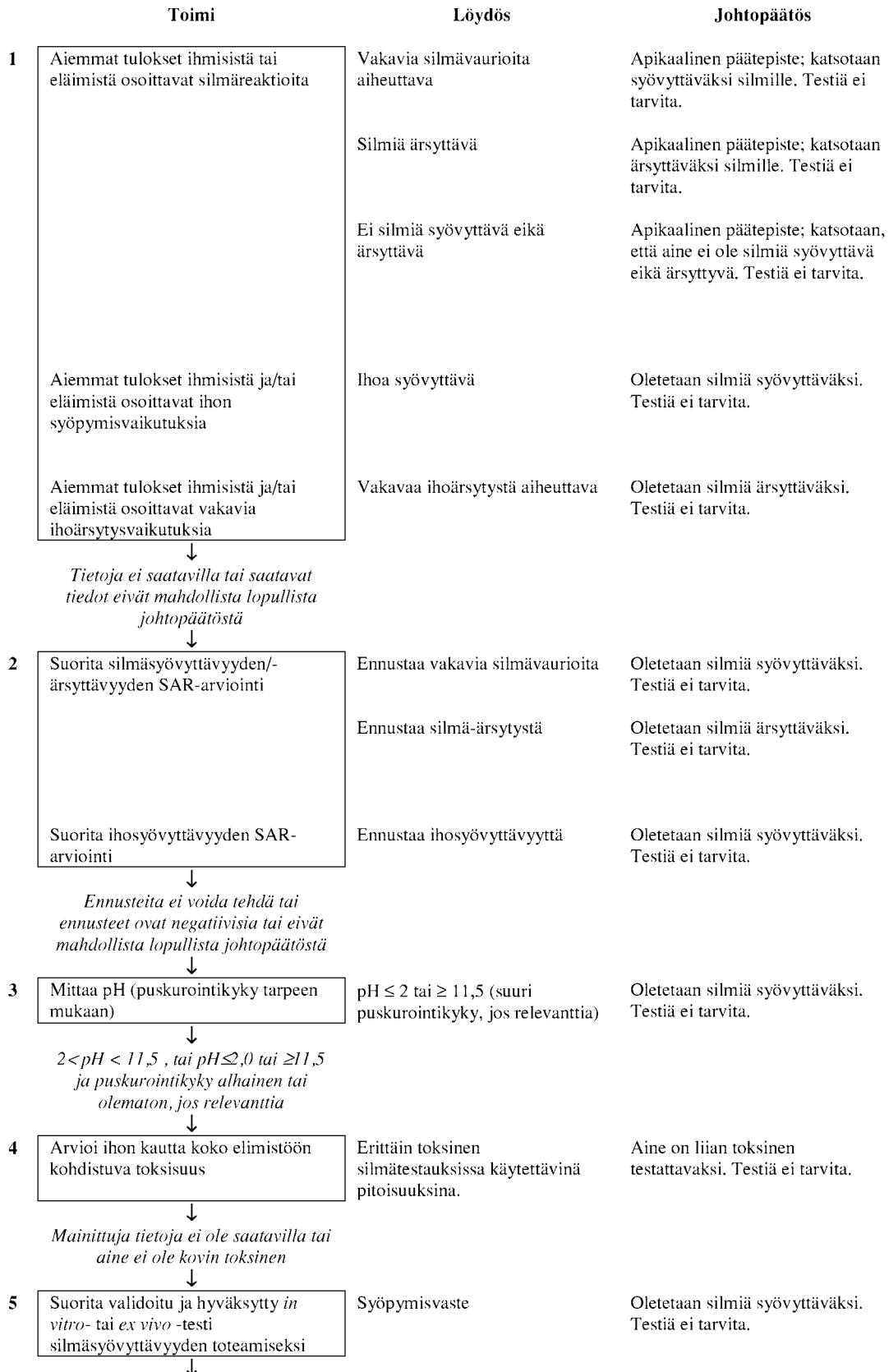
## LÄHDELUETTELO

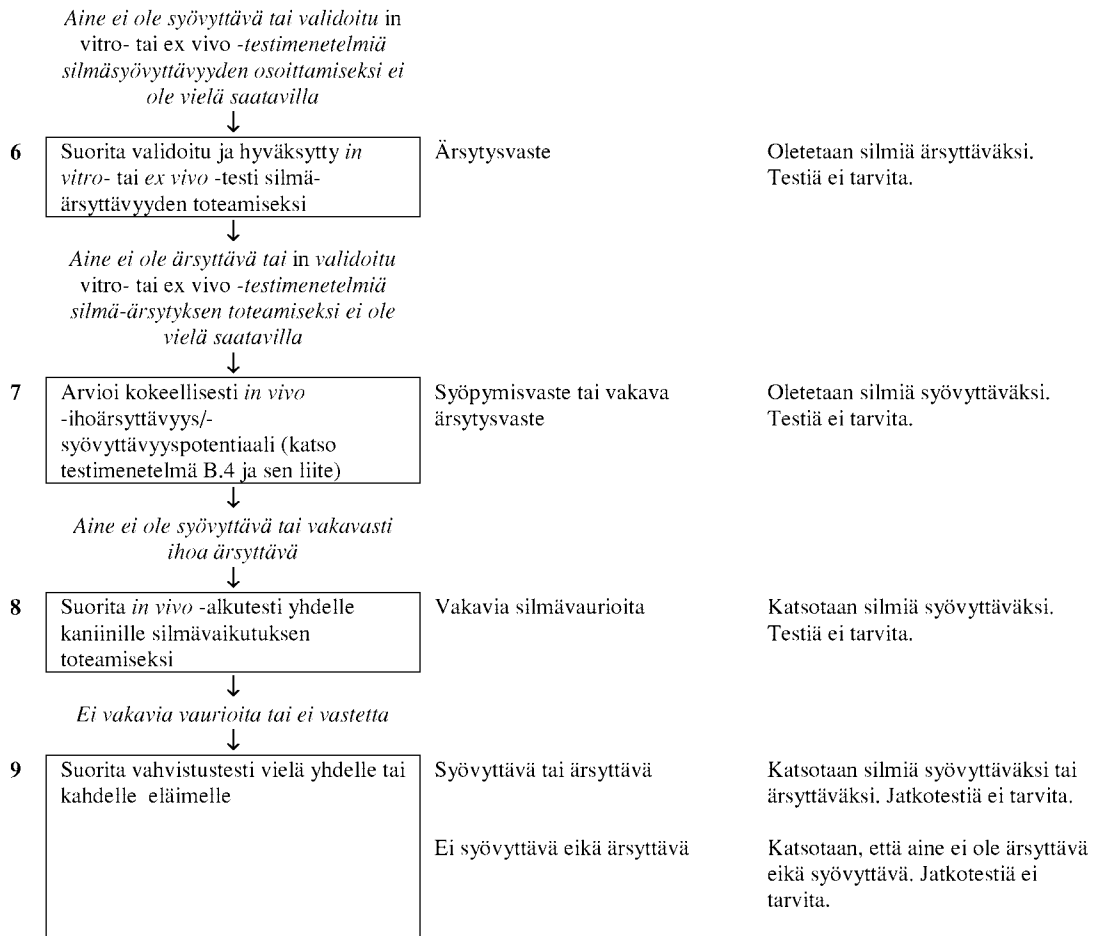
- 1) OECD (1996). OECD Test Guidelines Programme: Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Pidetty Solnassa, Ruotsissa 22.–24. tammikuuta 1996 (<http://www1.oecd.org/ehs/test/background.htm>).
- 2) OECD (1998).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

- 7) Fentem, J. H., Archer, G. E. B., Balls, M., Botham, P. A., Curren, R. D., Earl, L. K., Edsail, D. J., Holzhutter, H. G. and 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) Testimenetelmä B.40. Ihosyövyttävyyden.
- 9) Testimenetelmän B.4 liite: Ihoärsyttävyyden ja -syövyttävyyden vaiheittainen tutkimusmenettely.

## KAAVIO

## SILMÄ-ÄRSYTTÄVYYDEN/-SYÖVYTTÄVYYDEN TESTAUS- JA ARVIOINTIMENETTELY





## **LIITE 2F**

### B.31. PRENATAALISEN KEHITYKSEN AIKAISTEN MYRKYLLISYYSVAIKUTUSTEN TUTKIMUS

#### 1. MENETELMÄ

Tämä menetelmä on toisinto OECD:n testiohjeesta nro 414 (2001).

#### 1.1 JOHDANTO

Tämän sikiönkehityksen aikaisten myrkyllisyysvaikutusten testimenetelmän tarkoitus on hankkia yleistä tietoa syntymää edeltävän altistuksen vaikutuksista tiineeseen koe-eläimeen ja sen kohdussa kehittyvään organismiin. Testiin voi sisältyä emoon kohdistuvien vaikutusten arviointi sekä sikiön kuoleman, rakenteellisten epämuodostumien tai poikkeavan kehityksen arviointi. Sikiön toiminnallisia häiriöitä, jotka ovat tärkeä osa kehitystä, ei tutkita tässä menetelmässä. Niitä voidaan tutkia erillisellä testillä tai tämän testin ohessa käyttämällä hermostonkehitykseen kohdistuvia myrkyllisyysvaikutuksia selvittävää menetelmää. Toiminnallisten häiriöiden ja muiden syntymän jälkeisten vaikutusten testauksesta saa tietoa kahden sukupolven reproduktiivisten myrkyllisyysvaikutusten tutkimusmenetelmästä sekä hermostonkehitykseen kohdistuvien myrkyllisyysvaikutusten menetelmästä soveltuvin osin.

Tätä testimenetelmää voidaan joutua mukauttamaan yksittäistapauksissa testiaineen fysikokemiallisten tai toksikologisten ominaisuuksien mukaan. Mukauttaminen on hyväksyttävää, jos on olemassa vakuuttavaa tieteellistä viitettä, että testi olisi siten informatiivisempi. Jos testiä mukautetaan, on mainittu tieteellinen näyttö dokumentoitava huolellisesti tutkimusraportissa.

#### 1.2 MÄÄRITELMÄT

**Kehitystoksikologia:** Tieteenala, joka tutkii kehittyvässä organismissa esiintyviä haittavaikutuksia, jotka voivat aiheutua altistuksesta ennen hedelmöitymistä, syntymää edeltävän kehityksen aikana tai syntymän jälkeisenä aikana sukukypsyyksiin asti. Sikiönkehityksen aikaisten myrkyllisyysvaikutusten tärkeimmät ilmenemismuodot ovat 1) organismin kuolema 2) rakenteelliset epämuodostumat 3) poikkeava kasvu sekä 4) toiminnalliset häiriöt. Aikaisemmin kehitystoksikologiaa kutsuttiin usein teratologiaksi.

**Haittavaikutus:** Sellainen käsittelyyn liittyvä poikkeama perustasosta, joka vähentää organismin kykyä pysyä hengissä, lisääntyä tai sopeutua ympäristöön. Kehitystoksikologian kannalta haittavaikutus on laajimmassa merkityksessään mikä tahansa vaikutus, joka haittaa conceptuksen normaalia kehitystä sekä ennen syntymää että syntymän jälkeen.

**Poikkeava kehitys:** Poikkeama poikasen elinten tai ruumiin painossa tai koossa.

**Poikkeamat (epämuodostumat):** Kehityksessä ilmenevät rakenteelliset poikkeamat, joihin sisältyvät sekä epämuodostumat että vaihtelu (28).

**Epämuodostuma/merkittävä epänormaalius:** Rakenteellinen muutos, joka katsotaan eläimelle haitalliseksi (voi olla myös letaali) ja jota esiintyy harvoin.

**Vaihtelu / vähäinen epänormaalius:** Rakenteellinen muutos, joka katsotaan eläimelle vähän tai ei lainkaan haitalliseksi. Muutos voi olla ohimenevä ja esiintyä suhteellisen usein vertailupopulaatiossa.

**Hedelmöitymisen tulos (conceptus):** Kaikki hedelmöityneestä munasolusta kehittyneet kudokset kaikissa kehitysvaiheissa hedelmöitymisestä syntymään asti. Sisältää alkion tai sikiön sekä sikiökalvot ja istukan.

**Implantaatio:** Blastokystan kiinnittyminen kohdun epiteeliin, mukaan lukien tunkeutuminen epiteelin läpi ja kiinnittyminen endometriumiin.

**Alkio:** Organismien varhais- tai kehitysvaihe, erityisesti munasolun hedelmöitymisen tuote pituusakselin ilmaantumisen jälkeen siihen saakka, kunnes keskeiset rakenteet ovat kehittyneet.

**Alkioon kohdistuva myrkyllisyysvaikutus:** Alkion normaalia rakennetta, kehitystä, kasvua ja/tai elinkelpoisuutta haittaava vaikutus.

**Sikiö:** Syntymätön organismi alkiokehityksen jälkeen.

**Sikiöön kohdistuva myrkyllisyysvaikutus:** Sikiön normaalia rakennetta, kehitystä, kasvua ja/tai elinkelpoisuutta haittaava vaikutus.

**Tiineyden keskeytyminen (abortoituminen):** Hedelmöitymisen tulosten (alkion tai elinkelvottoman sikiön) ennenaikainen poistuminen kohdusta.

**Resorptio:** Implantaation jälkeen kuollut conceptus, joka resorboituu parhaillaan tai on jo resorboitunut.

**Varhainen resorptio:** Todistettavasti tapahtunut implantaatio ilman tunnistettavaa alkiota tai sikiötä.

**Myöhäinen resorptio:** Kuollut alkio tai sikiö, jossa näkyy ulkoisia degeneratiivisia muutoksia.

**NOAEL:** Lyhennys määritelmälle "no-observed-adverse-effect level" (haitaton vaikutustaso). Korkein annos- tai altistustaso, jolla ei havaita mitään haitallisia käsittelyyn liittyviä vaikutuksia.

### 1.3 VERTAILUAINE

Ei käytössä.

### 1.4 TESTIMENETELMÄN PERIAATE

Testiainetta annetaan tiineille eläimille ainakin implantaation ja eläimen suunnitellun lopettamisen välisenä aikana. Lopettaminen on tehtävä mahdollisimman lähellä normaalia synnytyspäivää välttäen kuitenkin sitä, että menetettäisiin tutkimustietoja ennenaikaisen synnytyksen johdosta. Testimenetelmän tarkoitus ei ole tutkia yksinomaan organogeneesiin eli elinten muodostumisen jaksoa (jyrsijöillä päivät 5–15, kaniinilla päivät 6–18), vaan myös soveltuviissa tapauksissa koko tiineyden aikaisia vaikutuksia alkaen ennen implantaatiota ja päättyen sekotiota edeltävään päivään. Hiukan ennen sekotiota naaraat lopetetaan, niiden kohdunsisältö tutkitaan ja sikiöistä tutkitaan ulkoiset näkyvät epämuodostumat sekä pehmytkudosten ja luuston muutokset.

### 1.5 TESTIMENETELMÄN KUVAUS

#### 1.5.1 Eläinlajin valinta

Testissä suositellaan käytettäväksi parhaiten soveltuvaa eläinlajia sekä sellaisia laboratorioeläinlajeja ja -kantoja, joita käytetään yleisesti syntymää edeltävien myrkyllisyysvaikutusten tutkimuksessa. Jyrsijöistä suositeltava koe-eläin on rotta ja muista eläimistä kaniini. Muiden lajien käyttö on erikseen perusteltava.

#### 1.5.2 Koe-eläintilat ja eläinten ruokinta

Koe-eläinhuoneen lämpötilan tulee olla jyrsijöillä 22 °C ( $\pm 3^{\circ}$ ) ja kaniineilla 18 °C ( $\pm 3^{\circ}$ ). Vaikka riittää, että suhteellinen kosteus on vähintään 30 % eikä mielellään ylitä 70 %:a muulloin kuin huoneen puhdistuksen aikana, pitäisi kuitenkin pyrkiä 50–60 %:n suhteelliseen kosteuteen. Huoneessa tulee käyttää keinovalaistusta 12 tunnin jaksoissa (12 tuntia valoa, 12 tuntia pimeää). Eläinten ruokinnassa voidaan käyttää normaalia laboratorioruokavaliota, eikä juomaveden määrää saa rajoittaa.

Pariutumisen tulee tapahtua tarkoitukseen sopivissa häkeissä. Pariutumisen jälkeen on suositeltavaa pitää kukin eläin omassa häkissään, mutta myös muutaman eläimen pitäminen samassa häkissä on hyväksyttävää.

### 1.5.3 **Eläinten valmistelu**

Testissä tulee käyttää terveitä eläimiä, jotka on totutettu laboratorio-olosuhteisiin vähintään viiden vuorokauden ajan ja joita ei ole aiemmin käytetty testeihin. Koe-eläinten laji, kanta, alkuperä, sukupuoli, paino ja/tai ikä on tunnettava. Eläinten tulee kaikissa testiryhmissä olla samanpainoisia ja -ikäisiä niin tarkasti kuin on käytännössä mahdollista. Kullakin annostasolla tulee käyttää nuoria täysikasvuisia naaraita, jotka eivät ole synnyttäneet. Naaraat tulee parittaa saman lajin ja kannan urosten kanssa, ja sisarusten paritumista tulee välttää. Jyrsijöillä tiineyden alkupäivä (päivä 0) on se, jolloin vaginan tulpitus ja/tai sperma havaitaan; kaniineilla se on yleensä paritumisen tai keinosiemennyksen päivä, mikäli keinosiemennystä käytetään. Häkit on sijoitettava siten, että häkin sijainnista johtuvat vaikutukset ovat mahdollisimman vähäisiä. Kullekin eläimelle annetaan oma tunnistenumero. Paritetut naaraat jaetaan satunnaisesti kontrolli- ja testiryhmään, ja jos naaraat on paritettu erissä, kunkin erän eläimet tulee jakaa tasaisesti molempiin ryhmiin. Samoin on meneteltävä saman uroksen hedelmöittämien naaraiden kohdalla.

## 1.6 **TESTIN SUORITUS**

### 1.6.1 **Eläinten määrä ja sukupuoli**

Kussakin testi- ja kontrolliryhmässä tulee olla niin paljon naaraita, että ruumiinavaukseen saadaan noin 20 eläintä, joilla implantaatio voidaan havaita. Ryhmät, joissa tällaisia eläimiä on vähemmän kuin 16, eivät mahdollisesti ole asianmukaisia. Emoien kuolleisuus ei välttämättä heikennä tutkimuksen validiteettia, mikäli kuolleisuus ei ylitä keskimäärin 10 %:a.

### 1.6.2 **Annosten valmistelu**

Jos annostelun helpottamiseksi käytetään kantaja-ainetta tai muuta lisäainetta, on syytä selvittää sen vaikutus testiaineen absorboitumiseen ja jakautumiseen, testiaineen metaboloitumiseen, elimistössä säilymiseen ja eritykseen. Lisäksi on selvitettävä sellaiset vaikutukset testiaineen kemiallisiin ominaisuuksiin, jotka saattavat muuttaa testiaineen myrkyllisyyttä, sekä vaikutukset koe-eläinten ravinnon ja juoman nauttimiseen tai ravitsemustilaan. Kantaja-aineella ei saa olla sikiönkehitykseen tai lisääntymiseen kohdistuvia myrkyllisyysvaikutuksia.

### 1.6.3 **Annostasot**

Normaalisti testiainetta annetaan päivittäin alkaen implantaatiosta (esim. päivä 5 pariutumisen jälkeen) suunniteltua sektiota edeltävään päivään asti. Jos aikaisemmat tutkimukset, mikäli sellaisia on tehty, eivät osoita merkittävää ennen implantaatiota tapahtuvan alkionmenetyksen mahdollisuutta, ainetta voidaan antaa koko tiineyden ajan parittelusta eläimen suunniteltua lopettamista edeltävään päivään. Eläimen virheellinen käsittely tai tiineyden aikainen stressi voivat johtaa sikiön menetykseen. Jotta sikiön menetyksistä muista kuin testiin liittyvistä syistä estettäisiin, tiineiden eläinten tarpeetonta käsittelyä sekä ulkoisten tekijöiden kuten melun aiheuttamaa stressiä tulee välttää.

Testissä tulee käyttää vähintään kolmea annostasoja ja testin kanssa samaan aikaan tehtäviä kontroleja. Terveet eläimet jaetaan satunnaisesti kontrolli- ja testiryhmään. Annostasojen välit määritetään siten, että toksiset vaikutukset saadaan porrastettua. Jos testiaineen fysikaalinen/kemiallinen olomuoto tai biologiset ominaisuudet eivät aseta rajoituksia, suurin annos määritetään sellaiseksi, että se on jonkin verran myrkyllinen kehittyvälle sikiölle ja/tai emolle (kliinisiä löydöksiä tai ruumiinpainon väheneminen), mutta ei aiheuta kuolemaa tai kovia tuskia. Ainakin yksi suurimman ja pienimmän välillä oleva annostaso asetetaan sellaiseksi, että se aiheuttaa erittäin pienen havaittavan myrkyllisyysvaikutuksen. Pienin annos asetetaan sellaiseksi, että sillä ei ole mitään myrkyllisyysvaikutuksia kehittyvään sikiöön tai emoon. Annostasot on porrastettava siten, että tutkimuksessa saadaan esiin mahdolliset annostasoihin liittyvät reaktiot sekä haitaton altistustaso (NOAEL). Kaksinkertaiset – nelinkertaiset erot annostasojen välillä ovat usein parhaimmat alenevissa annossarjoissa, ja usein on parempi lisätä neljäs testiryhmä kuin käyttää hyvin suuria annosvälejä (esimerkiksi yli 10-kertaisia annosvälejä). Vaikka tavoitteena onkin määrittää emon haitaton altistustaso, hyväksyttävää voivat olla myös tutkimukset, joissa tällaista tasoa ei määritetä (1).

Annostasojen valinnassa tulee ottaa huomioon aikaisemmat myrkyllisyystiedot sekä tiedot testiaineen tai muiden sen kanssa samantyyppisten materiaalien metaboloitumisesta elimistössä samoin kuin niiden toksikokineettisistä ominaisuuksista. Nämä tiedot auttavat myös osoittamaan, että annostasot on valittu oikein.

Testissä on käytettävä samanaikaista kontrolliryhmää. Sen tulee olla joko plaseboa saava kontrolliryhmä tai kantaja-ainetta saava kontrolliryhmä, mikäli testiaineen antamisen yhteydessä käytetään kantaja-ainetta. Kaikille ryhmille annetaan tilavuudeltaan sama määrä joko testi- tai kantaja-ainetta. Kontrolliryhmän tai -ryhmien eläimiä tulee käsitellä samalla tavoin kuin testiryhmän eläimiä. Kantaja-aineen kontrolliryhmille tulee antaa suurin käytetty määrä kantaja-ainetta (kuten alimmassa testiryhmässä).

### 1.6.4 **Raja-annostesti**

Jos jokin testin annostaso, joka on vähintään 1 000 mg/kg (eläimen painokilo)/vrk ja joka annetaan suun kautta tässä testimenetelmässä kuvattujen menetelyjen mukaisesti, ei aiheuta lainkaan havaittavaa myrkyllisyysvaikutusta tiineissä eläimissä tai niiden jälkeläisissä ja jos myrkyllisyysvaikutusta ei aikaisempien tutkimustulosten perusteella ole odotettavissa (esimerkiksi rakenteellisesti ja/tai metabolisesti samantyyppiset yhdisteet), täydellinen kolmea annostasoä käyttävä testi ei välttämättä ole tarpeen. Jos odotettavissa on ihmisten altistuminen aineelle, voi olla tarpeen käyttää raja-annostestissä suurempaa annostasoä, kun aine annetaan suun kautta. Muita antotapoja kuten inhalaatiota tai ihoapplikaatiota käytettäessä testiaineen fysikokemialliset ominaisuudet saattavat usein osoittaa altistuksen enimmäistason (esimerkiksi ihoapplikaatio ei saa aiheuttaa vakavaa paikallista myrkyllisyysvaikutusta).

### 1.6.5 **Antotapa**

Testiaine tai kantaja-aine annetaan yleensä suun kautta letkulla. Jos käytetään muuta antotapaa, testin tekijän on perusteltava sen käyttö ja muutettava muita kohtia vastaavasti (2)(3)(4). Testiaine annetaan päivittäin suunnilleen samaan aikaan.

Kunkin eläinyksilön annoksen tulee yleensä perustua viimeiseen eläimen ruumiin painon määritykseen. Annoskoon määrittämisessä on kuitenkin oltava erityisen huolellinen viimeisen tiineyskolmanneksen aikana. Aikaisempien tutkimustietojen perusteella on valittava sellainen annoskoko, joka ei aiheuta liikaa myrkyllisyysvaikutuksia emolle. Jos kuitenkin havaitaan liian suuria myrkyllisyysvaikutuksia testiainetta saaneissa emoissa, nämä eläimet on lopetettava inhimillisellä tavalla. Jos useissa tiineissä eläimissä havaitaan liian suuren myrkyllisyysvaikutuksen merkkejä, on syytä harkita koko kyseisen annostasoryhmän lopettamista. Letkuruokinnassa aine on annettava eläimelle yhtenä annoksena mahaletkun tai sopivan intubaatiokanyylin kautta. Suurin kerralla annettava nestemäärä määräytyy koe-eläimen koon mukaan. Nestemäärän tilavuus ei saa ylittää 1 ml/100 g painoa. Poikkeuksen muodostavat vesiliuokset, joita käytettäessä tilavuus voi olla 2 ml/100 g painoa. Kun kantaja-aineena on maissiöljy, tilavuus ei saa olla suurempi kuin 0,4 ml/100 g painoa. Testiaineen nestemäärän tilavuusvaihtelu tulee minimoida pitoisuutta muuttamalla, jotta kaikilla annostasoilla voidaan käyttää tilavuudeltaan samaa nestemäärää.

### 1.6.6 **Emojen havainnointi**

Kliinisiä havaintoja tulee tehdä ja kirjata ainakin kerran päivässä, mieluiten samaan aikaan joka päivä ottaen huomioon se, milloin annoksen antamisen jälkeen odotetut vaikutukset ovat suurimmillaan. Eläinten kliinisestä tilasta kirjataan kuolleisuus, kuoleman lähestyminen, testiin liittyvät käytösmuutokset ja kaikki ilmeisten myrkyllisyysvaikutusten merkit.

### 1.6.7 **Eläimen paino ja ravinnon nauttiminen**

Eläimet punnitaan tiineyden päivänä 0 (tai viimeistään päivänä 3, jos käytetään ulkopuolisen kasvattajan toimittamia aikaparitettuja eläimiä), ensimmäisen annoksen antopäivänä, vähintään joka kolmas päivä annosten antamisjaksolla sekä eläinten suunniteltuna lopettamispäivänä.

Ravinnonotto kirjataan kolmen päivän välein ruumiinpainon määrittämissä päivistä.

### 1.6.8 **Post mortem -tutkimus**

Naaraat lopetetaan päivää ennen odotettua synnytyspäivää. Naaraat, joissa havaitaan tiineyden keskeytymisen tai ennenaikaisen synnytyksen merkkejä ennen suunniteltua lopetuspäivää, on lopetettava, ja niille on tehtävä perusteellinen makroskooppinen tutkimus.

Kun naaras lopetetaan tai kun se kuolee testin aikana, siitä on makroskooppisesti tutkittava mahdolliset rakenteelliset epämuodostumat tai patologiset muutokset. Systemaattisen virheen minimoimiseksi naaraiden arviointi sektion aikana ja sitä seuraavat sikiöanalyysit tulisi tehdä tietämättä, mihin ryhmään kyseinen naaras kuuluu.

**1.6.9 Kohdunsisällön tutkiminen**

Välittömästi eläimen lopettamisen jälkeen tai mahdollisimman pian kuoleman jälkeen kohtu poistetaan ja tiineys varmistetaan. Kohdut, joissa ei ole näkyviä tiineyden merkkejä, on tutkittava tarkemmin (jyrsijät esimerkiksi ammoniumsulfidivärjäyksellä ja kaniinit Salewski-värjäyksellä tai vastaavalla menetelmällä) asian varmistamiseksi (5).

Tiineiden eläinten kohdut punnitaan, mukaan lukien kohdunkaula. Jos eläimet ovat kuolleet testin aikana, kohtuja ei punnita.

Tiineiden eläinten keltarauhasten määrä määritetään.

Kuolleiden alkioiden tai sikiöiden määrä sekä elinkelpoisten sikiöiden määrä määritetään kohdunsisältöä tutkimalla. Resorptioaste kuvataan, jotta voidaan arvioida conceptuksen suhteellinen kuolinaika (katso kohta 1.2).

**1.6.10 Sikiöiden tutkiminen**

Kunkin sikiön sukupuoli ja ruumiinpaino määritetään.

Kustakin sikiöstä tutkitaan ulkoiset muutokset (6).

Sikiöistä tutkitaan luuston ja pehmytkudosten muutokset (esimerkiksi vaihtelut ja epämuodostumat) (7)(8)(9)(10)(11)(12)(13)(14)(15)(16)(17)(18)(19)(20)(21)(22)(23)(24). Sikiömuutosten luokittelu on suositeltavaa, mutta ei pakollista. Jos luokitus tehdään, on kunkin luokan määrittämiskriteerit esitettävä selvästi. Erityistä huomiota on kiinnitettävä lisääntymiselimiin, joista tutkitaan poikkeavan kehityksen merkit.

Kustakin jyrsijäpoikueesta noin puolet preparoidaan luostomuutosten tutkimista varten ja tutkitaan. Toinen puoli preparoidaan pehmytkudosmuutosten tutkimista varten ja tutkitaan käyttäen hyväksytyjä tai soveltuvia mikrotomiamenetelmiä tai huolellista dissektiomenetelmää.

Muiden eläinten kuin jyrsijöiden, esimerkiksi kaniinien, poikueista tutkitaan kaikilta sikiöiltä sekä pehmytkudos- että luostomuutokset. Näiden sikiöiden ruumiista tutkitaan pehmytkudosmuutokset huolellisen dissektion avulla. Tähän voi liittyä jatkotoimia sydämen sisäisten rakenteiden (25) arvioimiseksi. Puolelta näin tutkituista sikiöistä irrotetaan päät, joiden pehmytkudosmuutokset (muun muassa silmät, aivot, nenäontelot ja kieli) tutkitaan käyttäen tavanomaisia sarjaleikemenetelmiä (26) tai muita yhtä herkkiä menetelmiä. Näiden sikiöiden vartalo-osat sekä muut sikiöt, joita ei ole tutkittu, preparoidaan luostomuutosten tutkimista varten ja tutkitaan samoilla menetelmillä kuin jyrsijät.

## 2 MÄÄRITYSTULOKSET

### 2.1 TULOSTEN KÄSITTELY

Tiedot raportoidaan erikseen kustakin emosta ja sen jälkeläisistä ja esitetään taulukossa, jossa on eritelty testiryhmittäin eläinten määrä testin alussa, testin aikana kuolleiden tai inhimillisistä syistä lopetettujen eläinten määrä, kuoleman tai lopettamisen aika, tiineiden naaraiden määrä, niiden eläinten määrä, joissa myrkyllisyysvaikutuksia on havaittavissa, kuvaus havaituista myrkyllisyysvaikutuksista mukaan lukien myrkytysoireiden alkamisaika, kesto ja vakavuus, alkioista tai sikiöstä tehtyjen havaintojen laji sekä kaikki asiaankuuluvat tiedot poikueesta.

Numeeriset tulokset arvioidaan sopivalla tilastollisella menetelmällä käyttäen poikuetta analyysin yksikkönä. Tilastollisen menetelmän on oltava yleisesti hyväksytty, se on valittava tutkimusta suunniteltaessa ja sen valinta on perusteltava. Myös sellaisten eläinten tiedot, jotka kuolevat ennen niiden suunniteltua lopettamista, on raportoitava. Nämä tiedot voidaan sisällyttää ryhmäkeskiarvoihin, mikäli se on perusteltua. Tällaisista eläimistä saatujen tietojen relevanssi ja niin muodoin näiden tietojen sisällyttäminen ryhmäkeskiarvoihin tai jättäminen niistä pois tulee perustella ja arvioida tapauskohtaisesti.

### 2.2 TULOSTEN ARVIOINTI

Syntymää edeltävien kehitysmyrkyllisyysvaikutusten testin löydökset arvioidaan tarkastelemalla havaittuja vaikutuksia. Arviointiin tulee sisältyä seuraavat tiedot:

- emon ja alkion/sikiön testitulokset sekä eläinten testiainealtistuksen ja toisaalta kaikkien löydösten esiintyvyyden ja vakavuuden välisen mahdollisen suhteen arvioiminen
- sikiön ulkoisten muutosten sekä pehmytkudos- ja luustomuutosten luokittelussa käytetyt kriteerit, jos luokittelua on käytetty
- soveltuvissa tapauksissa historiallinen kontrolliaineisto, joka tehostaa tutkimustulosten tulkintaa
- kaikkien prosentiosuuksien tai indeksien laskennassa käytetyt luvut
- soveltuvissa tapauksissa tutkimustulosten asianmukainen tilastollinen analyysi, joka sisältää analyysimenetelmästä sellaiset tiedot, että riippumaton arvioija/tilastoasiantuntija voi niiden avulla arvioida ja rekonstruoida analyysin.

Jos kehitykseen kohdistuvia myrkyllisyysvaikutuksia ei voida osoittaa, on syytä harkita jatkoselvitystä, jossa määritetään absorptio ja testiaineen hyötyosuus.

### 2.3 TULOSTEN TULKINTA

Syntymää edeltävien myrkyllisyysvaikutusten tutkimuksen tulee antaa tietoja toistuvan tiineydenaikaisen testiainealtistuksen vaikutuksista emoihin sekä niiden jälkeläisten kohdunsisäiseen kehitykseen. Tutkimuksen tulokset on tulkittava yhdessä subkroonisten, lisääntymisfysiologisten, toksikokineettisten ja muiden tutkimusten kanssa. Koska tutkimuksessa painotetaan sekä yleisiä myrkyllisyysvaikutuksia (emoon kohdistuvat vaikutukset) että sikiön kehitykseen vaikuttavien myrkyllisyysvaikutusten loppupisteitä, tutkimustulosten perusteella voidaan jossain määrin erotella toisaalta ne sikiön kehitykseen kohdistuvat vaikutukset, jotka esiintyvät yleisten myrkyllisyysvaikutusten puuttuessa, sekä toisaalta ne vaikutukset, jotka esiintyvät vain sellaisilla annostasoilla, jotka ovat myrkyllisiä myös emolle (27).

### 3 TULOSTEN ILMOITTAMINEN

#### TESTISELOSTE

Testiselosteessa on annettava seuraavat tiedot:

##### Testiaine:

- fysikaalinen olomuoto ja tarvittaessa fysikokemialliset ominaisuudet
- tumistetiedot mukaan lukien CAS-numero, jos tiedossa/käytössä
- puhtaus.

##### Kantaja-aine (tarvittaessa)

- jos kantaja-aine on muu kuin vesi, sen valinta on perusteltava.

##### Koe-eläinlajit

- käytetty eläinlaji ja kanta
- eläinten lukumäärä ja ikä
- toimittaja, häkit, ravinto ja niin edelleen
- kunkin eläimen paino testin alussa.

##### Testiolosuhteet:

- annostasojen valintaperusteet
- yksityiskohtaiset tiedot testiainevalmisteesta/ravintovalmisteesta, testiaineen saavutettu pitoisuus, stabiilisuus ja tasalaatuisuus valmisteessa
- yksityiskohtaiset tiedot testiaineen antotavasta
- todellinen annos (mg/painokilo/vrk) ja muuntokerroin ravintoon/juomaveteen sekoitetun testiaineen pitoisuudelle (ppm) tarvittaessa
- ympäristöolosuhteet
- yksityiskohtaiset tiedot ravinnon ja veden laadusta.

Tulokset:

Ainakin seuraavat tiedot emon vasteesta myrkylliseen aineeseen:

- eläinten määrä testin alussa, testin lopussa elossa olevien eläinten määrä, tiineiden eläinten määrä, niiden eläinten määrä, joiden tiineys keskeytyi, sekä ennenaikaisesti synnyttäneiden eläinten määrä
- kuolinpäivä testin aikana tai tieto eläimen selviämisestä suunniteltuun lopettamiseen asti
- ennen suunniteltua lopettamista kuolleiden eläinten tiedot kirjataan, mutta niitä ei oteta mukaan ryhmien väliseen tilastolliseen vertailuun
- jokaisen poikkeavan kliinisen löydöksen havaintopäivä ja sen jatkokehitys
- ruumiinpaino, painon muutos ja tiineen eläimen kohdun paino; haluttaessa myös ruumiinpainon muutos korjattuna kohdun painolla
- ravinnonotto sekä nautitun veden määrä, mikäli se on mitattu
- ruumiinavauslöydökset, mukaan lukien kohdun paino
- haitattoman annostason arvot emolle ja kehittyvälle sikiölle.

Kehitykseen liittyvät loppupisteet annostasoinnain poikueille, joissa on implantaatioita, mukaan lukien seuraavat tiedot:

- keltarauhasten määrä
- implantaatioiden määrä, elävien ja kuolleiden sikiöiden sekä resorptiotapausten määrä ja prosenttiosuus
- ennen ja jälkeen implantaation tapahtuneiden tiineyden keskeytymisten määrä ja prosenttiosuus.

Kehitykseen liittyvät loppupisteet annostasoinnain poikueille, joissa on eläviä sikiöitä, mukaan lukien seuraavat tiedot:

- elävien poikasten määrä ja prosenttiosuus
- sukupuolten välinen suhde
- sikiön ruumiinpaino, mielellään sekä sukupuolen mukaan että molemmille sukupuolille
- ulkoiset epämuodostumat, pehmytkudosten ja luuston epämuodostumat ja muut merkittävät muutokset
- luokittelukriteerit tarvittaessa
- niiden sikiöiden ja poikueiden kokonais- ja prosenttimäärä, joilla on ulkoisia muutoksia tai pehmytkudosten tai luuston muutoksia, sekä yksittäisten epämuodostumien ja muutosten laji ja esiintyvyys.

Tulosten pohdinta.

Johtopäätökset.

**LÄHDELUETTELO**

- (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 Uterus der Ratte. *Naunyn-Schmeidebergs Archiv für Pharmakologie und Experimentelle Pathologie* 247:367.
- (6) Edwards, J.A. (1968) The external Development of the Rabbit and Rat Embryo. In *Advances in Teratology*. D.H.M. Woolam (ed.) Vol. 3. Academic Press, NY.
- (7) Inouye, M. (1976) Differential Staining of Cartilage and Bone in Fetal Mouse Skeleton by Alcian Blue and Alizarin Red S. *Congenital Anomalies* 16; 171-173.
- (8) Igarashi, E. et al. (1992) Frequency Of Spontaneous Axial Skeletal Variations Detected by the Double Staining Technique for 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 as 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.

## **LIITE 2G**

### B.35. KAKSI SUKUPOLVEA KÄSITTÄVÄ LISÄÄNTYMISKYKYYN KOHDISTUVIEN MYRKYLLISYYSVAIKUTUSTEN TUTKIMUS

#### 1. MENETELMÄ

Tämä menetelmä on toisinto OECD:n testiohjeesta nro 416 (2001).

#### 1.1 JOHDANTO

Tällä kaksi sukupolvea käsittävällä reproduktiotestillä on tarkoitus tuottaa yleistä tietoa testiaineen vaikutuksista urosten ja naaraiden lisääntymiselinten vahingoittumattomuuteen ja toimintaan. Siihen sisältyy sukupuolirauhasten toiminta, kiimasykli, paritumiskäyttäytyminen, hedelmöityminen, tiineys, synnytys, imetys ja vieroitus sekä testiaineen vaikutukset jälkeläisten kasvuun ja kehitykseen. Tutkimus voi myös tuottaa tietoja testiaineen vaikutuksista vastasyntyneiden sairastuvuuteen ja kuolleisuuteen sekä alustavia tietoja pre- ja postnataalisen kehityksen aikaisista myrkyllisyysvaikutuksista. Tutkimus voi lisäksi ohjata seuraavien tutkimusten suorittamista. F1-sukupolven kasvuun ja kehitykseen lisäksi tämän testimenetelmän tarkoitus on arvioida F2-sukupolven urosten ja naaraiden lisääntymiselinten vahingoittumattomuutta ja toimintaa sekä kasvua ja kehitystä. Lisätietoja kehityksen aikaisista myrkyllisyysvaikutuksista ja toiminnallisista häiriöistä voidaan hankkia lisäämällä tässä kuvattuun tutkimusohjelmaan muita osatutkimuksia, joissa sovelletaan yleiseen ja/tai hermojen kehitykseen kohdistuvien myrkyllisyysvaikutusten tutkimusmenetelmiä, tai tutkimalla näitä loppupisteitä erillisillä testeillä soveltuvia testimenetelmiä käyttäen.

#### 1.2 TESTIMENETELMÄN PERIAATE

Testiainetta annetaan porrastettuna annoksina useille uros- ja naarasryhmille. P-sukupolven uroksille tulee antaa testiainetta niiden kasvun aikana ja ainakin yhden kokonaisen spermatogeneesisyklin ajan (hiirellä noin 56 päivää ja rotalla 70 päivää), jotta spermatogeneesiin kohdistuvat haittavaikutukset voidaan todeta. Spermaan kohdistuvat vaikutukset määritetään useiden spermaparametrioiden (esimerkiksi siittiöiden morfologia ja liikkuvuus), kudospereparaattien ja yksityiskohtaisen histopatologisen tutkimuksen avulla. Jos käytettävissä on spermatogeneesiä koskevia tietoja aikaisemmasta toistuvaa annostelua käyttäneestä tutkimuksesta, jonka kesto on riittävä, esimerkiksi 90 päivää, P-sukupolven uroksia ei tarvitse sisällyttää arviointiin. On kuitenkin suositeltavaa säilyttää P-sukupolven spermanäytteet tai digitaaliset tallenteet myöhempää arviointia varten. P-sukupolven naaraille tulee antaa testiainetta niiden kasvun aikana ja useiden kokonaisten kiimasyklioiden ajan, jotta testiaineen mahdolliset normaalia kiimasykliä häiritsevät haittavaikutukset voidaan todeta. Testiainetta annetaan poikasten vanhemmille (P-sukupolvi) paritumisen aikana, tiineyden aikana ja niiden F1-poikasten vieroitukseen asti. Vieroituksesta lähtien ainetta annetaan F1-poikasille aikana, jolloin ne kehittyvät sukukypsiksi, paritumisen aikana sekä F2-sukupolven syntymän jälkeen vieroitukseen asti.

Kaikista eläimistä tutkitaan myrkyllisyysvaikutusten merkit kliinisesti havainnoiden ja patologisten tutkimusten avulla kiinnittäen erityistä huomiota urosten ja naaraiden lisääntymiselinten vahingoittumattomuuteen ja toimintaan sekä jälkeläisten kasvuun ja kehitykseen kohdistuviin vaikutuksiin.

### 1.3 TESTIMENETELMÄN KUVAUS

#### 1.3.1 Eläinlajin valinta

Suosittelava eläinlaji on rotta. Jos käytetään muita lajeja, niiden käyttö on erikseen perusteltava ja testimenetelmää on tarvittaessa mukautettava. Kantoja, joiden hedelmällisyys on alhainen tai joilla tiedetään esiintyvän kehityshäiriöitä, ei tule käyttää. Tutkimuksen alussa eläinten painon variaation tulisi olla mahdollisimman pieni, eikä se saa olla suurempi kuin 20 % kummankin sukupuolen painokeskiarvosta.

#### 1.3.2 Koe-eläintilat ja eläinten ruokinta

Koe-eläinhuoneen lämpötilan olisi oltava 22 °C ( $\pm 3^\circ$ ). Vaikka riittää, että suhteellinen kosteus on vähintään 30 % eikä mielellään ylitä 70 %:a muulloin kuin huoneen puhdistuksen aikana, pitäisi kuitenkin pyrkiä 50–60 %:n suhteelliseen kosteuteen. Huoneessa tulee käyttää keinovaistusta 12 tunnin jaksoissa (12 tuntia valoa, 12 tuntia pimeää). Eläinten ruokinnassa voidaan käyttää normaalia laboratorioruokavaliota, eikä juomaveden määrää saa rajoittaa. Ruokavalion valinnassa on varmistettava, että testiaineen ja ravinnon suhde on sopiva, mikäli testiaine annetaan ravintoon sekoitettuna.

Eläimet voidaan pitää häkeissä yksittäin tai muutaman samaa sukupuolta olevan eläimen ryhmissä. Parituksen tulee tapahtua tarkoitukseen sopivissa häkeissä. Kun parituksen voidaan todeta tapahtuneen, kukin pariutunut naaras siirretään omaan synnytys- tai poikimishäkkiinsä. Paritetut rotat voidaan myös pitää häkeissä pienissä ryhmissä ja erottaa toisistaan yksi tai kaksi päivää ennen synnytystä. Paritetuille eläimille on annettava synnytyksen lähestyessä asianmukaiset ja etukäteen määritellyt pesäntekoaineet.

#### 1.3.3 Eläinten valmistelu

Testissä tulee käyttää terveitä, nuoria eläimiä, jotka on totutettu laboratorio-olosuhteisiin vähintään viiden vuorokauden ajan ja joita ei ole aiemmin käytetty testeihin. Koe-eläinten laji, kanta, alkuperä, sukupuoli, paino ja/tai ikä on tunnettava. Mahdollisista sisarussuhteista eläinten välillä on oltava selvillä, jotta sisarusten parittaminen voidaan välttää. Eläimet jaetaan satunnaisesti kontrolli- ja testiryhmään (jaottelu ruumiinpainon mukaan on suositeltavaa). Häkit on sijoitettava siten, että häkin sijainnista johtuvat vaikutukset ovat mahdollisimman vähäisiä. Kullekin eläimelle annetaan oma tunnistenumero. P-sukupolvelle on annettava tunnistenumerot ennen annostelun aloittamista. F1-sukupolvelle tunnistenumerot annetaan paritukseen valittujen eläinten vieroituksen yhteydessä. F1-sukupolven kaikkien valittujen eläinten alkuperäispoikue on merkittävä muistiin. Lisäksi suositellaan, että poikasille annetaan yksilöllinen tunniste mahdollisimman pian syntymän jälkeen, mikäli yksilöt aiotaan punnita tai mikäli niille aiotaan tehdä toiminnallisia testejä.

P-sukupolven eläinten tulee olla käsittelyn alkaessa noin 5–9 viikon ikäisiä. Eläinten tulee kaikissa testiryhmissä olla samanpainoisia ja -ikäisiä niin tarkasti kuin on käytännössä mahdollista.

## 1.4 TESTIN SUORITUS

### 1.4.1 Eläinten lukumäärä ja sukupuoli

Kussakin testi- ja kontrolliryhmässä on oltava riittävä määrä eläimiä, jotta testiin saadaan mielellään vähintään 20 tiinettä naarasta, jotka synnyttävät tai joiden synnytysaika on lähellä. Tämä ei ehkä ole mahdollista testattaessa aineita, jotka aiheuttavat käsittelyyn liittyviä ei-toivottuja vaikutuksia (esimerkiksi steriiliys tai liian suuri myrkyllisyys ylimmällä annostasolla). Tavoitteena on tuottaa tarpeeksi tiineystapauksia, jotta voidaan tehdä merkitsevä arvio testiaineen vaikutuksesta hedelmällisyyteen, tiineyteen, emon käyttöön ja imetykseen, F1-sukupolven poikasten kasvuun ja kehitykseen hedelmöityksestä sukukypsyyteen, sekä F1-sukupolven poikasten (F2) kehitykseen vieroitukseen asti. Jos tutkimuksessa ei päästä tavoiteltuun tiineiden eläinten määrään (20), tutkimus ei silti välttämättä ole epävalidi. Tutkimuksen validiteetti tulee arvioida kussakin tapauksessa erikseen.

### 1.4.2 Annosten valmistelu

Testiaineen antaminen suun kautta (ravintoon tai juomaveteen sekoitettuna tai letkulla) on suositeltavaa, paitsi jos jokin muu antotapa (esimerkiksi ihoapplikaatio tai inhalaatio) todetaan sopivammaksi.

Tarvittaessa testiaine liuotetaan tai siitä tehdään suspensio sopivaan kantaja-aineeseen. Ensiksi tulisi aina harkita vesiliuoksen/suspension käyttämistä, milloin se on mahdollista, seuraavaksi öljyliuoksen/emulsion (esimerkiksi maissiöljy) käyttämistä ja vasta sitten muiden kantaja-aineiden käyttämistä. Jos kantaja-aineena käytetään muuta kuin vettä, kantaja-aineen toksiset ominaisuudet on tunnettava. Testiaineen stabiilius kantaja-aineessa on määritettävä.

### 1.4.3 Annostasot

Testissä tulee käyttää vähintään kolmea annostasoja ja testin kanssa samaan aikaan tehtävää kontrollia. Jos testiaineen fysikaalinen/kemiallinen olomuoto tai biologiset ominaisuudet eivät aseta rajoituksia, suurin annos valitaan sellaiseksi, että se aiheuttaa myrkyllisyysvaikutuksen mutta ei aiheuta kuolemaa tai kovia tuskia. Mikäli odottamatonta kuolleisuutta esiintyy, hyväksyttävä on yleensä sellainen tutkimus, jossa P-sukupolven kuolleisuus on alle 10 %. Annostasot on porrastettava laskevasti siten, että tutkimuksessa saadaan esiin mahdolliset annostasoihin liittyvät vaikutukset sekä haitaton altistustaso (NOAEL). Kaksinkertaiset – nelinkertaiset erot annostasojen välillä ovat usein parhaimmat alenevissa annossarjoissa, ja usein on parempi lisätä neljäs testiryhmä kuin käyttää hyvin suuria annosvälejä (esimerkiksi yli kymmenkertaisia annosvälejä). Tutkimuksissa, joissa testiaine annetaan ravintoon sekoitettuna, annostasojen väliset erot saavat olla enintään kolminkertaisia. Annostasojen valinnassa tulee ottaa huomioon aikaisemmat myrkyllisyystiedot ja erityisesti toistettujen annostelututkimusten tulokset. Tutkimuksessa on otettava huomioon myös tiedot testiaineen tai muiden sen kanssa samantyyppisten materiaalien metaboloitumisesta elimistössä samoin kuin niiden toksikokineettisistä ominaisuuksista. Nämä tiedot auttavat myös osoittamaan, että annostasot on valittu oikein.

Kontrolliryhmän tulee olla joko ryhmä, joka ei saa käsittelyä, tai kantaja-ainetta saava ryhmä, mikäli testiaineen antamisen yhteydessä käytetään kantaja-ainetta. Kontrolliryhmän eläimiä tulee käsitellä samalla tavoin kuin testiryhmän eläimiä (testiainekäsittelyä lukuun ottamatta). Jos käytetään kantaja-ainetta, kontrolliryhmälle tulee antaa tilavuudeltaan suurin käytetty kantaja-aineannos. Jos testiaine annetaan ravintoon sekoitettuna ja se vähentää ravinnonottoa tai ravinnon hyväksikäyttöä elimistössä, voi olla tarpeen käyttää parikontrolliryhmää. Samanaikaisen parikontrolliryhmän sijasta voidaan käyttää tietoja, jotka on saatu sellaisista tutkimuksista, joilla on selvitetty vähentyneen ravinnonoton vaikutusta lisääntymisfysiologisiin parametreihin.

Kantaja-ainetta tai muuta lisäainetta käytettäessä aineesta on syytä selvittää seuraavat ominaisuudet: vaikutus testiaineen absorboitumiseen, jakautumiseen, metaboloitumiseen ja elimistössä säilymiseen, sellaiset vaikutukset testiaineen kemiallisiin ominaisuuksiin, jotka saattavat muuttaa testiaineen myrkyllisyyttä, sekä vaikutukset koe-eläinten ravinnon- ja juomanottoon tai ravitsemustilaan.

#### 1.4.4 **Raja-annostesti**

Jos jokin testin annostaso, joka on vähintään 1 000 mg/kg (eläimen painokilo)/vrk tai vastaava suhteellinen määrä ravinnossa tai juomavedessä, milloin testiaine annetaan ravinnon tai juomaveden seassa, ja joka annetaan tässä testimenetelmässä kuvattujen menettelyjen mukaisesti, ei aiheuta lainkaan havaittavaa myrkyllisyysvaikutusta poikasten vanhemmissa tai poikasissa ja jos myrkyllisyysvaikutusta ei aikaisempien tutkimustulosten perusteella ole odotettavissa (esimerkiksi rakenteellisesti ja/tai metabolisesti samantyyppiset yhdisteet), täydellinen useita annostasoja käyttävä testi ei välttämättä ole tarpeen. Raja-annostestiä voidaan soveltaa, paitsi silloin, kun ihmisten altistuminen viittaa siihen, että on käytettävä suurempaa suun kautta annettavaa annosta. Muita antotapoja, kuten inhalaatiota tai ihoapplikaatiota käytettäessä, testiaineen fysikokemialliset ominaisuudet, esimerkiksi liukoisuus, saattavat usein osoittaa altistuksen enimmäistason ja rajoittaa sitä.

#### 1.4.5 **Antotapa**

Testiainetta annetaan eläimille seitsemänä päivänä viikossa. Suun kautta tapahtuva antotapa (ravintoon tai juomaveteen sekoitettuna tai letkulla) on suositeltava. Jos käytetään muuta antotapaa, testin tekijän on perusteltava muun antotavan käyttö ja muutettava muita kohtia vastaavasti. Kaikille eläimille tulee antaa testiaineannokset samalla tavalla asianmukaisena koeaikana. Jos testiaine annetaan letkulla, on syytä käyttää mahaletkua. Kerralla annettavan nesteen tilavuus ei saa ylittää 1 ml/100 g eläimen painoa (maissiöljyä käytettäessä tilavuus saa olla enintään 0,4 ml/100 g eläimen painoa), paitsi käytettäessä vesiliuosta, jolloin enimmäistilavuus voi olla 2 ml/100 g eläimen painoa. Testiaineen tilavuuden vaihtelu tulee minimoida pitoisuutta muuttamalla, jotta kaikilla annostasoilla voidaan käyttää tilavuudeltaan samaa nestemäärää. Poikkeuksena tästä ovat ärsyttävät tai syövyttävät aineet, joiden kohdalla voidaan yleensä todeta vaikutusten voimistuminen suurempia pitoisuuksia käytettäessä. Letkuannostelua käytävissä tutkimuksissa poikaset saavat yleensä testiainetta vain epäsuorasti emon maidosta vieroitukseen asti, jolloin annosten antaminen poikasille aloitetaan. Tutkimuksissa, joissa testiaine annetaan ravintoon tai juomaveteen sekoitettuna, poikaset saavat lisäksi testiainetta suoraan, kun ne alkavat itse syödä imetysajan viimeisellä viikolla.

Jos aineita annetaan eläimille ravintoon tai juomaveteen sekoitettuna, on tärkeää varmistaa, että testiainemäärät eivät häiritse normaalia ravinto- tai nestetasapainoa. Jos testiaine annetaan ravintoon sekoitettuna, voidaan ilmoittaa joko testiaineen pitoisuus ravinnossa (ppm) tai eläimen painoon suhteutettu annos; käytetty tapa on mainittava. Jos testiaine annetaan letkulla, annos tulee antaa päivittäin samaan aikaan ja sitä on mukautettava vähintään viikoittain siten, että annostaso pysyy samana eläimen ruumiinpainoon nähden. Näin meneteltäessä on otettava huomioon tiedot testiaineen leviämisestä istukan kautta.

#### 1.4.6 Testiaikataulu

P-sukupuolven urosten ja naaraiden päivittäinen käsittely aloitetaan, kun eläimet ovat 5–9 viikon ikäisiä. F1-sukupuolven urosten ja naaraiden päivittäinen käsittely aloitetaan vieroituksen yhteydessä pitäen kuitenkin mielessä, että jos testiaine annetaan ravintoon tai juomaveteen sekoitettuna, F1-sukupuolven poikaset saattavat altistua testiaineelle jo imetysaikana. Molempien sukupuolten käsittelyä jatketaan sekä P- että F1-ryhmissä ainakin kymmenen viikon ajan ennen parittamisvaihetta. Molempien sukupuolten käsittelyä jatketaan myös kahden viikon parittamisjakson aikana. Urokset lopetetaan inhimillisellä tavalla ja tutkitaan, kun niitä ei enää tarvita lisääntymisfysiologisten vaikutusten arviointiin. P-sukupuolven naaraiden käsittelyä jatketaan koko tiineysajan ja F1-sukupuolven poikasten vieroitukseen asti. Annosteluaiakataulun mukauttamista harkittaessa tulee ottaa huomioon käytettävissä olevat tiedot testiaineesta, mukaan lukien aikaisemmat myrkyllisyystiedot sekä metaboloituminen tai biologinen kertyminen. Kunkin eläimen annos on yleensä määriteltävä eläimen viimeksi määritetyn ruumiinpainon mukaan. Annoksen mukauttamisessa viimeisen tiineyskolmanneksen aikana on kuitenkin oltava varovainen.

P- ja F1-sukupuolven urosten ja naaraiden käsittelyä jatketaan eläinten lopettamiseen asti. P- ja F1-sukupuolven kaikki aikuiset urokset ja naaraat tulee lopettaa inhimillisellä tavalla, kun eläimiä ei enää tarvita lisääntymisfysiologisten vaikutusten arviointiin. F1-sukupuolven poikaset, joita ei valita paritukseen, ja kaikki F2-sukupuolven poikaset lopetetaan inhimillisellä tavalla vieroituksen jälkeen.

#### 1.4.7 Paritus

##### 1.4.7.1 *P-sukupuolven paritus*

Kussakin parituksessa jokainen naaras on samassa häkissä yhden, samalla annostasolla olevan uroksen kanssa (1:1-paritus) siihen saakka, kunnes eläimet parittelevat tai kunnes kaksi viikkoa on kulunut. Naaraat tutkitaan päivittäin sperman tai vaginan tulpiteuksen toteamiseksi. Tiineyden päivä 0 katsotaan päiväksi, jolloin jompikumpi todetaan. Jos parittelua ei tapahdu, voidaan harkita naaraan uutta paritusta saman ryhmän hedelmällisiksi todettujen urosten kanssa. Pariutuneet eläinparit on merkittävä muistiin. Sisarusten parittamista on vältettävä.

##### 1.4.7.2 *F1-sukupuolven paritus*

F1-sukupuolven eläinten paritus tapahtuu siten, että kustakin poikueesta valitaan vieroituksen yhteydessä vähintään yksi uros ja yksi naaras, jotka paritetaan samalla annostasolla olevien eri poikueeseen kuuluvien poikasten kanssa. Näin syntyvä sukupolvi on F2-sukupolvi. Poikaset valitaan kustakin poikueesta satunnaisesti, jos poikasten ruumiinpainossa tai ulkomuodossa ei ole merkittäviä eroja. Jos tällaisia eroja havaitaan, kustakin poikueesta on valittava sitä parhaiten edustavat yksilöt. Käytännössä valinta on paras tehdä ruumiinpainon perusteella, mutta se voidaan tehdä myös ulkomuodon perusteella. F1-sukupuolven poikasia ei saa parittaa ennen kuin ne ovat saavuttaneet täyden sukukypsyyden.

Poikimattomien parien hedelmättömyyden todennäköinen syy on arvioitava. Menetelminä voidaan käyttää toista paritusta muiden hedelmällisiksi todettujen urosten tai naaraiden kanssa, lisääntymiselinten mikroskooppitutkimusta sekä kiimasykliin ja spermatogeneesin tutkimista.

#### 1.4.7.3 *Toinen paritus*

Joissakin tapauksissa, esimerkiksi kun havaitaan käsittelyyn liittyviä muutoksia poikueen koossa tai epäselviä vaikutuksia ensimmäisessä parituksessa, on suositeltavaa parittaa P- tai F1-sukupolven aikuiset eläimet uudelleen toisen poikueen tuottamiseksi. Suositeltava tapa on parittaa uudelleen naaraat tai urokset, jotka eivät ole tuottaneet poikuetta vastakkaisen sukupuolen hedelmälliseksi todetun eläimen kanssa. Jos toisen poikueen tuottamista pidetään tarpeellisena jommassakummassa sukupolvessa, eläimet on paritettava uudelleen noin viikon kuluttua viimeisen poikueen vieroituksesta.

#### 1.4.7.4 *Poikueen koko*

Eläinten on annettava poikia normaalisti ja kasvattaa poikaset vieroitukseen asti. Poikueen koon vakioiminen ei ole välttämätöntä. Jos vakiointia käytetään, vakiointimenetelmä on kuvattava yksityiskohtaisesti.

### 1.5 HAVAINNOT

#### 1.5.1 **Kliiniset havainnot**

Yleinen kliininen havainnointi on tehtävä päivittäin, ja letkuruokinnassa havainnoinnin ajoitusta suunniteltaessa on syytä ottaa huomioon se, milloin annoksen antamisen jälkeen odotetut myrkyllisyysvaikutukset ovat suurimmillaan. Käytösmuutokset, vaikean tai pitkittyneen synnytyksen merkit ja kaikki myrkyllisyysvaikutusten merkit on kirjattava. Kukin eläin on lisäksi tutkittava yksityiskohtaisesti esimerkiksi punnituksen yhteydessä ainakin viikoittain. Kaikkia eläimiä havainnoidaan kaksi kertaa päivässä ja tarvittaessa viikonloppuisin kerran päivässä sairastuvuuden ja kuolleisuuden toteamiseksi.

#### 1.5.2 **Poikasia saaneiden eläinten paino sekä ravinnon- ja nesteenotto**

Poikasia saaneet eläimet (P ja F1) punnitaan annostelun aloituspäivänä ja sen jälkeen ainakin kerran viikossa. Poikasia saaneet naaraat (P ja F1) punnitaan ainakin tiineyspäivinä 0, 7, 14 ja 20 tai 21 sekä imetyksen aikana poikueiden punnituspäivinä sekä eläinten lopetuspäivänä. Havainnot raportoidaan erikseen kustakin täysikasvuisesta eläimestä. Paritusta edeltävänä aikana ja tiineysjaksojen aikana ravinnonotto tulee mitata vähintään viikoittain. Juomanotto mitataan vähintään viikoittain, jos testiaine annetaan juomaveteen sekoitettuna.

#### 1.5.3 **Kiimasykli**

Kiimasyklin pituus ja normaalius arvioidaan P- ja F1-sukupolven naaraista ottamalla vaginasta irtosolunäyte ennen paritumista sekä haluttaessa myös paritumisjakson aikana, kunnes paritumisen voidaan todeta tapahtuneen. Otettaessa irtosolunäytettä vaginasta tai kohdunkaulasta on varottava limakalvojen vahingoittamista ja siitä seuraavaa valeraskautta (1).

## 1.5.4

**Siemennesteen muuttujat**

Lopettamisen yhteydessä kaikilta P- ja F1-sukupolvien uroksilta kirjataan kivesten ja lisäkivesten paino ja yksi kappale kumpaakin elintä säilötään histopatologista tutkimusta varten (katso kohdat 1.5.7 ja 1.5.8.1). Sekä P- että F1-sukupolven kustakin ryhmästä erotetaan vähintään kymmenen uroksen osajoukko, jonka lopuista kiveksistä ja lisäkiveksistä lasketaan homogenisoinnille resistentit spermatisidit ja lisäkiveksen häntään varastoituneen siemennesteen määrä. Samalta osajoukolta kerätään siemenneste lisäkiveksen hännästä tai siemenjohtimesta siittiöiden liikkuvuuden ja morfologian arviointia varten. Jos havaitaan käsittelyyn liittyviä vaikutuksia tai jos muissa tutkimuksissa on osoitettu mahdollisia vaikutuksia spermatogeneesiin, jokaisen ryhmän kaikkien urosten siemenneste tulee arvioida. Muussa tapauksessa riittää, että laskenta tehdään kontrolliryhmän ja korkean annostasoryhmän P- ja F1-eläimille.

Homogenisoinnille resistenttien kiveksissä olevien spermatisidien ja lisäkiveksen häntään varastoituneiden siittiöiden määrä on laskettava (2)(3). Lisäkiveksen häntään varastoituneiden siittiöiden määrä voidaan johtaa kvalitatiiviseen arviointiin käytetyn suspension sisältämien siittiöiden pitoisuudesta ja tilavuudesta sekä jäljelle jääneen lisäkiveksen hännän kudoksen jauhamisen ja/tai homogenoinnin jälkeen saadusta siittiöiden lukumäärästä. Laskenta tulee tehdä valitulle urosten osajoukolle kaikissa annosryhmissä heti eläinten lopettamisen jälkeen, paitsi jos käytetään video- tai digitaalista tallennusta tai jos näytteet jäädytetään myöhempää analyysia varten. Näissä tapauksissa kontrolliryhmät ja ylin annosryhmä voidaan analysoida ensin. Jos mitään käsittelyyn liittyviä vaikutuksia (esimerkiksi vaikutukset siittiöiden määrään, liikkuvuuteen tai morfologiaan) ei havaita, muita annosryhmiä ei tarvitse analysoida. Jos taas ylimmissä annosryhmissä havaitaan käsittelyyn liittyviä vaikutuksia, myös alemmat annosryhmät on arvioitava.

Lisäkiveksessä (tai siemenjohtimessa) olevien siittiöiden liikkuvuus tulee arvioida tai videoida heti eläimen lopettamisen jälkeen. Siittiöt kerätään niitä mahdollisimman vähän vaurioittaen ja sperma laimennetaan liikkuvuusanalyysia varten hyväksytyjä menetelmiä käyttäen (4). Progressiivisesti liikkuvien siittiöiden prosenttiosuus tulee määrittää joko subjektiivisesti tai objektiivisesti. Kun tehdään tietokoneavusteinen liikkuvuusanalyysi (5)(6)(7)(8)(9)(10), progressiivinen liikkuvuus johdetaan käyttäjän määrittelemien keskimääräisten nopeuden ja suoruuden kynnsarvojen eli lineaarisen indeksin mukaan. Jos näytteet on videoitu (11) tai kuvat on muulla tavoin tallennettu ruumiinavauksen yhteydessä, jatkoanalyysi tarvitsee tehdä vain kontrolliryhmän ja ylimmän annosryhmän P- ja F1-sukupolvien uroksille. Jos kuitenkin havaitaan käsittelyyn liittyviä vaikutuksia, myös alemmat annosryhmät on arvioitava. Jos video- tai digitaalitalenteita ei ole tehty, kaikkien testiryhmien kaikki näytteet tulee analysoida ruumiinavauksen yhteydessä.

Lisäkiveksen (tai siemenjohtimen) siemennestenäytteestä tehdään morfologinen arvio. Siemenneste (vähintään 200 siittiötä/näyte) tutkitaan fiksaatiivikäsittelyynä märkäpreparaattina (12) ja luokitetaan joko normaaliksi tai epänormaaliksi. Morfologisiin siemennesteen epänormaaliuksiin kuuluvat siittiöiden fuusio, eristyneet päät sekä päiden tai häntien epämuodostumat. Arviointi on tehtävä kaikista annosryhmistä valitulle urosten osajoukolle joko heti eläinten lopettamisen jälkeen tai myöhemmin video- tai digitaalitalenteiden pohjalta. Kun preparaattit on käsitelty fiksaatiivilla, ne voidaan tutkia myöhemminkin. Näissä tapauksissa kontrolliryhmä ja ylin annosryhmä voidaan tutkia ensin. Jos mitään käsittelyyn liittyviä vaikutuksia (esimerkiksi vaikutuksia sperman morfologiaan) ei havaita, alempia annosryhmiä ei tarvitse analysoida. Jos käsittelyyn liittyviä vaikutuksia esiintyy ylimmissä annosryhmissä, myös alemmat annostasoryhmät on arvioitava.

Jos jokin edellä kuvatuista siemennesteen muuttujista on jo tutkittu vähintään 90 päivää kestäneissä systeemisen myrkyllisyyden tutkimuksissa, tutkimusta ei tarvitse toistaa tässä yhteydessä. On kuitenkin suositeltavaa tallentaa P-sukupolven näytteet tai siemennesteen digitaalinen tallenne mahdollista myöhempää tutkimusta varten.

### 1.5.5 Poikaset

Kukin poikue tutkitaan mahdollisimman pian synnytyksen jälkeen (imetyspäivä 0) ja poikueista määritetään poikasten lukumäärä ja sukupuoli, kuolleena ja elävänä syntyneiden poikasten määrä sekä merkittävien poikkeavuuksien esiintyminen. Poikasista, jotka löydetään kuolleina päivänä 0, on mielellään tutkittava mahdolliset kehityshäiriöt ja kuolinsyy, mikäli mahdollista, ja ruumiit säilötään. Elävät poikaset lasketaan ja punnitaan kukin erikseen synnytyksen yhteydessä (imetyspäivä 0) tai päivänä 1 sekä säännöllisesti punnituspäivinä, esimerkiksi imetyspäivinä 4, 7, 14 ja 21. Emoissa tai poikasissa havaitut ruumiilliset epämuodostumat tai epänormaali käyttäytyminen on merkittävä muistiin.

Poikasten ruumiillisesta kehityksestä kirjataan lähinnä painonlisäys. Muista fyysisistä muuttujista (esimerkiksi korvien ja silmien avautuminen, hampaiden puhkeaminen, karvankasvu) voidaan saada täydentäviä tietoja, mutta tällaiset tiedot tulee mielellään arvioida sukukypsystietojen pohjalta (esimerkiksi ikä ja ruumiinpaino emättimen avautuessa tai terskan ja esinahan erotessa) (13). Toiminnalliset tutkimukset (esimerkiksi motoriset toiminnot, aistitoiminnot, refleksien kehitys), jotka liittyvät erityisesti sukukypsyyden saavuttamiseen, suositellaan tehtäväksi F1-sukupolven poikasille ennen vieroitusta ja/tai sen jälkeen, mikäli edellä mainittuja tutkimuksia ei ole tehty erillisten tutkimusten yhteydessä. F1-sukupolven vieroitetuista, paritukseen valituista poikasista tulee määrittää ikä emättimen avautuessa ja esinahan irtautuessa. Peräaukon ja sukupuolielinten välinen etäisyys on mitattava F2-sukupolven poikasilta syntymän jälkeisenä päivänä 0, mikäli F1-sukupolven sukupuolijakauman muutokset tai sukukypsyyden saavuttamisen ajoitus antavat siihen aiheutta.

Toimintoja koskevia havaintoja ei tarvitse tehdä ryhmistä, jotka muutoin osoittavat selviä haittavaikutusten merkkejä (esimerkiksi merkittävä painonnousun väheneminen). Jos toiminnallisia tutkimuksia tehdään, niitä ei tule tehdä paritettaviksi valituille poikasille.

### 1.5.6 Ruumiinavaus

Rakenteelliset epämuodostumat tai patologiset muutokset tutkitaan makroskooppisesti lopettamisen tai tutkimuksen kuluessa sattuneen kuoleman yhteydessä kaikista poikasista saaneista eläimistä (P ja F1), kaikista poikasista, joissa on näkyviä epämuodostumia tai kliinisiä merkkejä, sekä yhdestä satunnaisesti F1- ja F2-sukupolvesta valitusta poikasesta kummastakin sukupuolesta ja kustakin poikueesta. Erityistä huomiota tulee kiinnittää lisääntymiselimiin. Kuolemaisillaan olevista poikasista, jotka lopetetaan inhimillisellä tavalla, sekä kuolleista poikasista (niiden ruumiin kunnon sallissa) tulee tutkia mahdolliset häiriöt ja/tai kuolinsyy, ja ruumiit tulee säilöä.

Kaikkien ensi kertaa poikineiden naaraiden kohduista tutkitaan implantaatiokohtien olemassaolo ja niiden määrä tavalla, joka ei häiritse histopatologista tutkimusta.

### 1.5.7 Elinten paino

Lopettamisen aikaan P- ja F1-sukupolven vanhemmilta määritetään ruumiinpaino sekä seuraavien elinten paino (parilliset elimet punnitaan erikseen):

- kohtu ja munasarjat
- kivekset ja lisäkivekset (kokonaispaino ja häntäosan paino)
- eturauhanen
- rakkularauhaset ja eturauhasen etuosa sekä niiden nesteet ja eturauhanen (yhtenä kokonaisuutena)
- aivot, maksa, munuaiset, perna, aivolisäke, kilpirauhanen ja lisämunuaiset sekä määritetyt kohde-elimet.

F1- ja F2-sukupolvien ruumiinavaukseen valittujen poikasten paino määritetään lopetuksen yhteydessä. Kummastakin sukupuolesta ja kustakin poikueesta satunnaisesti valitulta poikaselta (katso kohta 1.5.6) punnitaan aivot, perna ja kateenkorva.

Ruumiinavaustulosten ja elinten punnitustulosten arvioinnissa tulee ottaa huomioon muissa toistuvaa annostelua käyttävissä tutkimuksissa tehdyt havainnot, milloin niitä on saatavissa.

### 1.5.8 Histopatologinen tutkimus

#### 1.5.8.1 Poikasia saaneet eläimet

Poikasia saaneilta eläimiltä (P ja F1) irrotetaan seuraavat elimet ja kudokset tai niiden edustavat näytteet. Kudokset tai näytteet käsitellään fiksatiivilla ja säilötään sopivalla tavalla histopatologista tutkimusta varten.

- emätin, kohtu ja kohdunkaula sekä munasarjat (säilötään soveltuva fiksatiivissa)
- yksi kives (säilötään Bouinin fiksatiivissa tai vastaavassa), yksi lisäkives, rakkularauhaset, eturauhanen ja sen etuosa
- etukäteen määritetyt kohde-elimet kaikilta paritukseen valituilta P- ja F1-eläimiltä.

Kaikille paritukseen valituille ylimpiin annosryhmiin ja kontrolliryhmiin kuuluville P- ja F1-sukupolven eläimille tulee tehdä edellä mainittujen elinten ja kudosten täydellinen histopatologinen tutkimus. P-sukupolven eläinten munasarjojen tutkimus ei ole pakollinen. Elimet, joissa todetaan käsittelyyn liittyviä muutoksia, on tutkittava myös alemmissa ja keskikokoisissa annosryhmissä NOAEL-tason määrittämisen helpottamiseksi. Lisäksi on tutkittava histopatologisin menetelmin lisääntymiselimet sellaisilta alempiin ja keskikokoisiin annosryhmiin kuuluvilta eläimiltä, joiden kohdalla epäillä vähentynyttä hedelmällisyyttä, toisin sanoen niiltä, jotka eivät parituneet, hedelmöityneet, siittäneet tai synnyttäneet terveitä poikasia, tai niiltä, joiden kiimasykliin tai sperman määrään, liikkuvuuteen tai morfologiaan testiaine vaikutti. Kaikki vakavat vauriot, kuten surkastumat tai kasvaimet on tutkittava.

Kivesten yksityiskohtaisella histopatologisella tutkimuksella (esimerkiksi Bouinin fiksatiivi, parafiinivalu ja 4–5 µm paksut poikittaisleikkeet) tulee määrittää käsittelyn aiheuttamat vaikutukset, kuten rauhasen jääneet spermatisit, puuttuvat itusolukerrokset tai -tyypit, monitumaiset jättisolut tai spermatogeenisten solujen irtoaminen lumeniin (14). Koskemattomasta lisäkiveksestä tulee tutkia pää-, runko- ja häntäosa pitkittäisleikkeen avulla. Lisäkiveksestä tulee arvioida leukosyytti-infiltraatio, solutyypin esiintyvyyden muutokset, aberrantit solutyypit sekä siemennesteen fagosytoosi. PAS- ja hematoksyliinivärjäystä voidaan käyttää urosten lisääntymiselinten tutkimukseen.

Imetyksen jälkeisen vaiheen munasarjojen pitäisi sisältää varhaismunarakkuloita ja kasvavia munarakkuloita sekä imetysvaiheen suuria keltarauhasia. Histopatologisessa tutkimuksessa olisi pystyttävä osoittamaan varhaismunarakkuloiden väheneminen kvalitatiivisesti. Varhaismunarakkuloiden kvantitatiivinen arvio tulee tehdä F1-sukupolven naaraille. Eläinten määrän, munasarjaleikkeen valinnan sekä leikkeen näytekoon tulee sopia käytettävään tilastolliseen arviointimenettelyyn. Tutkimuksessa on laskettava varhaismunarakkuloiden määrä, johon voidaan yhdistää pienten kasvavien munarakkuloiden määrä, jotta käsiteltäviä munasarjoja ja kontrolliryhmään kuuluvia munasarjoja voidaan verrata. (15)(16)(17)(18)(19).

#### 1.5.8.2 *Vieroitetut poikaset*

Vakavasti epämuodostuneet kudokset ja kohde-elimet kaikilta poikasilta, joilla on ulkoisia epämuodostumia tai kliinisiä merkkejä, sekä yhdeltä sellaiselta F1- ja F2-sukupolvesta satunnaisesti valitulta poikaselta kummastakin sukupuolesta ja kustakin poikueesta, jota ei ole valittu paritukseen, käsitellään fiksatiivilla ja säilötään sopivalla tavalla histopatologista tutkimusta varten. Säilytyille kudoksille tehdään täydellinen histopatologinen määrittäminen, jossa pääpaino on lisääntymiselinten tutkimisessa.

## 2 MÄÄRITYSTULOKSET

### 2.1 TULOSTEN KÄSITTELY

Tiedot raportoidaan yksilöittäin ja esitetään taulukossa, jossa on eritelty testiryhmittäin ja sukupolvittain eläinten määrä testin alussa, testin aikana kuolleiden tai inhimillisistä syistä lopetettujen eläinten määrä, milloin eläimet ovat kuolleet tai lopetettu, fertiilien eläinten määrä, tiineiden naaraiden määrä, niiden eläinten määrä, joissa myrkyllisyysvaikutuksia on havaittavissa, kuvaus havaituista myrkyllisyysvaikutuksista mukaan lukien myrkytysoireiden alkamisaika, kesto ja vakavuus, millaisia havaintoja vanhemmista ja poikasista on tehty, millaisia histopatologisia muutoksia on havaittu sekä kaikki asiaankuuluvat tiedot poikueesta.

Numeeriset tulokset arvioidaan sopivalla, yleisesti hyväksytyllä tilastollisella menetelmällä, joka on valittava tutkimusta suunniteltaessa ja jonka valinta on perusteltava. Annostasovasteiden tilastolliset mallit voivat olla avuksi tietojen analyysissa. Tutkimuselosteessa on oltava analyysimenetelmästä ja käytetystä tietokoneohjelmasta riittävät tiedot, jotta riippumaton arvioija/tilastoasiantuntija voi niiden avulla arvioida ja rekonstruoida analyysin.

## 2.2 TULOSTEN ARVIOINTI

Kaksi sukupolvea käsittävän lisääntymiskykyyn kohdistuvien myrkyllisyysvaikutusten tutkimuksen löydökset – mukaan lukien ruumiinavauslöydökset ja mikroskooppiset löydökset – on arvioitava havaittujen vaikutusten pohjalta. Arvioinnissa tulee todeta testiaineen annostason ja epämuodostumien tai häiriöiden – mukaan lukien vakavat vauriot, tietyt kohde-elimet, vaikutukset hedelmällisyyteen, kliiniset häiriöt, vaikutukset lisääntymiskykyyn ja poikueen kokoon/laatuun, ruumiinpainon muutokset, vaikutukset kuolleisuuteen sekä muut myrkyllisyysvaikutukset – esiintyvyyden ja vaikutusten vakavuuden välinen mahdollinen suhde. Testitulosten arvioinnissa on otettava huomioon testiaineen fysikokemialliset ominaisuudet ja toksikokineettiset tiedot, milloin jälkimmäisiä on saatavissa.

Asianmukaisesti toteutetussa lisääntymiskykyyn kohdistuvien myrkyllisyysvaikutusten tutkimuksessa pitäisi saada tyydyttävä arvio haitattomasta annostasosta sekä tietoa haittavaikutuksista lisääntymiskykyyn, synnytykseen, imetykseen sekä syntymän jälkeiseen kehitykseen mukaan lukien kasvun ja sukupuolinen kehitys.

## 2.3 TULOSTEN TULKINTA

Kaksi sukupolvea käsittävä lisääntymiskykyyn kohdistuvien myrkyllisyysvaikutusten tutkimus tuottaa tietoja toistuvan testiainealtistuksen vaikutuksista kaikissa lisääntymiskierron vaiheissa. Erityisesti tutkimus tuottaa tietoja lisääntymisfysiologisista muuttujista sekä poikasten kehityksestä, kasvusta, sukukypsyden saavuttamisesta ja eloonjäämisestä. Tutkimuksen tulokset on tulkittava yhdessä subkroonisten, prenataalisen kehityksen aikaisten ja toksikokineettisten sekä muiden käytettävissä olevien tutkimustulosten kanssa. Tämän tutkimuksen tulosten pohjalta voidaan arvioida tietyn kemikaalin jatkotutkimustarve. Tulosten ekstrapolointi koskemaan ihmistä on validia rajoitetussa määrin. Tuloksia voidaan parhaiten käyttää haitattoman annostason ja ihmisille sallitun altistuksen määrittämiseen (20)(21)(22)(23).

### 3 TULOSTEN ILMOITTAMINEN

#### TESTISELOSTE

Testiselosteessa on annettava seuraavat tiedot:

Testiaine:

- fysikaalinen olomuoto ja tarvittaessa fysikokemialliset ominaisuudet
- tunnistetiedot
- puhtaus.

Kantaja-aine (tarvittaessa):

- jos kantaja-aine on muu kuin vesi, sen valinta on perusteltava.

Koe-eläinlajit:

- käytetty eläinlaji ja kanta
- eläinten lukumäärä, ikä ja sukupuoli
- toimittaja, häkit, ravinto, pesäntekoaineet ja niin edelleen
- kunkin eläimen paino testin alussa.

Testiolosuhteet:

- annostasojen valintaperusteet
- yksityiskohtaiset tiedot testiainevalmisteesta/ravintovalmisteesta, testiaineen saavutettu pitoisuus
- valmisteen stabiilisuus ja tasalaatuisuus
- yksityiskohtaiset tiedot testiaineen antotavasta
- todellinen annos (mg/painokilo/vrk) ja muuntokerroin ravintoon/juomaveteen sekoitetun testiaineen pitoisuudelle (ppm) tarvittaessa
- yksityiskohtaiset tiedot ravinnon ja veden laadusta.

## Tulokset:

- ravinnonotto sekä nautitun veden määrä, mikäli se on mitattu, ruumiinpainon lisäys nautittua ravintogrammaa kohti sekä saadun testiaineen määrä P- ja F1-eläimillä, lukuun ottamatta sitä aikaa, kun eläimet pidetään yhdessä, ja vähintään imetyksajan viimeisen kolmanneksen aikana
- absorptiotiedot (jos mitattu)
- paritukseen valittujen P- ja F1-eläinten painotiedot
- poikueiden ja poikasten painotiedot
- P-eläinten paino lopettamishetkellä sekä elinten absoluuttinen ja suhteellinen paino
- kliinisten havaintojen laatu, vakavuus ja kesto (riippumatta siitä, korjaantuvatko vauriot myöhemmin)
- kuoloinaika testin kuluessa tai elikö koe-eläin lopettamiseen asti
- myrkkyyvastetiedot sukupuolen ja annoksen mukaan sekä parituksen, hedelmällisyyden, tiineyden, syntymän, elinkelpoisuuden ja imetyksen indeksit; selosteessa tulee esittää luvut, joista nämä indeksit on laskettu
- toksiset tai muut vaikutukset lisääntymisfysiologiaan, poikasiin, syntymänjälkeiseen kasvuun ja niin edelleen
- ruumiinavauslöydökset
- yksityiskohtaiset tiedot kaikista histopatologisista löydöksistä
- P- ja F1-sukupolvien niiden naaraiden lukumäärä, joilla on normaali kiimasykli, sekä syklin pituus
- lisäksi hännän siittiöiden kokonaismäärä, progressiivisesti liikkuvien siittiöiden prosenttiosuus, morfologisesti normaalien siittiöiden prosenttiosuus ja poikkeavien siittiöiden prosenttiosuus kunkin tietyn poikkeavuuden mukaan
- aika pariutumiseen asti, mukaan lukien pariutumista edeltävien päivien määrä
- tiineyden kesto
- implantaatioiden ja keltarauhasten määrä sekä poikueiden koko
- elävänä syntyneiden poikasten määrä ja implantaation jälkeen tapahtuneet abortoitumiset
- selvästi näkyvistä epämuodostumista kärsivien poikasten lukumäärä; erityisen pienikasvuisten poikasten lukumäärä, jos se on määritetty
- tiedot poikasten fyysisistä kehitysvaiheista ja muut syntymän jälkeisen kehityksen tiedot; arvioitujen kehitysvaiheiden valinta on perusteltava
- poikasten ja aikuisten toiminnallisesta havainnoinnista saadut tiedot soveltuvin osin
- tulosten tilastollinen käsittely tapauksen mukaan.

Tulosten pohdinta.

Johtopäätökset, mukaan lukien haitattoman altistustason (NOAEL) arvot emojen ja poikasten osalta.

## LÄHDELUETTELO

- (1) Sadleir, R.M.F.S. (1979). Cycles and Seasons. Teoksessa: *Reproduction in Mammals: I. Germ Cells and Fertilization*, C.R. Auston and R.V. Short (toim.), 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. Teoksessa: *Methods in Toxicology*, Part A., Academic, Orlando, Florida. s. 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 Spermatotoxicity 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* 17:298–303.
- (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, (toim.) (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*. Teoksessa: *Growth Factors and the Ovary*, A.N. Hirshfield (toim.), Plenum, New York, pp. 421-426.
- (17) Manson, J.M. and Y.J. Kang, (1989). *Test Methods for Assessing Female Reproductive and Developmental Toxicology*. Teoksessa: *Principles and Methods of Toxicology*, A.W. Hayes (toim.), 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*. Teoksessa: *An Evaluation and Interpretation of Reproductive Endpoints for Human Health Risk Assessment*, G. Daston, and C.A. Kimmel, (toim.), ILSI Press, Washington, DC.
- (20) Thomas, J. A. (1991). *Toxic Responses of the Reproductive System*. Teoksessa: *Casarett and Doull's Toxicology*, M.O. Amdur, J. Doull, and C.D. Klaassen (toim.), Pergamon, New York.
- (21) Zenick, H. and E.D. Clegg, (1989). *Assessment of Male Reproductive Toxicity: A Risk Assessment Approach*. Teoksessa: *Principles and Methods of Toxicology*, A.W. Hayes (toim.), Raven Press, New York.
- (22) Palmer, A.K. (1981). Teoksessa: *Developmental Toxicology*, Kimmel, C.A. and J. Buelke-Sam (toim.), Raven Press, New York.
- (23) Palmer, A.K. (1978). Teoksessa: *Handbook of Teratology*, Vol. 4, J.G. Wilson and F.C. Fraser (toim.), Plenum Press, New York.

## **LIITE 2H**

**B.42. IHOHERKISTYS: PAIKALLINEN IMUSOLMUKEMÄÄRITYSMENETELMÄ****1. MENETELMÄ**

Tämä menetelmä on toisinto OECD:n testiohjeesta nro 429 (2002).

**1.1 JOHDANTO**

Paikallinen imusolmukemääritysmenetelmä (Local Lymph Node Assay, LLNA) on riittävästi validoitu ja hyväksytty, joten se voidaan perustellusti määrätä uudeksi menetelmäksi (1)(2)(3). Tämä on toinen menetelmä kemikaalien ihoherkistyspotentiaalın arvioimiseksi eläimillä. Ensimmäisessä menetelmässä (B.6) käytetään marsutestejä, erityisesti marsuilla tehtävää maksimisaatiotestiä ja Bühlerin testiä (4).

LLNA on vaihtoehtoinen menetelmä, jonka avulla voidaan tunnistaa ihoa herkistävät kemikaalit ja varmistaa, että kemikaaleilla ei ole merkittävää ihoherkistyspotentiaalia. Tämä ei välttämättä merkitse sitä, että LLNA-menetelmää pitäisi käyttää kaikissa tapauksissa marsutestin asemesta, vaan pikemminkin sitä, että menetelmä on yhtä hyvä ja sitä voidaan käyttää vaihtoehtona, jossa positiivisia ja negatiivisia tuloksia ei yleensä enää tarvitse varmistaa uudelleen.

LLNA-menetelmällä on joitakin etuja sekä tieteen edistyksen että eläinten hyvinvoinnin kannalta. Menetelmällä tutkitaan ihoherkistuksen induktiovaihetta ja tuotetaan annosvasteen arviointiin sopivia kvantitatiivisia tuloksia. LLNA-menetelmän validointitiedot sekä siihen liittyvien tutkimusten tarkastelu on julkaistu lähteissä (5), (6), (7) ja (8). Lisäksi on syytä huomata, että lievää tai keskimääräistä herkistystä aiheuttavia aineita, joita suositellaan positiivisiksi kontrolliaineiksi marsutestimenetelmissä, voidaan käyttää myös LLNA-menetelmän yhteydessä (6)(8)(9).

LLNA on in vivo -menetelmä, joten sillä ei lopeteta koe-eläinten käyttöä kosketusherkistuksen arvioinnissa. Sen sijaan sillä voidaan vähentää tähän tarkoitukseen tarvittavien eläinten määrää. Lisäksi LLNA-menetelmässä käytetty tapa testata kosketusherkistyt eläimillä on huomattavasti aikaisempia edistyneempi. LLNA-menetelmän perustana on kemikaalien aiheuttamien immunologisten tapahtumien tarkastelu ihoherkistuksen induktiovaiheen aikana. Marsutesteistä poiketen LLNA-menetelmässä ei edellytetä tarkoituksellista ihon yliherkkyysoireiden tuottamista. LLNA-menetelmä ei myöskään edellytä adjuvantin käyttöä, kuten marsuilla tehtävä maksimisaatiotesti. LLNA-menetelmään liittyy siis vähemmän eläinten kärsimystä. Vaikka LLNA-menetelmällä onkin perinteisiin marsutesteihin verrattuna etuja, on syytä huomata, että siihen liittyy joitakin rajoituksia, joiden vuoksi voi olla tarpeen käyttää perinteisiä marsutestejä (esimerkiksi väärät negatiiviset löydökset LLNA-menetelmällä joidenkin metallien kohdalla ja väärät positiiviset löydökset joidenkin ihoa ärsyttävien aineiden kohdalla) (10).

Katso myös osan B johdanto.

## 1.2 TESTIMENETELMÄN PERIAATE

LLNA-menetelmän peruseriaate on, että ihoa herkistävät aineet aiheuttavat primaaria lymfosyyttien proliferaatiota imusolmukkeessa, joka kuljettaa kemiallisen aineen alueelta. Tämä proliferaatio on suhteessa käytettyyn annokseen (ja allergeenin voimakkuuteen) ja tarjoaa yksinkertaisen keinon ihoherkistykseen mittaamiseksi objektiivisella ja kvantitatiivisella tavalla. LLNA-menetelmässä arvioidaan proliferaatio annosvastesuhteena, jossa testiryhmässä tapahtuvaa proliferaatiota verrataan kantaja-aineella käsitellyssä kontrolliryhmässä tapahtuvaan. Testiryhmien ja kontrolliryhmien proliferaation suhde (stimulaatioindeksi) määritetään, ja sen on oltava vähintään 3, ennen kuin testiaine voidaan arvioida mahdollisesti ihoherkistystä aiheuttavaksi. Tässä kuvatut menetelmät perustuvat solujen proliferaation mittaamiseen radioaktiivisen merkkiaineen avulla. Proliferaation arvioimiseksi voidaan kuitenkin käyttää myös muita päätepisteitä edellyttäen, että niiden käyttö on perusteltua, tutkimukset tukevat sitä ja mukaan liitetään täydelliset viitteet ja menetelmän kuvaus.

## 1.3 TESTIMENETELMÄN KUVAUS

### 1.3.1 Valmistelut

#### 1.3.1.1 *Koe-eläintilat ja eläinten ruokinta*

Jokaisella eläimellä on oltava oma häkki. Koe-eläintilan lämpötilan on oltava 22 °C ( $\pm 3$  °C). Vaikka riittää, että suhteellinen kosteus on vähintään 30 % eikä mielellään ylitä 70 %:a muulloin kuin huoneen puhdistuksen aikana, pitäisi kuitenkin pyrkiä 50–60 %:n suhteelliseen kosteuteen. Huoneessa on käytettävä keinovalaistusta 12 tunnin jaksoissa (12 tuntia valoa, 12 tuntia pimeää). Eläinten ruokinnassa voidaan käyttää normaalia laboratorioruokavaliota, eikä juomaveden määrää saa rajoittaa.

#### 1.3.1.2 *Eläinten valmistelu*

Eläimet valitaan satunnaistetusti, merkitään niin, että yksilöt voidaan erottaa toisistaan (ei kuitenkaan korvamerkeillä), ja pidetään häkeissä vähintään viiden päivän ajan ennen testiaineen annostelun aloittamista, jotta ne tottuvat laboratorio-olosuhteisiin. Ennen käsittelyn alkua kaikki eläimet on tutkittava sen varmistamiseksi, ettei niillä ole havaittavia ihovaurioita.

### 1.3.2 Testiolosuhteet

#### 1.3.2.1 *Koe-eläimet*

Tähän testiin paras eläinlaji on hiiri. Testissä käytetään nuoria täysikasvuisia CBA/Ca- tai CBA/J-kannan naarashiiriä, jotka eivät ole synnyttäneet eivätkä ole raskaana. Testin alussa eläinten on oltava 8–12 viikon ikäisiä ja eläinten painoerojen on oltava vähäisiä eli enintään 20 % keskipainosta. Muita kantoja tai uroseläimiä voidaan käyttää, jos tulostietoja tuotetaan riittävästi sen osoittamiseksi, että LLNA-vasteessa ei esiinny merkitseviä koe-eläinkantaan tai sukupuoleen liittyviä eroja.

#### 1.3.2.2 *Reliabiliteetin tarkistus*

Positiivisten kontrollien tarkoitus on osoittaa määrittämenetelmän toimivuus ja laboratorion pätevyys menetelmän käyttämisessä. Positiivisen kontrolliryhmän on tuotettava positiivinen LLNA-vaste altistustasolla, jonka odotetaan antavan stimulaatioindeksin (SI), joka on  $>3$  verrattuna negatiiviseen kontrolliryhmään. Positiivisen kontrolliryhmän annostaso on valittava siten, että induktio on selvä mutta ei liiallinen. Suositeltavia aineita ovat heksyylikanelialdehydi (CAS-numero 101-86-0, EINECS-numero 202-983-3) ja merkaptobentsotiatsoli (CAS-numero 149-30-4, EINECS-numero 205-736-8). Joissakin olosuhteissa, jos on riittävät perusteet, voidaan käyttää muita kontrolliaineita, jotka täyttävät edellä mainitut kriteerit. Vaikka määrittämenetelmissä tavallisesti edellytetään positiivisen kontrolliryhmän käyttöä, testilaboratoriolla voi joissakin tapauksissa olla historiallisia positiivisen kontrolliryhmän määritystuloksia, jotka osoittavat tyydyttävän vasteen pysyvyyttä kuuden kuukauden jaksolta tai pitemmältä ajalta. Tällaisessa tapauksessa positiivisia kontrolliryhmiä voidaan testata harvemmin, kuitenkin enintään kuuden kuukauden välein. Vaikka positiivisen kontrolliryhmän testiaineet on testattava kantaja-aineessa, jonka tiedetään antavan aina samanlaisen vasteen (esimerkiksi asetoni: oliiviöljy), joidenkin säännösten mukaan testaus epästandardissa kantaja-aineessa (kliinisesti/kemiallisesti relevantissa aineessa) saattaa myös olla tarpeen. Tällöin on testattava positiivisen kontrolliaineen mahdollinen vuorovaikutus epästandardin kantaja-aineen kanssa.

### 1.3.2.3 *Koe-eläinten määrä, annostasot ja kantaja-aineen valinta*

Kussakin annostasoryhmässä on oltava vähintään neljä eläintä, ja testiaineesta on käytettävä vähintään kolmea konsentraatiota; lisäksi käytetään negatiivista kontrolliryhmää, joka käsitellään vain testiaineen kantaja-aineella, sekä tarpeen mukaan positiivista kontrolliryhmää. Tapauksissa, joissa kerätään yksittäisten eläinten tietoja, kussakin annosryhmässä on oltava vähintään viisi eläintä. Kontrolliryhmän eläimiä on kohdeltava samalla tavoin kuin testiryhmän eläimiä, paitsi että niitä ei käsitellä testiaineella.

Annostason ja kantaja-aineen valinnan on perustuttava lähteessä (1) esitettyihin suosituksiin. Annostasot valitaan konsentraatiosarjasta 100 %, 50 %, 25 %, 10 %, 5 %, 2,5 %, 1 %, 0,5 % ja niin edelleen. Jos käytettävissä on aiempia tietoja aineen akuutista toksisuudesta ja ihoärsytyksestä, ne on otettava huomioon kolmen peräkkäisen konsentraation valinnassa siten, että suurin konsentraatio edustaa maksimialtistusta, kuitenkin niin, että vältetään koko elimistöön kohdistuvaa toksisuutta ja liian voimakasta paikallista ihoärsytystä (2)(11).

Kantaja-aine on valittava siten, että testikonsentraatiot ja niiden liukoisuus voidaan maksimoida ja saadaan testiaineen annostelua varten sopiva liuos/suspensio. Suositeltavat kantaja-aineet suositusjärjestyksessä ovat asetoni/oliiviöljy (4:1 v/v), dimetyyliformamidi, metyylietyyliketoni, propyleeniglykoli ja dimetyylisulfoksidi (2)(10); muitakin kantaja-aineita voidaan käyttää riittävän tieteellisin perustein. Joissakin tilanteissa voi olla tarpeen käyttää lisäkontrolliaineena kliinisesti perusteltua liuotinta tai kaupallista valmistetta, jossa testiainetta markkinoidaan. Erityisesti on varmistettava, että kantaja-ainejärjestelmässä on hydrofiilisiä aineita, jotta aine vettää ihon eikä valu heti pois. Pelkkiä vesiliuoksia on siis syytä välttää.

### 1.3.3 **Testin suoritus**

#### 1.3.3.1 *Testiaikataulu*

Määrittämenetelmän aikataulu on seuraava:

- *Päivä 1:*  
Määritetään ja kirjataan kunkin koe-eläimen paino. Koe-eläimen kummankin korvan takaosaan annostellaan avoannosteluna 25 µl testiaineen, kantaja-aineen tai positiivisen kontrolliaineen sopivaa laimennosta.
- *Päivät 2 ja 3:*  
Toistetaan päivänä 1 toteutettu menettely.
- *Päivät 4 ja 5:*  
Ei käsittelyä.
- *Päivä 6:*  
Kirjataan kunkin eläimen paino. Ruiskutetaan 250 µl fosfaattipuskuroitua suolaliuosta (PBS), joka sisältää 20 µCi (7,4e + 8 Bq) <sup>3</sup>H-metyylitymidiniä, kaikkiin testi- ja kontrolliryhmän hiiriin häntävaltimon kautta. Vaihtoehtoisesti ruiskutetaan 250 µL PBS:ää, joka sisältää 2 µCi (7,4e + 7 Bq) <sup>125</sup>I-jododeoksiuridiinia ja 10<sup>-5</sup> M-fluorodeoksiuridiinia, kaikkiin hiiriin häntävaltimon kautta.

Viiden tunnin kuluttua eläimet lopetetaan. Kummastakin korvasta leikataan irti nestettä vievät korvalehden imusolmukkeet ja koko koeryhmän imusolmukkeet upotetaan PBS:ään (käsittelyryhmän näytteet yhdistetään); vaihtoehtoisesti kultakin eläinyksilöltä voidaan leikata imusolmukepari ja upottaa se yksilöittäin PBS:ään (vain yhden yksilön näytteet). Imusolmukkeiden tunnistukseen ja leikkaamiseen liittyvät tiedot ja kaaviot ovat lähteen (10) liitteessä 1.

### 1.3.3.2 *Solususpensioiden valmistus*

Testiryhmien yhdistetyistä imusolmukesoluista tai yksittäisten eläinten imusolmukeparien soluista valmistetaan suspensio, jossa kaikki solut ovat irrallaan muista (yksisolususpensio), mekaanisesti hajottamalla solukertymät painamalla ne varovaisesti ruostumattoman terässeulan läpi (silmäkoko 200 µm). Imusolmukesolut pestään kahdesti runsaalla PBS:llä ja saostetaan 5 %:ssa trikloorietikkahapossa 4 °C:n lämpötilassa 18 tunnin ajan (1). Pelletit voidaan joko resuspendoida 1 ml:aan trikloorietikkahappoa ja siirtää tuikeputkiin, joissa on 10 ml tuikenestettä <sup>3</sup>H-laskentaa varten, tai siirtää suoraan gammalaskentaputkiin <sup>125</sup>I-laskentaa varten.

### 1.3.3.3 *Solujen proliferaation (inkorporoituneen radioaktiivisuuden) määrittäminen*

<sup>3</sup>H-metyylitymidiniinin inkorporoituminen mitataan β-tuikelaskennalla hajoamisina minuutissa (DPM). <sup>125</sup>I-jododeoksiuridiinin inkorporoituminen mitataan <sup>125</sup>I-laskennalla ja ilmoitetaan niin ikään DPM-arvona. Inkorporoituminen ilmoitetaan DPM:nä joko testiryhmää kohti tai eläintä kohti.

### 1.3.3.4 *Havainnot*

#### 1.3.3.4.1 *Kliiniset havainnot*

Eläimistä on päivittäin havainnoitava huolellisesti mahdolliset kliiniset merkit joko annostelualueen paikallisesta ärsytyksestä tai koko elimistöön kohdistuvasta toksisuudesta. Kaikki havainnot kirjataan järjestelmällisesti erikseen kustakin eläinyksilöstä.

#### 1.3.3.4.2 *Ruumiinpainot*

Kuten kohdassa 1.3.3.1 mainitaan, kukin eläin on punnittava erikseen testin alussa ja aikataulun mukaisen lopettamisen yhteydessä.

### 1.3.4 **Tulosten laskeminen**

Tulokset ilmoitetaan stimulaatioindeksinä (SI). Ryhmänäytteistä SI-arvo saadaan jakamalla kunkin testiryhmän yhdistetty radioaktiivinen inkorporoituminen kantaja-ainekontrolliryhmän yhdistetyllä inkorporoitumisella, jolloin saadaan SI:n keskiarvo. Yksilönäytteistä SI-arvo saadaan jakamalla testiaineryhmän ja positiivikontrolliryhmän eläinkohtaisista DMP-arvoista laskettu keskiarvo liuotin/kantaja-aine kontrolliryhmän vastaavalla tuloksella. Kantaja-aineella käsiteltyjen kontrolliryhmien SI:n keskiarvo on 1.

Kun SI-arvo lasketaan yksilönäytteistä, määrittäytulokset voidaan analysoida tilastollisesti. Sopivaa tilastollista menetelmää valittaessa tutkijan on syytä pitää mielessä varianssien mahdolliset erot ja muut vastaavat ongelmat, jotka saattavat edellyttää määrittäytulosten muuntamista tai non-parametrilla tilastollista analyysia. Sopiva käytäntö määrittäytulosten tulkintaan on arvioida testi- ja kontrolliryhmien yksittäiset määrittäytulokset ja derivoida näistä parhaiten sopiva annos-vastekäyrä, jossa luottamusvälit on otettu huomioon (8)(12)(13). Tutkijan on kuitenkin tarkattava ryhmissä mahdollisesti esiintyviä yksittäisten eläinten vasteita, jotka ovat käyrän ulkopuolella ja saattavat vaatia vasteen mittaamista vaihtoehtoisella menetelmällä (esimerkiksi mediaanina eikä keskiarvona) tai käyrän ulkopuolella olevan arvon poistamista.

Tuloksen voidaan katsoa olevan positiivinen, kun stimulaatioindeksi on  $\geq 3$ , kun annosvaste ja tapauksen mukaan tilastollinen merkitsevyys on otettu huomioon(3)(6)(8)(12)(14).

Jos saatuja tuloksia pitää selvittää, on syytä ottaa huomioon testiaineen erilaiset ominaisuudet, mukaan luettuina mahdolliset rakenteelliset yhtäläisyydet tunnettuihin ihon herkistystä aiheuttaviin aineisiin, sen mahdollisesti aiheuttama liiallinen ihoärsytys ja havaitun annosvasteen luonne. Näitä ja muita huomionarvoisia seikkoja käsitellään yksityiskohtaisesti lähteessä (7).

## 2 MÄÄRITYSTULOKSET

Tulokset on esitettävä taulukkona, josta käyvät ilmi DPM-arvojen keskiarvot ja yksittäiset arvot sekä kunkin annosryhmän (myös kantaja-ainekontrolliryhmän) stimulaatioindeksi.

## 3 TULOSTEN ILMOITTAMINEN

### LOPPURAPORTTI

Loppuraportti on annettava seuraavat tiedot:

Testiaine:

- tunnistetiedot (esimerkiksi CAS-numero, jos tiedossa; alkuperä, puhtaus, tunnetut epäpuhtaudet, eränumero)
- fysikaalinen olomuoto ja fysikokemialliset ominaisuudet (esimerkiksi haihtuvuus, stabiilisuus, liukoisuus)
- jos kyseessä on seos, sen koostumus ja ainesosien suhteelliset osuudet.

Kantaja-aine:

- tunnistetiedot (puhtaus, tarvittaessa konsentraatio, käytetty tilavuus)
- perustelut kantaja-aineen valinnalle.

Koe-eläimet:

- käytetty hiirikanta
- eläinten mikrobiologinen tila, jos se on tiedossa
- eläinten määrä, ikä ja sukupuoli
- eläinten alkuperä, koe-eläintilat, ruokavalio ja niin edelleen.

Testiolosuhteet:

- tiedot testiaineen valmistelusta ja annostelusta
- perustelut annostasojen valinnalle, mukaan luettuina vaihteluväliä selvittävän tutkimuksen tulokset, jos tutkimus on tehty; käytetyt kantaja- ja testiaineiden konsentraatiot ja annostellun aineen kokonaismäärä
- tiedot ravinnon ja veden laadusta (mukaan luettuina ruokavalion tyyppi/alkuperä, veden alkuperä).

Reliabiliteetin tarkistus:

- yhteenveto viimeisestä reliabiliteetin tarkistuksen tuloksista, mukaan luettuina tiedot käytetystä testiaineesta, konsentraatiosta ja kantaja-aineesta
- testauslaboratorion nykyiset ja/tai aiemmat positiivisten ja negatiivisten kontrollien tulokset.

Tulokset:

- kunkin eläimen paino annostelun alussa ja aikataulun mukaisen lopettamisen yhteydessä
- taulukko DPM-keskiarvoista (ryhmänäytteet) tai yksittäisistä DPM-arvoista (yksilönäytteet) sekä kunkin annostasoryhmän stimulaatioindeksit (mukaan lukien kantaja-ainekontrolliryhmä).
- tilastollinen analyysi tarvittaessa
- toksisuuden ilmeneminen ajan funktiona ja toksisuuden merkit, mukaan luettuna annostelualueen ihoärsytys, jos sellaista esiintyy, erikseen kullekin eläinyksilölle.

Tulosten pohdinta:

- tulosten lyhyt kommentointi, annos-vasteanalyysi ja tarvittaessa tilastollinen analyysi sekä johtopäätös siitä, voidaanko testiainetta pitää ihoherkistystä aiheuttavana.

## LÄHDELUETTELO

- 1 Kimber, I. and 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, and 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 Testimenetelmä B.6.
- 5 Chamberlain, M. and 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. and 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. and 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: employment of a regression method that includes determination of uncertainty margins. *Toxicology*, 146, 49–59.
- 9 Dearman, R. J., Hilton, J., Evans, P., Harvey, P., Basketter, D. A. and 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 Testimenetelmä B.4.
- 12 Basketter, D. A., Selbie, E., Scholes, E. W. Lees, D. Kimber, I. and Botham, P. A. (1993). Results with OECD recommended positive control sensitizers 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<sub>3</sub> 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. and 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. NEUROTOKSISUUSTUTKIMUS JYRSIJÖILLÄ

#### 1. MENETELMÄ

Tämä menetelmä vastaa OECD:n testiohjetta nro 424 (1997).

Tämän testimenetelmän tarkoituksena on tuottaa tiedot, joilla voidaan varmistaa kemikaalien mahdollinen neurotoksisuus täysikasvuissa eläimillä tai kuvata se tarkemmin. Testi voidaan joko yhdistää toistuvan annostelun toksisuustutkimusten nykyisiin testimenetelmiin tai suorittaa erillisenä tutkimuksena. Tällä testimenetelmällä tehtävien tutkimusten suunnittelussa on suositeltavaa käyttää apuna OECD:n ohjeasiakirjaa neurotoksisuuden testistrategioista ja -menetelmistä (Guidance Document on Neurotoxicity Testing Strategies and Methods (1)). Tämä on erityisen tärkeää suunniteltaessa muutoksia menetelmän rutiinikäyttöön suositeltuihin havaintoihin ja testin suoritukseen. Ohjeasiakirjan tarkoituksena on helpottaa muiden testien valintaa tiettyissä oloissa. Tällä menetelmällä ei arvioida sikiönkehitykseen liittyvää neurotoksisuutta.

#### 1.1 JOHDANTO

Arvioitaessa kemikaalien toksisia ominaisuuksia on tärkeää ottaa huomioon mahdolliset neurotoksiset vaikutukset. Toistuvan annostelun systeemisen toksisuuden testimenetelmään sisältyy jo havaintojen tekoa mahdollisen neurotoksisuuden seulomiseksi. Tämän testimenetelmän avulla voidaan suunnitella tutkimus, jolla saadaan lisätietoja toistuvan annostelun systeemisen toksisuuden tutkimuksissa havaituista neurotoksisista vaikutuksista tai varmistetaan nämä vaikutukset. Tiettyjen kemikaaliluokkien mahdollinen neurotoksisuus voi kuitenkin antaa viitteitä siitä, että niiden arviointi on tarkoituksenmukaisempaa tällä menetelmällä, kun mahdollista neurotoksisuutta ei ole aiemmin osoitettu toistuvan annostelun systeemisen toksisuuden tutkimuksissa. Huomioon otettavia seikkoja ovat esimerkiksi

- havainnot hermostollisista oireista tai neuropatologisista vaurioista muissa toksisuustutkimuksissa kuin toistuvan annostelun systeemisen toksisuuden tutkimuksissa tai
- rakenteellinen sukulaisuus tai muut tiedot, jotka yhdistävät kyseiset kemikaalit tunnettuihin neurotoksiin aineisiin.

Tämän testimenetelmän käyttäminen voi olla tarkoituksenmukaista muissakin tapauksissa. Yksityiskohtaisempia tietoja viitteessä (1).

Menetelmä on kehitetty sellaiseksi, että se voidaan räätälöidä erityistarpeisiin, jotta voidaan varmistaa kemikaalin spesifinen histopatologinen ja käyttäytymiseen vaikuttava neurotoksisuus sekä kuvata neurotoksiset vasteet ja kvantifioida ne.

Aiemmin neurotoksisuus rinnastettiin neuropatiaan, johon liittyi neuropatologisia vaurioita tai hermoston toimintahäiriöitä kuten kohtauksia, halvaus tai vapinaa. Vaikka neuropatia onkin tärkeä neurotoksisuuden ilmenemismuoto, nykyään on selvää, että hermostoon kohdistuvaan toksisuuteen liittyy monia muitakin oireita (esimerkiksi motorisen koordinaation puute, aistitoiminnan vajaukset, oppimis- ja muistihäiriöt), jotka eivät ilmene neuropatiaan liittyvissä tai muun tyyppisissä tutkimuksissa.

Tämän neurotoksisuuden testimenetelmän tarkoituksena on saada selville tärkeimmät hermostoperäiset käyttäytymiseen kohdistuvat ja neuropatologiset vaikutukset täysikasvuissa jyrsijöillä. Vaikka morfologisia muutoksia ei esiintyisi, vaikutukset käyttäytymiseen voivat ilmentää elimistöön kohdistuvaa haitallista vaikutusta. Kaikki käyttäytymismuutokset eivät kuitenkaan ole nimenomaan hermostoperäisiä. Siksi kaikkia havaittuja muutoksia on arvioitava vastaavien histopatologisten, hematologisten tai biokemiallisten sekä muun tyyppiseen systeemiseen toksisuuteen liittyvien tietojen perusteella. Tässä menetelmässä neurotoksisten vasteiden kuvaamiseksi ja kvantifiointiseksi tehtäviin testeihin kuuluu erityisiä histopatologisia ja käyttäytymiseen liittyviä testejä. Niiden lisätukena voidaan käyttää sähköfysiologisia ja/tai biokemiallisia tutkimuksia (1)(2)(3)(4).

Neurotoksiset aineet voivat vaikuttaa monin tavoin useisiin kohteisiin hermostossa. Koska yhdelläkään koesarjalla ei voida täysin arvioida kaikkien aineiden mahdollista neurotoksisuutta, saatetaan tarvita muita *in vivo* tai *in vitro* -testejä, jotka on erityisesti tarkoitettu havaitun tai ennakoitun neurotoksisuustyyppin tutkimiseen.

Soveltamalla yhdessä neurotoksisuuden testistrategioita ja -menetelmiä koskevan OECD:n ohjeasiakirjan (1) ohjeita ja tätä testimenetelmää voidaan myös suunnitella tutkimuksia, joiden tarkoituksena on kuvata tarkemmin annosvasteen kvantifiointia ja lisätä sen herkkyyttä. Näin voidaan paremmin arvioida haitaton vaikutustaso (no-observed-adverse effect level, NOAEL) tai osoittaa kemikaalin tiedetyt tai epäillyt haittavaikutukset. Voidaan esimerkiksi suunnitella tutkimuksia, joilla tunnistetaan ja arvioidaan neurotoksisuusmekanismeja tai täydennetään tietoja, joita on jo saatu käyttämällä tavanomaisia hermostoperäisiin käyttäytymisoireisiin kohdistuvia ja neuropatologisia havainnointimenetelmiä. Tällaisissa tutkimuksissa ei tarvitse yrittää hankkia tietoja, jotka saataisiin jo tässä menetelmässä suositelluilla tavanomaisilla kokeilla, mikäli nämä tiedot ovat jo saatavilla eikä niitä pidetä välttämättöminä tutkimustulosten tulkinnan kannalta.

Käytettäessä tätä neurotoksisuustutkimusta yksin tai yhdessä jonkin muun tutkimuksen kanssa saadaan tietoja, joiden avulla voidaan

- todeta, onko testattu kemikaali vahingoittanut hermostoa pysyvästi, vai ovatko vauriot palautuvia
- kuvata kemikaalialtistumiseen liittyviä hermostonmuutoksia ja ymmärtää niiden taustalla olevia mekanismeja
- määritellä annos-vaste- ja aika-vaste-suhteet haitattoman vaikutustason arvioimiseksi (jota voidaan käyttää kemikaalin turvallisuuskriteerien määrittelemisessä).

Tässä testimenetelmässä testiaine annostellaan suun kautta. Muut antotiet (esimerkiksi ihon kautta tai inhalaationa) voivat olla sopivampia ja edellyttää suorituksen yksityiskohtien muuttamista. Antotavan valintaan vaikuttavat ihmisen altistusominaisuudet ja saatavilla olevat toksikologiset tai kineettiset tiedot.

## 1.2 MÄÄRITELMÄT

**Haittavaikutus:** sellainen käsittelyyn liittyvä poikkeama perustasosta, joka vähentää organismin kykyä pysyä hengissä, lisääntyä tai sopeutua ympäristöön.

**Annos:** annettavan testiaineen määrä. Annos ilmaistaan painoyksikköinä (g, mg) tai testiaineen painona koe-eläimen painoyksikköä kohti (esimerkiksi mg/kg) tai vakioipitoisuuksina ravinnossa (ppm).

**Annostus:** yleistermi, joka käsittää annoksen, annostusvälit ja annostelun keston.

**Neurotoksisuus:** kemikaalille tai biologiselle tai fysikaaliselle aineelle altistumisesta aiheutuva haitallinen muutos hermoston rakenteessa tai toiminnassa.

**Neurotoksinen aine:** kemikaali tai biologinen tai fysikaalinen aine, joka voi aiheuttaa neurotoksisuutta.

**NOAEL:** (lyhenne sanoista no-observed-adverse effect level). Korkein annostaso, jolla ei havaita käsittelyyn liittyviä haitallisia löydöksiä.

## 1.3 TESTIMENETELMÄN PERIAATE

Testattavaa kemikaalia annostellaan suun kautta erilaisina annoksina useille koe-eläinryhmille, jotka ovat laboratoriokeissa käytettäviä jyrsijöitä. Tavallisesti käytetään toistuvaa annostusta. Annosteluohjelma voi kestää 28 päivää, 90 päivää (subkrooninen) tai yhden vuoden tai pidempään (krooninen). Tässä testimenetelmässä esitettyjä menettelyjä voidaan käyttää myös akuutin neurotoksisuuden tutkimuksessa. Eläimiä testataan käyttäytymiseen ja/tai hermostoon liittyvien poikkeavuuksien selvittämiseksi tai niiden kuvaamiseksi. Jokaisen havainnointijakson aikana arvioidaan monentyyppisiä käyttäytymisilmiöitä, johon neurotoksiset aineet voivat vaikuttaa. Testin lopussa osalle eläimistä (kaikista ryhmistä, kummastakin sukupuolesta) tehdään perfuusio *in situ*, ja aivoista, selkäytimestä ja ääreishermostosta preparoidaan leikkeitä, jotka tutkitaan.

Kun tutkimus suoritetaan erillisenä tutkimuksena neurotoksisuuden seulomiseksi tai neurotoksisten vaikutusten kuvaamiseksi, voidaan kustakin ryhmästä ne eläimet, joita ei käytetä perfuusioon tai myöhempiin histopatologisiin tutkimuksiin (katso taulukko 1), käyttää erityisiin hermostoperäisiin käyttäytymisomaisuuksiin liittyviin, neuropatologisiin, neurokemiallisiin tai sähköfysiologisiin tutkimuksiin. Näillä tutkimuksilla täydennetään tämän menetelmän perustutkimusta (1). Täydentävät tutkimukset voivat olla erityisen hyödyllisiä, kun empiiriset havainnot tai ennakoituvat vaikutukset osoittavat kemikaalin neurotoksisuuden olevan tietyn tyyppistä, tai että sillä on erityinen kohde. Vaihtoehtoisesti jäljelle jääneet eläimet voidaan käyttää arviointeihin, joita edellytetään jyrksijöillä tehtävien toistuvan annostelun toksisuustutkimusten tutkimusmenetelmissä.

Kun tämän testimenetelmän menettelyt yhdistetään muiden testimenetelmien menettelyihin, on käytettävä riittävää määrää eläimiä, jotta molempien tutkimusten havainnointiin liittyvät vaatimukset voidaan täyttää.

#### 1.4 MENETELMÄN KUVAUS

##### 1.4.1 Eläinlajin valinta

Suosittelavin jyrksijälaji on rotta, tosin muitakin jyrksijöitä voidaan käyttää, mikäli se on perusteltua. Testiin on käytettävä nuoria, täysikasvuisia ja terveitä eläimiä, jotka edustavat yleisesti käytettyjä koe-eläinkantoja. Naaraat eivät saa olla synnyttäneitä eikä kantavia. Annostelu aloitetaan yleensä mahdollisimman pian vieroituksen jälkeen, mieluiten eläinten ollessa kuuden viikon ikäisiä, ja joka tapauksessa ennen kuin ne ovat yhdeksän viikon ikäisiä. Kun tämä tutkimus yhdistetään muihin tutkimuksiin, ikävaatimusta saatetaan joutua mukauttamaan. Käytettyjen eläinten paino saa tutkimuksen alussa vaihdella korkeintaan  $\pm 20\%$  kummankin sukupuolen keskipainosta. Kun lyhytaikaista toistuvan annostelun tutkimusta seuraa pitkäaikaistutkimus, on molemmissa tutkimuksissa käytettävä samasta kannasta ja samasta lähteestä olevia eläimiä.

##### 1.4.2 Koe-eläintilat ja eläinten ruokinta

Koe-eläinhuoneen lämpötilan tulee olla  $22\text{ °C} (\pm 3\text{ °C})$ . Vaikka riittävät vaatimukset suhteellisen kosteuden suhteen ovat vähintään  $30\%$  eikä mielellään yli  $70\%$  muulloin kuin huoneen puhdistuksen aikana, pitäisi kuitenkin pyrkiä  $50\text{--}60\%$ :n suhteelliseen kosteuteen. Huoneessa tulee käyttää keinovalaistusta 12 tunnin jaksoissa (12 tuntia valoa, 12 tuntia pimeää). Pitäisi välttää äkkinäisiä kovia ääniä. Eläinten ruokinnassa voidaan käyttää normaalia laboratoriorehua, eikä juomaveden määrää saa rajoittaa. Rehun valintaan voi vaikuttaa se, miten testiaine voidaan sekoittaa rehuun tällä menetelmällä annosteltaessa. Eläimet voidaan pitää häkeissä yksittäin tai muutaman samaa sukupuolta olevan eläimen ryhmissä.

##### 1.4.3 Eläinten valmistelu

Nuoret, terveet eläimet jaetaan satunnaisotannalla testi- ja verrokkiryhmiin. Häkit tulee järjestää siten, että niiden sijoittamisesta mahdollisesti aiheutuvat vaikutukset ovat mahdollisimman vähäisiä. Eläimet merkitään yksilöllisesti ja pidetään häkeissään vähintään viiden päivän ajan ennen tutkimuksen aloittamista, jotta ne tottuvat laboratorio-oloihin.

##### 1.4.4 Antotie ja annosten valmistelu

Tutkimusmenetelmässä edellytetään nimenomaan testiaineen annostelua suun kautta. Suun kautta annostelu voi tapahtua letkuruokinnalla, rehun tai juomaveden mukana tai kapsleina. Muita antotapoja (esimerkiksi ihon kautta tai inhalaationa) voidaan käyttää, mutta suoritustapaa saatetaan joutua muuttamaan. Antotavan valintaan vaikuttavat ihmisen altistusominaisuudet sekä saatavilla olevat toksikologiset ja kineettiset tiedot. Antotien valintaperusteet sekä siitä tämän testimenetelmän suoritukseen aiheutuvat muutokset on ilmoitettava.

Testiaine liuotetaan tai suspensoidaan tarvittaessa sopivaan kantaja-aineeseen. Suositusten mukaan ensin tulee käyttää vesipohjaista liuosta/suspensiota, sitten öljypohjaista (esimerkiksi maissiöljy) liuosta/suspensiota ja vasta sitten mahdollisesti muuhun kantaja-aineeseen pohjautuvaa liuosta/suspensiota. Kantaja-aineen toksiset ominaisuudet on tunnettava. Lisäksi on kiinnitettävä huomiota seuraaviin kantaja-aineen ominaisuuksiin: kantaja-aineen vaikutukset testiaineen imeytymiseen, jakautumiseen, metaboloitumiseen ja elimistössä säilymiseen. Edellä mainitut tekijät voivat vaikuttaa testiaineen toksisiin ominaisuuksiin. Lisäksi on otettava huomioon kantaja-aineen vaikutus eläinten ravinnon ja veden kulutukseen sekä niiden ravitsemustilaan.

## 1.5 TESTIN SUORITUS

### 1.5.1 Eläinten määrä ja sukupuoli

Kun tutkimus suoritetaan erillisenä tutkimuksena, on kunkin annoksen testaamiseen sekä verrokkiryhmään, jolla arvioidaan yksityiskohtaisia kliinisiä ja toiminnallisia havaintoja, käytettävä vähintään 20 eläintä (10 naaraa ja 10 urosta). Ainakin viidelle urokselle ja viidelle naaraalle näistä kymmenestä uroksesta ja kymmenestä naaraasta on tehtävä perfuusio *in situ*, ja niitä on käytettävä yksityiskohtaisiin neurohistopatologisiin tutkimuksiin tutkimuksen lopussa. Silloin, kun tietystä annosryhmästä havainnoidaan vain muutamia eläimiä neurotoksisten vaikutusten osoittamiseksi, nämä eläimet olisi mahdollisesti otettava perfuusioon valittujen eläinten joukkoon. Kun tutkimus suoritetaan yhdessä toistuvan annostelun toksisuustutkimuksen kanssa, on käytettävä riittävästi eläimiä molempien tutkimusten tavoitteiden saavuttamiseksi. Taulukossa 1 on esitetty eläinten vähimmäismäärät ryhmää kohti useissa tutkimusyhdisteissä. Jos osa eläimistä aiotaan lopettaa kesken tutkimuksen tai suunnitellaan toipuvista eläimistä koostuvia ryhmiä toksisten vaikutusten palautuvuuden, jatkuvuuden ja ilmenemisen viivästymisen havainnoimiseksi testin jälkeen tai harkitaan täydentävien havaintojen tekemistä, eläinten määrää on lisättävä. Näin varmistetaan, että saatavilla on tarvittava määrä eläimiä havainnointia ja histopatologisia tutkimuksia varten.

### 1.5.2 Testiryhmä ja verrokkiryhmä

Yleensä käytetään vähintään kolmea annosryhmää ja yhtä verrokkiryhmää. Jos vaikutuksia ei muiden tietojen arvioinnin perusteella ole odotettavissa toistetulla vuorokausiannoksella 1000 mg/kg, voidaan tehdä raja-annostesti. Jos sopivia tietoja ei ole saatavilla, voidaan tehdä annosalueen haarukointitesti käytettävien annosten määrittämisen helpottamiseksi. Testiaineen annostelua lukuun ottamatta verrokkiryhmän eläimiä on käsiteltävä täsmälleen samoin kuin testiryhmän eläimiä. Jos testiaineen annostelussa käytetään kantaja-ainetta, sitä tulee antaa verrokkiryhmälle suurin käytetty määrä.

### 1.5.3 Luotettavuuden tarkistus

Tutkimuksen suorittavan laboratorion on esitettävä tiedot, joista ilmenevät sen kyky suorittaa tutkimus sekä käytettyjen menetelmien herkkyyden. Näistä tiedoista tulisi ilmetä kyky osoittaa ja kvantifioida muutokset päätepisteissä, joiden havainnointia suositellaan. Näitä ovat autonomiset oireet, aistien reaktiivisuus, tarttumaotteen voimakkuus ja motorinen aktiivisuus. Viitteissä 2-9 on tietoja eri tyyppisiä neurotoksisia vasteita aiheuttavista kemikaaleista, joita voidaan käyttää positiivisina kontrolliaineina. Aiemmin saatuja tietoja voidaan käyttää, jos koemenetelmien oleelliset osatekijät pysyvät ennallaan. Aiempien tietojen ajoittaista päivittystä suositellaan. Menetelmien herkkyyden säilymistä osoittavia uusia tietoja on tuotettava, kun testin suorittava laboratorio muuttaa jonkin testin toimenpiteiden suorittamisen kannalta olennaisen tekijän.

### 1.5.4 Annoksen valinta

Annostasojen valinnassa tulee ottaa huomioon kaikki testattavasta yhdisteestä tai sen sukulaisaineista saatavilla olevat aiemmin saadut toksisuus- ja kinetiikkatiedot. Korkein annostaso tulee valita siten, että sen tarkoituksena on aiheuttaa neurotoksisia vaikutuksia tai selviä systeemisen toksisuuden vaikutuksia. Tämän jälkeen annostasot valitaan asteittain alenevasti mahdollisen annosvasteen osoittamiseksi ja haitattoman vaikutustason (NOAEL) osoittamiseksi alhaisimmalla annostasolla. Periaatteessa annostasot tulee määrätä siten, että ensisijaiset hermostoon kohdistuvat toksiset vaikutukset voidaan erottaa systeemiseen toksisuuteen liittyvistä vaikutuksista. Kaksi tai kolme eri suuruista annosta on yleensä ihanteellisin määrä, ja usein on suositeltavaa käyttää neljättä testiryhmää erittäin pitkien annosvälien sijaan (esimerkiksi kerroin yli 10). Jos ihmisen altistumisesta on olemassa järkevä arvio, se on otettava huomioon.

### 1.5.5 Raja-annostesti

Jos tutkimus yhdellä annostasolla (vähintään 1000 mg/kg/vrk) ei tässä kuvatulla suoritustavalla aiheuta havaittavia neurotoksisia vaikutuksia ja jos toksisuus ei ole todennäköistä rakenteellisesti samanlaisista yhdisteistä saatujen tietojen perusteella, täydellinen tutkimus kolmella annostasolla ei välttämättä ole tarpeen. Odotettavissa olevan ihmisen altistuksen perusteella raja-annostestissä on mahdollisesti käytettävä korkeampaa annostasoa suun kautta annettuna. Muiden antotapojen kuten inhalaation tai ihoapplikaation osalta korkein saavutettavissa oleva altistumistaso määräytyy yleensä testiaineen fysikaalis-kemiallisten ominaisuuksien perusteella. Akuutin oraalisen tutkimuksen tekemiseksi raja-annostestin annoksen tulee olla vähintään 2000 mg/kg.

### 1.5.6 **Annostelu**

Eläimille annetaan testiainetta päivittäin seitsemänä päivänä viikossa vähintään 28 päivän ajan. Viisipäiväisen annosteluohjelman käyttö tai lyhyempi altistus aika on perusteltava. Letkuruokinnassa testiaine on annettava yhtenä annoksena mahaletkun tai sopivan intubaatiokanyylin kautta. Kerralla annettavan nesteen enimmäismäärä riippuu koe-eläinten koosta. Määrä ei saa olla yli 1 ml sataa painogrammaa kohti. Vesiliuoksia voidaan kuitenkin antaa 2 ml:aan asti sataa painogrammaa kohti. Lukuun ottamatta ärsyttäviä tai syövyttäviä aineita, joiden vaikutukset yleensä pahenevat korkeammilla pitoisuuksilla, testiainemäärän vaihtelu olisi minimoitava säätämällä pitoisuuksia vakioitavuuden takaamiseksi kaikilla annostasoilla.

Jos aineita annetaan eläimille rehuun tai juomaveteen sekoitettuna, on tärkeää varmistaa, etteivät testiainemäärät häiritse normaalia ravinto- tai nestetasapainoa. Kun testiaine annetaan ravintoon sekoitettuna, sen määrä mitataan joko vakio-pitoisuutena rehussa (ppm) tai eläimen painoon suhteutettuna vakioannostasona. Käytetty tapa pitää mainita. Jos testiaine annetaan letkulla, annos tulee antaa joka päivä samaan aikaan, ja annosta on mukautettava tarvittaessa siten, että annostaso pysyy samana eläimen painoon nähden. Kun toistuvan annostelun tutkimuksen jälkeen tehdään pitkäaikaistutkimus, eläimille on annettava samanlaista ravintoa molemmissa tutkimuksissa. Jos kerta-annos ei akuutissa tutkimuksessa ole mahdollinen, annos voidaan antaa pienemmissä osissa vuorokauden kuluessa.

## 1.6 HAVAINNOINTI

### 1.6.1 **Havainnoinnin ja testien määrä**

Toistuvan annostelun tutkimuksissa havainnointijakson tulee kattaa annostelujakso. Akuuteissa tutkimuksissa havainnointia on tehtävä käsittelyn jälkeen 14 päivän aikana. Satelliittiryhmien eläimiä, joita ei altisteta käsittelyn jälkeisen jakson aikana, on myös havainnoitava tällä jaksolla.

Havainnointia on tehtävä riittävän usein, jotta kaikki käyttäytymiseen liittyvät ja/tai hermostolliset poikkeavuudet voitaisiin havaita. Havainnot on mieluiten tehtävä samoihin aikoihin joka päivä ja ottaen huomioon, milloin odotettuja vaikutuksia esiintyy eniten. Kliinisten havainnointien ja toiminnallisten kokeiden aikataulu (taajuus) on esitetty yhteenvedon taulukossa 2. Jos aikaisemmista tutkimuksista saadut kineettiset tai muut tiedot osoittavat, että havainnoinnin, testien tai havainnoinnin jälkeisten jaksojen ajankohtaa on muutettava, on laadittava uusi aikataulu tiedonsaannin maksimoimiseksi. Aikatauluun tehtävät muutokset on perusteltava.

#### 1.6.1.1 *Havainnot yleisestä terveydentilasta ja kuolleisuudesta/sairastavuudesta*

Kaikkien eläinten terveydentilaa on havainnoitava tarkoin vähintään kerran päivässä, ja niiden sairastavuutta tai kuolleisuutta vähintään kahdesti päivässä.

#### 1.6.1.2 *Yksityiskohtaiset kliiniset havainnot*

Kaikista tätä tarkoitusta varten valituista eläimistä on tehtävä yksityiskohtaisia kliinisiä havainnointeja (katso taulukko 1) kerran ennen ensimmäistä altistuskertaa (samaa koe-eläintä koskevia vertailuja varten) ja eri väliajoin sen jälkeen tutkimuksen kestosta riippuen (katso taulukko 2). Yksityiskohtaiset kliiniset havainnot toipuvien eläinten satelliittiryhmistä on tehtävä toipumisjakson lopussa. Yksityiskohtaiset kliiniset havainnot on tehtävä eläimen oman häkin ulkopuolella vakioalueella. Havainnot on kirjattava tarkasti käyttämällä pisteytysjärjestelmiä, joihin sisältyvät kriteerit tai pisteytysasteikot jokaista havainnointiin kuuluvaa mittausta varten. Testilaboratorion on määriteltävä käytetyt kriteerit ja asteikot tarkasti. On pyrittävä varmistamaan, että testiolosuhteet (jotka eivät liity järjestelmällisesti käsittelyyn) vaihtelevat mahdollisimman vähän, ja että havainnoinnin suorittavat eläinten käsittelystä tietämättömät koulutetut havainnoijat.

On suositeltavaa, että havainnointi toteutetaan suunnitelmallisesti siten, että tarkoin määritellyjä kriteereitä (mukaan lukien normaalit "vaihtelun rajat") sovelletaan järjestelmällisesti kuhunkin eläimeen jokaisen havainnointiajankohdan aikana. "Normaalit vaihtelun rajat" on dokumentoitava tarkoituksenmukaisesti. Kaikki havaitut oireet on kirjattava. Myös havaittujen oireiden voimakkuus on kirjattava mahdollisuuksien mukaan. Kliinisiä havaintoja on tehtävä muun muassa ihon, karvapeitteen, silmien, limakalvojen, mahdollisten eritteiden erityksen sekä autonomisen hermoston toiminnan (esimerkiksi kyynelvuoto, piloerektio, mustuaisen koko, poikkeavuudet hengityksessä ja/tai ilman haukkominen, kaikki virtsaamiseen tai ulostamiseen liittyvät epätavalliset oireet sekä virtsan värjäytyminen) muutoksista.

Myös kaikki kehon asentoon, aktiivisuustasoon (esimerkiksi vakioalueen vähentynyt tai lisääntynyt tutkiminen) ja liikekoordinaatioon liittyvät epätavalliset vasteet on kirjattava. Muutokset käynnissä (esimerkiksi vaappuminen ja ataksia), asennossa (esimerkiksi selän köyristäminen) ja käsittelyyn, paikkaan tai muihin ympäristön ärsykkeisiin liittyvässä reaktiivisuudessa sekä klooniset tai tooniset liikkeet, kouristukset tai vapina, stereotypiat (esimerkiksi ylenmääräinen turkin hoito, epätavalliset pään liikkeet, jatkuva kehän kiertäminen) tai omituinen käytös (esimerkiksi pureminen tai ylenmääräinen nuoleminen, itsensä silpominen, takaperin käveleminen, ääntely) tai aggressiivisuus on kirjattava.

#### 1.6.1.3 *Toiminnalliset kokeet*

Yksityiskohtaisten kliinisten havaintojen tavoin myös toiminnallisia kokeita on tehtävä kerran ennen altistusta ja useasti sen jälkeen kaikilla tätä tarkoitusta varten valituilla eläimillä (katso taulukko 1). Myös toiminnallisten kokeiden lukumäärä riippuu tutkimuksen kestosta (katso taulukko 2). Taulukossa 2 esitettyjen havainnointijaksojen lisäksi toipuvien eläinten muodostamista satelliittiryhmistä on tehtävä toiminnallisia havaintoja mahdollisimman lähellä eläinten lopettamisajankohtaa. Toiminnallisissa kokeissa testataan aistien reaktiivisuutta erilaisille ärsykkeille [esimerkiksi kuulo, näkö ja asentotunto (5)(6)(7)], arvioidaan tarttumaoitteen voimakkuutta (8) ja motorista toimintaa (9). Motorista toimintaa on mitattava automaattilaitteella, jolla voidaan selvittää sekä toiminnan väheneminen että lisääntyminen. Jos käytetään jotakin muuta määriteltyä järjestelmää, sen on oltava kvantitatiivinen, ja sen herkkyys ja luotettavuus on osoitettava. Kaikki laitteet on testattava sen varmistamiseksi, että laitteet ovat luotettavia koko tutkimuksen ajan ja ja antavat toistettavia tuloksia. Lisätietoja sopivista suoritustavoista on esitetty viitteissä. Jos ei ole saatavissa tietoja, jotka viittaisivat mahdollisiin neurotoksiin vaikutuksiin (esimerkiksi rakenne-aktiivisuus -tiedot, epidemiologiset tiedot, muut toksikologiset tutkimukset), on harkittava aistitoiminnan ja motorisen toiminnan sekä oppimisen ja muistin testaamiseen erityistestien tekemistä mahdollisten vaikutusten tutkimiseksi tarkemmin. Lisätietoja erityistesteistä ja niiden käytöstä on esitetty viitteessä (1).

Eläimet, joissa ilmenee toksisuuden oireita siinä määrin, että se häiritsisi merkittävästi toiminnallisten kokeiden suorittamista, voidaan poistaa kyseisestä kokeesta. Eläinten poistaminen toiminnallisesta kokeesta on perusteltava.

#### 1.6.2 **Ruumiinpaino ja ravinnon/veden kulutus**

Korkeintaan 90 päivää kestävässä tutkimuksessa eläimet on punnittava vähintään kerran viikossa, ja ravinnon kulutus (veden kulutus, jos testiaine annetaan veteen sekoitettuna) on mitattava vähintään viikoittain. Pitkäaikaistutkimuksissa kaikki eläimet on punnittava vähintään kerran viikossa ensimmäisten 13 viikon ajan ja sen jälkeen vähintään kerran neljässä viikossa. Ravinnon kulutus (veden kulutus, jos testiaine annetaan veteen sekoitettuna) on mitattava vähintään kerran viikossa ensimmäisten 13 viikon ajan ja sen jälkeen noin kolmen kuukauden välein, elleivät muutokset terveydentilassa tai ruumiinpainossa muuta edellytä.

#### 1.6.3 **Silmätutkimukset**

Yli 28 päivää kestävässä tutkimuksessa on tehtävä silmätutkimus oftalmoskoopilla tai vastaavalla sopivalla välineellä ennen testiaineen annostelua ja tutkimuksen päättyessä mieluiten kaikille eläimille, mutta ainakin korkean annostason ryhmän ja verrokkiryhmän eläimille. Jos silmistä löydetään muutoksia tai jos se on kliinisten oireiden vuoksi tarpeen, kaikki eläimet on tutkittava. Pitkäaikaistutkimuksissa silmätutkimus on tehtävä myös 13. viikolla. Silmätutkimuksia ei tarvitse tehdä, jos tiedot ovat jo saatavissa muista saman pituisista ja samalla annostasolla tehdyistä tutkimuksista.

#### 1.6.4 Hematologia ja kliininen biokemia

Kun neurotoksisuustutkimus tehdään toistuvan annostelun systeemisen toksisuuden tutkimuksen yhteydessä, verikokeet ja kliiniset biokemialliset määritykset on tehtävä systeemisen toksisuuden tutkimusmenetelmässä esitetyllä tavalla. Näytteiden kerääminen on tehtävä siten, että mahdolliset vaikutukset hermostoperäiseen käyttäytymiseen minimoidaan.

#### 1.6.5 Histopatologia

Neuropatologinen tutkimus on suunniteltava täydentämään ja laajentamaan tutkimuksen *in vivo* -vaiheen aikana tehtyjä havaintoja. Näytteet vähintään viiden eläimen kudoksista sukupuolta ja ryhmää kohti (katso taulukko 1 ja seuraava kappale) on kiinnitettävä *in situ* käyttämällä yleisesti hyväksytyjä perfuusio- ja kiinnitystekniikoita (katso viite 3, luku 5 ja viite 4, luku 50). Kaikki havaittavat suuret muutokset on kirjattava. Kun tutkimus suoritetaan yksittäisenä neurotoksisuuden seulontatutkimuksena tai neurotoksisten vaikutusten kuvaamiseksi, jäljelle jääneet eläimet voidaan käyttää joko erityisiin hermostoperäiseen käyttäytymiseen liittyviin (10)(11), neuropatologisiin (10)(11)(12)(13), neurokemiallisiin (10)(11)(14)(15) tai sähköfysiologisiin (10)(11)(16)(17) tutkimuksiin, jotka voivat täydentää tässä kuvattuja toimenpiteitä ja tutkimuksia. Nämä eläimet voidaan myös käyttää histopatologisiin tutkimuksiin. Täydentävät toimenpiteet ovat erityisen hyödyllisiä, kun empiiriset havainnot tai odotetut vaikutukset viittaavat tietyn tyyppiseen tai tiettyyn kohteeseen vaikuttavaan neurotoksisuuteen (2)(3). Vaihtoehtoisesti jäljelle jääneet eläimet voidaan käyttää toistuvan annostelun testimenetelmässä kuvattuihin tavanomaisiin patologiisiin arviointeihin.

Kaikki parafiiniin valetut kudospäätteet on värjättävä yleisellä värjäysmenetelmällä kuten hematoksyliini-eosiini -menetelmällä (H&E), ja ne on tutkittava mikroskooppisesti. Jos havaitaan tai epäillään merkkejä ääreishermoston neuropatiasta, on tutkittava muoviin valettuja ääreishermoston kudospäätteitä. Myös kliiniset oireet voivat antaa aihetta uusien kohteiden tutkimiseen tai erityisten värjäysmenetelmien käyttämiseen. Viitteissä (3) ja (4) on annettu ohjeita lisätutkimuksen kohteista. Myös sopivat erikoisvärit voivat olla hyödyllisiä tietyn tyyppisten patologisten muutosten osoittamiseksi (18).

Keskus- ja ääreishermostosta otettuja edustavia leikkeitä on tutkittava histologisesti (katso viite 3, luku 5 ja viite 4, luku 50). Yleensä on tutkittava seuraavat alueet: etuäivot, isojen aivojen keskiosa mukaan luettuna aivoturson läpi menevä leike, keskiaivot, pikkuaivot, aivosilta, ydinjatke, silmä näköhermo ja verkkokalvo mukaan luettuna, selkäydin kaularangan ja lannerangan kohdalta, takajuuren hermosolmu, taka- ja etujuuren hermosäikeet, proksimaalinen lonkkahermo, proksimaalinen säärihermo (polven kohdalta) ja säärihermon puoleiset pohjelihaksen haarat. Selkäytimestä ja ääreishermostosta on tehtävä sekä poikittais- että pitkittäisleikkeitä. Hermoston verisuonistoon on kiinnitettävä huomiota. Lisäksi on tutkittava luurankolihaksesta, erityisesti pohjelihaksesta otettu näyte. Erityistä huomiota on kiinnitettävä keskus- ja ääreishermoston alueisiin, joiden solu- ja säierakenteeseen sekä -tyyppiin neurotoksisen aineen tiedetään vaikuttavan erityisen haitallisesti.

Viitteissä (3) ja (4) on annettu ohjeita neuropatologisista muutoksista, joita toksisille aineille altistuminen yleisesti aiheuttaa. Kudospäätteet on suositeltavaa tutkia vaiheittain siten, että korkean annostason ryhmästä otettuja leikkeitä verrataan aluksi verokiryhmästä otettuihin leikkeisiin. Jos näiden ryhmien näytteissä ei havaita neuropatologisia muutoksia, myöhempää analyysia ei tarvita. Jos korkean annoksen ryhmässä havaitaan neuropatologisia muutoksia, on keskisuuren ja pienen annoksen ryhmän kustakin mahdollisesti vahingoittuneesta kudoksesta otettava näytteet, jotka on koodattava ja tutkittava järjestyksessä.

Jos kvalitatiivisessa tutkimuksessa löydetään näyttöä neuropatologisista muutoksista, on tehtävä lisätutkimus niille hermoston alueille, joissa näitä muutoksia esiintyy. Kaikkien annosryhmien mahdollisesti vahingoittuneista alueista on otettava leikkeitä, jotka on koodattava ja tutkittava satunnaisotannalla niiden koodia tietämättä. Kaikkien vaurioiden määrä ja vaikeusaste on kirjattava. Kun kaikki alueet kaikista annosryhmistä on arvioitu, voidaan koodi paljastaa ja tehdä tilastollinen analyysi annosvasteiden suhteen arvioimiseksi. Kunkin vaurion eri vaikeusasteista on kuvailtava esimerkkejä.

Neuropatologiset löydökset on arvioitava yhdessä käyttäytymiseen liittyvien havaintojen ja mittausten sekä muista testiaineella tehdyistä edeltävistä ja samanaikaisista systeemisen toksisuuden tutkimuksista saatujen tietojen kanssa.

## 2 TULOKSET

### 2.1 TULOSTEN KÄSITTELY

Tuloksina on esitettävä yksittäisiä eläimiä koskevat tulokset. Kaikki tulokset tulee esittää myös yhteenvetona taulukossa, josta käy ilmi kussakin testi- ja verokkiryhmässä käytettyjen eläinten lukumäärä kokeen alussa, kokeen aikana kuolleena löydettyjen tai humaaneista syistä lopetettujen eläinten lukumäärä sekä niiden kuolinajankohta, toksisuusoireita osoittaneiden eläinten lukumäärä, havaittujen toksisten vaikutusten kuvaus mukaan lukien niiden alkamisajankohta, kesto, tyyppi ja vaikeusaste, vaurioita saaneiden eläinten määrä mukaan lukien vaurioiden tyyppi ja vaikeusaste.

### 2.2 TULOSTEN ARVIOINTI JA TULKINTA

Tutkimuksessa on arvioitava hermostoperäiseen käyttäytymiseen kohdistuvien ja neuropatologisten vaikutusten esiintyvyys, vaikeusaste ja korrelaatio (myös neurokemialliset tai sähköfysiologiset vaikutukset, jos on tehty täydentäviä tutkimuksia) sekä muut havaitut haittavaikutukset. Numeeriset tulokset on mahdollisuuksien mukaan arvioitava asianmukaisella ja yleisesti hyväksytyillä tilastollisella menetelmällä. Tilastolliset menetelmät on valittava tutkimuksen suunnitteluvaiheessa.

## 3 TULOSTEN ILMOITTAMINEN

### LOPPURAPORTTI

Loppuraportissa on annettava seuraavat tiedot:  
Testiaine:

- fysikaalinen olomuoto (isomeria, puhtausaste ja fysikaalis-kemialliset ominaisuudet mukaan luettuina)
- tunnistetiedot.

Kantaja-aine (tarvittaessa):

- perustelut kantaja-aineen valinnalle.

Koe-eläimet:

- käytetty eläinlaji- ja kanta
- eläinten lukumäärä, ikä ja sukupuoli
- lähde, yllöpito-olosuhteet, totuttamisvaihe, ravinto jne.
- kunkin eläimen paino kokeen alussa.

Koeolosuhteet:

- yksityiskohtaiset tiedot testiainevalmisteesta/rehuvalmisteesta, valmisteessa olleesta pitoisuudesta, valmisteen stabiiliteetista ja homogeenisuudesta
- annosteltujen annosten erittely, mukaan luettuna yksityiskohtaiset tiedot kantaja-aineesta ja annostellun aineen määrästä ja fysikaalisesta muodosta
- yksityiskohtaiset tiedot testiaineen annostelusta
- annostasojen valintaperusteet
- altistustavan ja altistuksen keston valintaperusteet
- rehussa/juomavedessä olevan testiaineen määrän (ppm) muuntaminen varsinaiseksi annokseksi (mg/kg/vrk) tarvittaessa
- yksityiskohtaiset tiedot ravinnon ja veden laadusta.

Havainnointi ja testausmenetelmät:

- yksityiskohtaiset tiedot kunkin ryhmän eläinten jakamisesta alaryhmiin perfluusiota varten
- yksityiskohtaiset tiedot pisteytysjärjestelmästä, mukaan luettuna valintaperusteet ja kunkin mittauksen pisteytysasteikot yksityiskohtaisten kliinisten havaintojen yhteydessä
- yksityiskohtaiset tiedot toiminnallisista kokeista, joissa testataan aistien reaktiivisuutta erilaisille ärsykkeille (esimerkiksi kuulo, näkö ja asentotunto), arvioidaan tarttumaotteen voimakkuutta ja motorista aktiivisuutta (mukaan luettuna yksityiskohtaiset tiedot aktiivisuuden tutkimiseksi käytettävistä automaattilaitteista) sekä muista käytetyistä menetelmistä
- yksityiskohtaiset tiedot silmätutkimuksista sekä tarvittaessa verikokeista ja kliinisistä biokemiallisista kokeista ja niihin liittyvistä lähtötasoarvoista
- yksityiskohtaiset tiedot erityisistä hermostoperäiseen käyttäytymiseen liittyvistä, neuropatologisista, neurokemiallisista ja sähköfysiologisista menetelmistä.

Tulokset:

- ruumiinpaino/ruumiinpainon muutokset mukaan lukien ruumiinpaino lopetettaessa
- ravinnon ja veden kulutus tarvittaessa
- toksiset vastetiedot sukupuolen ja annostason mukaan, toksisuusoireet tai kuolleisuus mukaan lukien
- yksityiskohtaisten kliinisten havaintojen luonne, vaikeusaste ja kesto (alkamishetki ja jatkokehitys) palautuvuudesta riippumatta
- yksityiskohtainen kuvaus kaikkien toiminnallisten kokeiden tuloksista
- ruumiinavauslöydökset
- yksityiskohtainen kuvaus kaikista hermostoperäiseen käyttäytymiseen liittyvistä, neuropatologisista ja neurokemiallisista tai sähköfysiologisista löydöksistä, mikäli saatavissa
- tiedot imeytymisestä ja metaboliasta, mikäli saatavissa
- tulosten tilastollinen käsittely tarvittaessa.

Tulosten tarkastelu:

- annos-vaste -tulokset
- muiden toksisten vaikutusten yhteys testatun kemikaalin mahdollisesta neurotoksisuudesta tehtyihin johtopäätöksiin
- haitaton vaikutustaso (NOAEL).

Johtopäätökset:

- erityistä lausuntoa testatun kemikaalin yleisestä neurotoksisuudesta suositellaan.

4

#### KIRJALLISUUSVIITTEET

1. OECD Guidance Document on Neurotoxicity Testing Strategies and Test Methods. OECD, Paris, valmisteilla.
2. Test Guideline for a Developmental Neurotoxicity Study, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Valmisteilla.
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 Practice of Histological Techniques*. Chapter 17, *Neuropathological Techniques*. Lowe, James and Cox, Gordon eds. Churchill Livingstone.

Taulukko I:

Eläinten vähimmäismäärä ryhmää kohti kun neurotoksisuus tutkimus tehdään erikseen tai muiden tutkimusten yhteydessä

	NEUROTOKSIKSIUUSTUTKIMUKSEN TYYPPI:			
	Erillinen tutkimus	28-päiväisen tutkimuksen yhteydessä	90-päiväisen tutkimuksen yhteydessä	Kroonisen toksisuustutkimuksen yhteydessä
Eläinten kokonaisuusryhmää kohti	10 urosta ja 10 naarasta	10 urosta ja 10 naarasta	15 urosta ja 15 naarasta	25 urosta ja 25 naarasta
Toiminnallisiin kokeisiin ja yksityiskohtaiseen kliiniseen havainnointiin valittujen eläinten lukumäärä	10 urosta ja 10 naarasta	10 urosta ja 10 naarasta	10 urosta ja 10 naarasta	10 urosta ja 10 naarasta
<i>In situ</i> -perfuusioon ja neurohistopatologisiin tutkimuksiin valittujen eläinten lukumäärä	5 urosta ja 5 naarasta	5 urosta ja 5 naarasta	5 urosta ja 5 naarasta	5 urosta ja 5 naarasta
Toistuvan annostelun/subkroonisen/kroonisen toksisuuden havainnointiin, hematologian, kliinisen biokemian ja histopatologian kokeisiin jne. valittujen eläinten lukumäärä vastaavien ohjeasiakirjojen mukaisesti		5 urosta ja 5 naarasta	10 urosta <sup>+</sup> ja 10 naarasta <sup>+</sup>	20 urosta <sup>+</sup> ja 20 naarasta <sup>+</sup>
Täydentävät havainnot tarvittaessa	5 urosta ja 5 naarasta			

<sup>+</sup> - Tähän ryhmään kuuluu viisi eläintä, jotka on valittu toiminnallisiin kokeisiin ja yksityiskohtaiseen kliiniseen havainnointiin osana neurotoksisuus tutkimusta

Taulukko 2:

## Kliinisten havaintojen ja toiminnallisten kokeiden taajuus

Havaintotyyppi	Tutkimuksen kesto			
	Akuutti	28-päiväinen	90-päiväinen	Krooninen
<b>Kaikkille eläimille</b>	<p>Yleinen terveydentila</p> <p>Kuolleisuus/sairastavuus</p>	päivittäin	päivittäin	päivittäin
<b>Toiminnallisiin havaintoihin valituille eläimille</b>	<p>Yksityiskohtaiset kliiniset havainnot</p> <p>8 tunnin kuluessa annostelusta ajankohdista, jolloin vaikutuksia on arvioitu esiintyvän eniten - 7. ja 14. päivänä annostelun jälkeen</p> <p>Toiminnalliset kokeet</p>	<p>kahdesti päivässä</p> <p>ennen ensimmäistä altistuskertaa</p> <p>- 8 tunnin kuluessa annostelusta ajankohdista, jolloin vaikutuksia on arvioitu esiintyvän eniten - 7. ja 14. päivänä annostelun jälkeen</p>	<p>kahdesti päivässä</p> <p>ennen ensimmäistä altistuskertaa</p> <p>- kerran ensimmäisen tai toisen altistusviikon aikana</p> <p>- sen jälkeen kuukausittain</p>	<p>kahdesti päivässä</p> <p>ennen ensimmäistä altistuskertaa</p> <p>- kerran ensimmäisen altistuskuukauden lopussa</p> <p>- sen jälkeen joka kolmas kuukausi</p>

## **LIITE 2I**

## C.21. MAAPERÄN MIKROBIT: TYPEN MUUNTUMISTESTI

### 1 MENETELMÄ

Tämä menetelmä on toisinto OECD:n testiohjeesta nro 216 (2000).

#### 1.1 JOHDANTO

Tämän menetelmän tarkoitus on tutkia laboratoriomenetelmin kemikaalien pitkäaikaisvaikutuksia maaperän mikrobin tyyppiä muuntavaan toimintaan (typen transformaatioon) kerta-altistuksen jälkeen. Menetelmä perustuu pääosin EPPO:n (Euroopan ja Välimeren maiden kasvinsuojelujärjestön) (1) suosituksiin. Myös muita, esimerkiksi Saksan Biologische Bundesanstaltin (2), Yhdysvaltain ympäristönsuojeluviraston (3), SETACin (4) ja Kansainvälisen standardisoimisjärjestön (5) laatimia ohjeita on otettu huomioon. Menetelmässä käytettävien maanäytteiden määrästä ja tyypistä on sovittu maalajin ja sedimentin valintaa käsitelleessä OECD:n työryhmässä, joka kokoontui Belgiratsessa Italiassa vuonna 1995 (6). Maanäytteiden keräämiseen, käsittelyyn ja varastointiin liittyvät suositukset perustuvat ISO:n ohjeisiin (7) sekä Belgiraten työryhmän suosituksiin. Testiaineiden toksisten ominaisuuksien arvioinnin yhteydessä voi olla tarpeen määrittää niiden vaikutukset maaperän mikrobin toimintaan, esimerkiksi kun tarvitaan tietoja kasvinsuojeluaineiden mahdollisista sivuvaikutuksista maaperän pieneliöstöön tai kun on odotettavissa maaperän mikrobin altistuminen muille kemikaaleille kuin kasvinsuojeluaineille. Typen muuntumistestin avulla voidaan määrittää kyseisten kemikaalien vaikutukset maaperän pieneliöstöön. Jos testattavat aineet ovat maatalouskemikaaleja (esimerkiksi kasvinsuojeluaineita, lannoitteita tai metsätalouskemikaaleja), on tehtävä sekä typen että hiilen muuntumistestit. Jos testattavat aineet ovat muita kuin maataloudessa käytettäviä kemikaaleja, pelkkä typen muuntumistesti riittää. Mikäli kyseisten kemikaalien typen muuntumistestistä saadut EC<sub>50</sub>-arvot ovat kaupallisissa nitrifikaatiota estävissä aineissa (esimerkiksi nitrapyyriini) esiintyvällä alueella, hiilen muuntumistesti voidaan tehdä lisätietojen saamiseksi.

Maaperä muodostuu elävästä ja elottomasta aineesta, joka esiintyy erilaisina, hetrogeenisina seoksina. Mikrobeilla on tärkeä osuus viljavien maannosten orgaanisen aineen hajottamisessa ja muuttamisessa, ja monet eliölajit vaikuttavat maannoksen viljavuuden eri tekijöihin. Kaikki pitkäaikaiset vaikutukset näihin biokemiallisiin prosesseihin saattavat muuttaa ravinnekiertoa, jolloin maannoksen viljavuus saattaa muuttua. Hiilen ja typen muuntuminen tapahtuu kaikissa viljavissa maannoksissa. Vaikka nämä prosessit aiheuttava mikrobiyhteisö on erilainen eri maalajeissa, muuntumisreitit ovat olennaisilta osin samat.

Tässä kuvatun menetelmän tarkoitus on osoittaa testiaineen pitkäaikaiset haittavaikutukset typen muuntumisprosessiin aerobisissa pintamaissa. Menetelmän avulla voidaan myös arvioida aineiden vaikutusta maaperän pieneliöstön aiheuttamaan hiilen muuntumiseen. Nitraatin muodostuminen tapahtuu hiili-typpisidosten hajoamisen jälkeen. Jos siis nitraatin tuotannon havaitaan olevan samalla tasolla käsitellyissä maanäytteissä ja kontrollinäytteissä, on hyvin todennäköistä, että pääasialliset hiilisiidosten hajoamisreitit toimivat hyvin. Menetelmässä käytettävän kasvialustan (jauhettu sinimailasseos) hiili-typpisuhde on edullinen (yleensä 12/1–16/1). Tästä syystä hiilen puute ei ole merkittävää testin aikana, ja jos kemikaali vahingoittaa mikrobiyhteisöjä, ne saattavat toipua 100 päivän kuluessa.

Tämän menetelmän perustana olevat testit ovat olleet tarkoitettuja pääasiassa aineille, joiden maaperään päätyvä määrä on ennakoitavissa. Tällaisia aineita ovat esimerkiksi kasvinsuojeluaineet, sillä niiden annostelu pellolle tiedetään. Maataloudessa käytettävien kemikaalien kohdalla riittää, kun testataan kaksi annostasoa oletetun annostelutiheyden mukaan. Maataloudessa käytettävien kemikaalien osalta voidaan testata tehoaine tai kaupallinen valmiste. Tässä esitetyn menetelmän soveltamisala ei kuitenkaan rajoitu maataloudessa käytettäviin kemikaaleihin. Muuttamalla sekä maaperään annosteltavan testiaineen määrää että tulosten arviointia menetelmällä voidaan testata myös sellaisia kemikaaleja, joiden maaperään päätyvästä määrästä ei ole tietoa. Muista kuin maataloudessa käytettävistä kemikaaleista määritetään useiden konsentraatioiden vaikutukset typen muuntumiseen. Testitulosten perusteella laaditaan annos-vastekäyrä ja lasketaan EC<sub>x</sub>-arvot, joissa x on määritelty vaikutus prosentteina.

## 1.2 MÄÄRITELMÄT

**Typhen muuntuminen:** mikrobien toiminnan tuloksena ammonifikaatio- ja nitrifikaatioprosessin kautta tapahtuva, typpeä sisältävän orgaanisen aineen lopullinen hajoaminen vastaavaksi epäorgaaniseksi lopputuotteeksi, nitraatiksi.

**EC<sub>x</sub> (efektiivinen konsentraatio):** maaperässä esiintyvä testiaineen konsentraatio, joka estää typhen muuntumista nitraatiksi x prosentilla.

**EC<sub>50</sub> (efektiivinen mediaanikonsentraatio):** maaperässä esiintyvä testiaineen konsentraatio, joka estää typhen muuntumista nitraatiksi 50 prosentilla.

## 1.3 VERTAILUAINE

Ei käytössä.

## 1.4 TESTIMENETELMÄN PERIAATE

Seulottua maa-ainesta parannetaan jauhetulla kasviseoksella, ja se joko käsitellään testiaineella tai jätetään käsittelemättä (kontrollinäyte). Maataloudessa käytettäviä kemikaaleja testattaessa suositellaan käytettäväksi vähintään kahta testikonsentraatiota, ja ne tulee valita suhteessa suurimpaan konsentraatioon, jonka odotetaan esiintyvän kentällä. Näytteitä inkuboidaan, päivinä 0, 7, 14 ja 28 käsitellyt näytteet ja kontrollinäytteet uutetaan sopivaan liuottimeen, ja uutteista määritetään nitraattimäärät. Nitraatinmuodostuksen nopeutta käsitellyissä näytteissä verrataan vastaavaan nopeuteen kontrollinäytteissä ja käsiteltyjen näytteiden ja kontrollinäytteiden välinen prosentuaalinen ero lasketaan. Kaikkia testejä jatketaan vähintään 28 päivän ajan. Jos päivänä 28 käsiteltyjen näytteiden ja kontrollinäytteiden välinen ero on 25 % tai enemmän, mittauksia jatketaan (enintään 100 päivään asti). Jos testattavana on muu kuin maataloudessa käytettävä kemikaali, maanäytteisiin lisätään sarja testiaineen konsentraatioita ja muodostuneen nitraatin määrä mitataan käsitellyistä näytteistä ja kontrollinäytteistä 28 päivän inkubaation jälkeen. Useita konsentraatioita käyttäneiden testien tulokset analysoidaan regressiomallia käyttäen ja EC<sub>x</sub>-arvot lasketaan (EC<sub>50</sub>, EC<sub>25</sub> ja/tai EC<sub>10</sub>). Katso kohta Määritelmät.

## 1.5 TESTIN VALIDITEETTI

Maataloudessa käytettävien kemikaalien testitulosten arviot perustuvat suhteellisen pieniin eroihin (esimerkiksi keskiarvo  $\pm 25$  %) käsiteltyjen näytteiden ja kontrollinäytteiden nitraattikonsentraatioiden välillä, joten kontrollinäytteiden suuri vaihtelu voi johtaa virheellisiin tuloksiin. Tästä syystä rinnakkaisten kontrollinäytteiden välisen vaihtelun tulisi olla alle  $\pm 15$  %.

## 1.6 TESTIMENETELMÄN KUVAUS

### 1.6.1 Laitteet

Testissä käytetään säiliöitä, jotka on valmistettu kemiallisesti inertistä materiaalista. Säiliöiden koon tulee sopia maanäytteiden inkubaatiomenettelyyn (joko massana tai sarjana erillisiä maanäytteitä, katso kohta 1.7.1.2). On syytä varmistaa, että veden haihtuminen testin aikana on minimaalista ja kaasujen vaihtuminen on mahdollista (testisäiliö voidaan esimerkiksi peittää rei'itetyllä polyetyleenikalvolla). Testattaessa helposti haihtuvia aineita tulee käyttää kannellisia ja kaasutiiviitä säiliöitä. Niiden koon tulisi olla sellainen, että maanäyte täyttää noin neljäsosan niiden tilavuudesta.

Testissä käytetään seuraavia tavanomaisia laboratoriovälineitä:

- sekoituslaite: mekaaninen ravistin tai vastaava laite
- sentrifugi (3 000 g) tai suodatin (käytetään nitraattia sisältämätöntä suodatinpaperia)
- nitraattianalyysia varten riittävän herkkä mittalaite, jonka mittaustulos on toistettavissa.

## 1.6.2 Testattavien maalajien valinta ja määrä

Testissä käytetään yhtä maalajia. Näytteeksi valittavan maannoksen suositeltavat ominaisuudet ovat seuraavat:

- hiekkapitoisuus: vähintään 50 % ja enintään 75 %
- pH: 5,5–7,5
- orgaanisen hiilen pitoisuus: 0,5–1,5 %
- mikrobibiomassa mitataan (8)(9), ja sen hiilipitoisuuden tulee olla vähintään 1 % maaperän orgaanisen hiilen kokonaispitoisuudesta.

Useimmissa tapauksissa tällainen maannos edustaa pahinta mahdollista tapausta, koska testiaineen adsorboituminen on minimaalista ja sen saatavuus pieneliöstölle maksimaalista. Tämän takia ei yleensä ole tarpeen testata muita maalajeja. Kuitenkin joissain olosuhteissa, esimerkiksi kun testiainetta ennakoidaan käytettäväksi ennen kaikkea happamien metsämaiden tapaisissa maannoksissa tai kun kemikaali on elektrostaattisesti varautunut, voi olla tarpeen käyttää testissä myös toista maalajia.

## 1.6.3 Maanäytteiden kerääminen ja varastointi

### 1.6.3.1 Kerääminen

Käytettävissä tulisi olla yksityiskohtaiset tiedot näyteenkeräyspaikan historiasta. Näitä tietoja ovat tarkka paikka, kasvipeite, kasvinsuojeluainekäsittelyjen päivämäärät, käsittelyt orgaanisilla ja epäorgaanisilla lannoitteilla, biologisten materiaalien lisäykset tai satunnaiset saastumiskerrat. Näyteenkeräyspaikaksi valitun paikan tulisi olla pitkäaikainen. Sopivia paikkoja ovat jatkuvasti laidunmaana käytettävät alueet, vuosittain korjattavien viljakasvien (paitsi maissin) pellot tai tiheään kylvetyt viherkesannot. Näyteenotto paikaksi soveltuu alue, jota ei ole käsitelty kasvinsuojeluaineilla vähintään vuoteen ennen näyteenottoa. Soveltuvalla alueella ei myöskään ole käytetty orgaanista lannoitetta vähintään kuuteen kuukauteen. Mineraalilannoitteiden käyttö on hyväksyttävää vain silloin, kun se on viljeltävän kasvin vaatimusten mukaista, ja maanäytteet voidaan tällöin ottaa vasta vähintään kolmen kuukauden kuluttua lannoitteen käytöstä. Näytteiden ottamista maasta, jota on käsitelty biosidin tavoin vaikuttavalla lannoitteella (esimerkiksi kalsiumsyanamidilla), tulisi välttää.

Näyteenottoa tulisi välttää pitkien (yli 30 päivää) kuivien tai vedellä kyllästymisjaksojen aikana tai välittömästi niiden jälkeen. Auratuilla mailla näytteet on otettava 0–20 cm:n syvyydestä. Nurmimailla (laitumilla) tai muilla maa-alueilla, joita ei aurata pitkään aikaan (vähintään yhteen kasvukauteen), näyteenoton enimmäissyvyys voi olla hiukan yli 20 cm (esimerkiksi 25 cm).

Maanäytteet tulee kuljettaa säiliöissä ja sellaisessa lämpötilassa, jossa maanäytteen alkuperäiset ominaisuudet eivät muutu merkittävästi.

### 1.6.3.2 Varastointi

Käytetyn maa-aineksen on mahdollisuuksien mukaan oltava äskeittäin maasta otettua. Jos varastointi on välttämätöntä, maanäytteet voidaan varastoida pimeässä  $4 (\pm 2)$  °C:n lämpötilassa enintään kolmen kuukauden ajan. Näytteiden varastoinnin aikana on varmistettava, että olosuhteet ovat aerobiset. Jos näytteet on kerätty alueilta, joilla maaperä on jäässä vähintään kolme kuukautta vuodesta, varastointi kuuden kuukauden ajan  $-18$  -  $-22$  °C:n lämpötilassa voi tulla kysymykseen. Varastoitavien näytteiden mikrobibiomassa mitataan ennen kutakin koetta. Biomassan hiilipitoisuuden tulee olla vähintään 1 % näytteen orgaanisen hiilen kokonaispitoisuudesta (katso kohta 1.6.2).

#### 1.6.4 Näytteiden käsittely ja valmistelu testiä varten

##### 1.6.4.1 Esi-inkubaatio

Jos näytettä on varastoitu (katso kohta 1.6.3.2), suositellaan sen esi-inkubointia 2–28 päivän ajan. Esi-inkubaation aikana näytteen lämpötilan ja kosteuspitoisuuden tulisi olla samanlaiset kuin testissä käytetyt (katso kohdat 1.6.4.2 ja 1.7.1.3).

##### 1.6.4.2 Fysiko-kemialliset ominaisuudet

Näytteestä puhdistetaan manuaalisesti suuret hiukkaset (esimerkiksi kivet ja kasvinosat), minkä jälkeen se märkäseulotaan liikaa kuivaamatta 2 mm:n tai tätä pienempään raekokoon. Näytteen kosteuspitoisuus tulee säätää tislattulla tai ionipuhdistetulla vedellä 40%–60 %:iin maksimaalisesta vedenpidätyskyvystä.

##### 1.6.4.3 Parannus orgaanisella substraatilla

Maanäytettä tulee parantaa sopivalla orgaanisella substraatilla, esimerkiksi jauhetulla sinimailas-ruohoseoksella (pääaineena *Medicago sativa*), jonka hiili-typpisuhde on 12/1–16/1. Suositeltu sinimailasen ja maa-aineksen suhde on 5 g sinimailasta yhteen kiloon maa-ainesta (kuivapaino).

#### 1.6.5 Testiaineen valmistelu näytteeseen annostelua varten

Testiaine annostellaan tavallisesti kantaja-aineen avulla. Kantaja-aineena voi olla vesi (vesiliukoisten testiaineiden tapauksessa) tai inertti kiintoaine, kuten hieno kvartsihiekkä (raekoko 0,1–0,5 mm). Muita nestemäisiä kantaja-aineita kuin vettä (esimerkiksi orgaanisia liuottimia, kuten asetonia ja kloroformia) tulee välttää, koska ne saattavat vahingoittaa pieneliöstöä. Jos kantaja-aineena käytetään hiekkaa, se voidaan pinnoittaa testiaineella, joka on liuotettu tai suspendoitu sopivaan liuottimeen. Tällaisissa tapauksissa liuotin tulee poistaa haihduttamalla ennen kuin kantaja-aine sekoitetaan maa-ainekseen. Jotta testiaine leviäisi näytteessä optimaalisesti, suositellaan suhteeksi 10 g hiekkaa yhtä näytteen kuivapainokiloa kohti. Kontrollinäytteet käsitellään vastaavalla määrällä pelkkää vettä ja/tai kvartsihiekkää.

Testattaessa helposti haihtuvia kemikaaleja tulisi mahdollisuuksien mukaan välttää aineen hävikkiä käsittelyn aikana ja pyrkiä varmistamaan aineen tasainen leviäminen näytteeseen (esimerkiksi ruiskuttamalla testiaine näytteeseen useisiin kohtiin).

#### 1.6.6 Testikonsentraatiot

Jos testataan maataloudessa käytettäviä kemikaaleja, tulee käyttää ainakin kahta konsentraatiota. Pienemmän konsentraation tulee kuvastaa vähintään testiaineen käytännössä maaperään pääsevää maksimimäärää, ja suuremman konsentraation puolestaan tulee olla pienemmän kerrannainen. Maanäytteeseen lisättävät testiaineen konsentraatiot lasketaan olettaen, että aine imeytyy tasaisesti 5 cm:n syvyyteen ja että maamassan tiheyden arvo on 1,5. Testattaessa maataloudessa käytettäviä, suoraan maaperään annosteltavia kemikaaleja tai kemikaaleja, joiden maaperään pääsevä määrä on ennakoitavissa, suositeltavat testikonsentraatiot ovat suurin odotettavissa oleva konsentraatio ympäristössä (Predicted Environmental Concentration, PEC) sekä mainittu konsentraatio kerrottuna viidellä. Testattaessa aineita, joita ennakoidaan annosteltaviksi maaperään useita kertoja kasvukaudessa, testikonsentraatio tulee johtaa kertomalla odotettavissa oleva ympäristössä havaittava enimmäiskonsentraatio ennakoitujen annostelukertojen määrällä. Suurin testikonsentraatio ei kuitenkaan saa olla suurempi kuin kymmenen kertaa suurin yksittäinen annos. Jos testataan muita kuin maataloudessa käytettäviä kemikaaleja, tulee testissä käyttää vähintään viiden konsentraation geometrista sarjaa. Valittujen testikonsentraatioiden tulee kattaa EC<sub>x</sub>-arvojen määrittämiseksi tarvittava alue.

## 1.7 TESTIN SUORITUS

### 1.7.1 Altistusolosuhteet

#### 1.7.1.1 *Testinäytteet ja kontrollinäytteet*

Jos testataan maataloudessa käytettäviä kemikaaleja, maanäyte jaetaan kolmeen samanpainoiseen osaan. Kahteen osaan sekoitetaan testiaineen sisältävää kantaja-ainetta ja kolmanteen sekoitetaan kantaja-ainetta, joka ei sisällä testiainetta (kontrollinäyte). On suositeltavaa käyttää vähintään kolmea rinnakkaisnäytettä sekä testi- että kontrollinäytteestä. Jos testataan muita kuin maataloudessa käytettäviä kemikaaleja, maanäyte jaetaan kuuteen samanpainoiseen osaan. Viiteen osaan sekoitetaan testiaineen sisältävää kantaja-ainetta ja kuudenteen sekoitetaan kantaja-ainetta, joka ei sisällä testiainetta. On suositeltavaa käyttää kolmea rinnakkaisnäytettä sekä testi- että kontrollinäytteestä. Testiaineen tasainen leviäminen testinäytteisiin tulee varmistaa. Sekoittamisen aikana on vältettävä näytteen tiivistämistä tai muotoutumista palloksi.

#### 1.7.1.2 *Maanäytteiden inkubointi*

Maanäytteiden inkubointi voidaan toteuttaa kahdella tavalla: massana testi- ja kontrollinäytteestä tai sarjana yksittäisiä, samankokoisia osanäytteitä testi- ja kontrollinäytteestä. Helposti haihtuvien aineiden testi on kuitenkin toteutettava sarjalle yksittäisiä osanäytteitä. Kun maanäytteet inkuboidaan massana, kutakin testi- ja kontrollinäytettä valmistetaan suuri määrä, josta analysoitavat osanäytteet otetaan tarpeen mukaan testin aikana. Alun perin valmistettava testi- ja kontrollinäytteen määrä riippuu osanäytteiden koosta, analysoitavien rinnakkaisnäytteiden määrästä sekä arvioitujen näytteenotokertojen enimmäismäärästä. Massana inkuboidut maanäytteet tulee sekoittaa huolellisesti ennen osanäytteen ottoa. Kun maanäytteet inkuboidaan yksittäisten näytteiden sarjana, kukin testi- ja kontrollimassanäyte jaetaan tarvittaviin osanäytteisiin, joita sitten käytetään tarpeen mukaan. Kokeissa, joissa näytteenotokertoja ennakoidaan olevan enemmän kuin kaksi, osanäytteitä tulee valmistaa riittävästi kaikkia rinnakkaisnäytteitä ja näytteenotokertoja varten. Vähintään kolme testattavan maanäytteen rinnakkaisnäytettä tulee inkuboida aerobisissa olosuhteissa (katso kohta 1.7.1.1). Kaikkien testien aikana tulee käyttää asianmukaisia säiliöitä, joissa on riittävästi ilmatilaa, jotta vältetään anaerobisten olosuhteiden kehittyminen. Kun testataan haihtuvia aineita, testi tulee aina tehdä sarjalle yksittäisiä osanäytteitä.

#### 1.7.1.3 *Testiolosuhteet ja testin kesto*

Testi toteutetaan pimeässä 20 ( $\pm 2$ )°C:n huoneenlämmössä. Maanäytteiden kosteuspitoisuus tulee pitää testin aikana 40–60 %:ssa näytteen maksimaalisesta vedenpidätkyvyydestä (katso kohta 1.6.4.2) vaihteluvälillä  $\pm 5$  %. Tarvittaessa voidaan lisätä tislattua, ionipuhdistettua vettä.

Testien vähimmäiskesto on 28 päivää. Testattaessa maataloudessa käytettäviä kemikaaleja verrataan testi- ja kontrollinäytteiden nitraatinmuodostusnopeutta. Jos näiden ero on yli 25 % päivänä 28, testiä jatketaan, kunnes saavutetaan 25 %:n tai tätä pienempi ero, tai sadan päivän ajan sen mukaan, kumpaan menee vähemmän aikaa. Testattaessa muita kuin maataloudessa käytettäviä kemikaaleja testi lopetetaan 28 päivän kuluttua. Päivänä 28 määritetään nitraattimäärät testi- ja kontrollinäytteissä sekä lasketaan EC<sub>x</sub>-arvot.

### 1.7.2 Näytteenotto ja näytteiden analyysi

#### 1.7.2.1 *Näytteenottoaikataulu*

Jos testataan maataloudessa käytettäviä kemikaaleja, maanäytteistä analysoidaan nitraatti päivinä 0, 7, 14 ja 28. Jos testiä on jatkettava, jatkomittaukset tehdään 14 päivän välein päivästä 28 lähtien.

Jos testataan muita kuin maataloudessa käytettäviä kemikaaleja, tulee käyttää vähintään viittä testikonsentraatiota ja näytteistä analysoidaan nitraatti testin alussa (päivä 0) ja altistusjakson lopussa (28 päivää). Tarvittaessa voidaan tehdä välimittaus esimerkiksi päivänä 7. Päivänä 28 saatavien tietojen mukaan määritetään kemikaalin EC<sub>x</sub>-arvo. Haluttaessa voidaan raportoida maanäytteen alkuperäinen nitraattimäärä päivän 0 tietojen perusteella.

### 1.7.2.2 *Maanäytteiden analyysi*

Muodostuneen nitraatin määrä määritetään kaikista testi- ja kontrollinäytteiden rinnakkaisnäytteistä kullakin näytteenotokerralla. Nitraatti erotetaan maanäytteestä ravistamalla näytettä sopivassa liuottimessa, esimerkiksi kaliumkloridiliuoksessa (0,1 M). Suositeltava suhde on 5 ml kaliumkloridiliuosta maanäytteen yhtä kuivapainogrammaa kohti. Erotuksen optimoimiseksi maanäytteen ja liuottimen sisältävien säiliöiden tulee olla täytetty vain puolilleen. Sekoituksia ravistellaan 150 rpm 60 minuutin ajan. Sekoitukset sentrifugoidaan tai suodatetaan ja nestefaasista analysoidaan nitraatti. Nestemäiset uutteen, joissa ei ole hiukkasia, voidaan säilyttää ennen analyysia  $-20 \pm 5$  °C:n lämpötilassa enintään kuuden kuukauden ajan.

## 2 MÄÄRITYSTULOKSET

### 2.1 TULOSTEN KÄSITTELY

Jos tutkitaan maataloudessa käytettäviä kemikaaleja, kaikissa rinnakkaisnäytteissä muodostuneen nitraatin määrä raportoidaan ja kaikkien rinnakkaisnäytteiden keskiarvoista laaditaan taulukko. Typen muuntumisnopeudet tulee arvioida asianmukaisilla ja yleisesti hyväksytyillä tilastollisilla menetelmillä (esimerkiksi F-testi, 5 %:n merkitsevyystaso). Muodostuneen nitraatin määrät ilmoitetaan milligrammoina per maanäytteen kuivapainokilo per päivä. Kunkin käsittelyn yhteydessä ilmenevää nitraatinmuodostusnopeutta verrataan kontrollinäytteeseen ja prosentuaalinen ero kontrollinäytteeseen verrattuna lasketaan.

Jos testataan muita kuin maataloudessa käytettäviä kemikaaleja, kussakin rinnakkaisnäytteessä muodostuneen nitraatin määrä määritetään ja laaditaan annos-vastekäyrä  $EC_x$ -arvojen arvioimista varten. Testinäytteissä 28 päivän jälkeen havaittuja nitraattimääriä (mg /maanäytteen kuivapainokilo) verrataan kontrollinäytteissä havaittuihin nitraattimääriin. Näistä tiedoista lasketaan prosentuaaliset estoarvot kaikille testikonsentraatioille. Laaditaan kuvaaja, jossa nämä prosenttiarvot esitetään konsentraation funktiona, ja  $EC_x$ -arvot lasketaan tilastollisin menetelmin. Luottamusvälit ( $p = 0,95$ ) lasketuille  $EC_x$ -arvoille määritetään myös standardimenetelmillä (10)(11)(12).

Suuria typpimääriä sisältävät testiaineet saattavat vaikuttaa testin aikana syntyvän nitraatin määrään. Jos näitä aineita testataan suurilla konsentraatioilla (esimerkiksi kemikaalit, joita ennakoidaan annosteltavan toistuvasti), testiin tulee sisällyttää asianmukaiset kontrollit (esimerkiksi maanäyte ja testiaine ilman kasviseosta). Näistä kontrolleista saadut tiedot tulee ottaa huomioon  $EC_x$ -arvojen laskennassa.

### 2.2 TULOSTEN TULKINTA

Kun maataloudessa käytettävien kemikaalien testituloksia arvioitaessa nitraatinmuodostusnopeuden ero alimman testiaineannostuksen (joka vastaa ennakoitua enimmäiskonsentraatiota) ja kontrollinäytteen välillä on 25 % tai vähemmän millä tahansa näytteenotokerralla päivän 28 jälkeen, voidaan arvioida, että testiaineella ei ole pitkäaikaista vaikutusta typen muuntumiseen maaperässä. Arvioitaessa muita kuin maataloudessa käytettäviä kemikaaleja tuloksissa esitetään  $EC_{50}$ -,  $EC_{25}$ - ja/tai  $EC_{10}$ -arvot.

3

**TULOSTEN ILMOITTAMINEN**

Testiselosteessa on annettava seuraavat tiedot.

Tunnistetiedot testinäytteestä, mukaan lukien:

- näytteenottoaikan maantieteellinen sijainti (leveys- ja pituusaste)
- näytteenottoaikan historia (esimerkiksi kasvipeite, käsittelyt kasvinsuojeluaineilla, lannoitekäsittelyt, satunnainen saastuminen)
- käyttötapa (esimerkiksi maanviljelysmaa, metsä)
- näytteenottosyvyys (cm)
- hiekka-/siltti-/savipitoisuus (% kuivapainosta)
- pH (vedessä)
- orgaanisen hiilen pitoisuus (% kuivapainosta)
- typpipitoisuus (% kuivapainosta)
- alkuperäinen nitraattikonsentraatio (mg nitraattia / kg kuivapainoa)
- kationinvaihtokyky (mmol/kg)
- mikrobiomassa prosentteina orgaanisen hiilen kokonaismäärästä
- viitetiedot kunkin parametrin määrittämisestä
- tiedot maanäytteiden keräämisestä ja varastoinnista
- maaperän esi-inkubointitiedot tarvittaessa.

Testiaine:

- fysikaalinen olomuoto ja tarvittaessa fysiko-kemialliset ominaisuudet
- tarvittaessa kemialliset tunnistetiedot, mukaan lukien rakennekaava, puhtaus (esimerkiksi kasvinsuojeluaineista tehoaineen prosenttiosuus), typpipitoisuus.

Kasvualusta:

- kasvialustan lähde
- koostumus (esimerkiksi sinimailanen, sinimailas-ruohoseos)
- hiili- ja typpipitoisuus (% kuivapainosta)
- seulan reiän koko (mm).

Testiolosuhteet:

- tiedot maanäytteen parantamisesta orgaanisella kasvialustalla
- testiaineen konsentraatioiden määrä ja tarvittaessa niiden valintaperusteet
- tiedot testiaineen annostelusta maahan
- inkubaatiolämpötila
- näytteen kosteuspitoisuus testin alussa ja sen aikana
- näytteen inkubointitapa (massana tai useina erillisinä osinäytteinä)
- rinnakkaisnäytteiden määrä
- näytteenottoajankohdat
- menetelmä nitraatin uuttamiseksi näytteestä.

## Tulokset:

- nitraatin analysoinnissa käytetty menetelmä ja laitteisto
- taulukko nitraattimittausten yksittäisistä arvoista ja keskiarvoista
- testi- ja kontrollinäytteiden rinnakkaisnäytteiden välinen vaihtelu
- laskuihin tehtyjen korjausten selitykset tarvittaessa
- nitraatinmuodostusnopeuden prosentuaalinen vaihtelu kullakin näytteenotokerralla tai soveltuvin osin  $EC_{50}$ -arvo 95 %:n luottamusvälein, muu  $EC_x$ -arvo (joko  $EC_{25}$  tai  $EC_{10}$ ) luottamusvälein ja annos-vastekäyrä
- tulosten tilastollinen käsittely
- kaikki tulosten tulkinnan kannalta hyödylliset tiedot ja havainnot.

**LÄHDELUETTELO**

- (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 (toinen painos 1990).
- (3) EPA (1987). Soil Microbial Community Toxicity Test. EPA 40 CFR Part 797.3700. Toxic Substances Control Act Test Guidelines; Proposed rule. 28. syyskuuta 1987.
- (4) SETAC-Europe (1995). Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides, Ed. M.R. Lynch, Pub. SETAC-Europe, Bryssel.
- (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, Italia, 18.–20. tammikuuta 1995.
- (7) ISO 10381-6 (1993). Soil quality - Sampling. Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in the laboratory.
- (8) ISO 14240-1 (1997). Soil quality - Determination of soil microbial biomass - Part 1: Substrate-induced respiration method.
- (9) ISO 14240-2 (1997). Soil quality - Determination of soil microbial biomass - Part 2: Fumigation-extraction method.
- (10) Litchfield, J.T. and 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. Kolmas painos, Cambridge, Lontoo ja New York.
- (12) Finney, D.J. (1978). Statistical Methods in Biological Assay. Griffin, Weycombe, Iso-Britannia.

## C.22. MAAPERÄN MIKROBIT: HIILEN MUUNTUMISTESTI

### 1. MENETELMÄ

Tämä menetelmä on toisinto OECD:n testiohjeesta nro 217 (2000).

#### 1.1 JOHDANTO

Tämän menetelmän tarkoitus on tutkia laboratoriomenetelmin kasvinsuojeluaineiden ja mahdollisesti muiden kemikaalien pitkäaikaisia vaikutuksia maaperän mikrobien hiiltä muuntavaan toimintaan kerta-altistuksen jälkeen. Testi perustuu pääosin Euroopan ja Välimeren alueen kasvinsuojelujärjestön (OEPP) antamiin suosituksiin (1). Myös muiden elinten, esimerkiksi Saksan Biologische Bundesanstaltin (2), Yhdysvaltain ympäristönsuojeluviraston (3), ja SETACin (4) laatimat ohjeet on otettu huomioon. Menetelmässä käytettävien maanäytteiden määrästä ja tyypistä on sovittu maalajin ja sedimentin valintaa käsitelleessä OECD:n työryhmässä, joka kokoontui Belgiratsessa Italiassa vuonna 1995 (5). Maanäytteiden keräämiseen, käsittelyyn ja varastointiin liittyvät suositukset perustuvat ISO:n ohjeisiin (6) sekä Belgiraten työryhmän suosituksiin.

Testiaineiden toksisten ominaisuuksien arvioinnin yhteydessä voi olla tarpeen määrittää niiden vaikutukset maaperän mikrobien toimintaan, esimerkiksi silloin kun tarvitaan tietoja kasvinsuojeluaineiden mahdollisista sivuvaikutuksista maaperän pieneliöstöön tai kun on odotettavissa maaperän mikrobien altistuminen muille kemikaaleille kuin kasvinsuojeluaineille. Hiilen muuntumistestin tarkoituksena on määrittää kyseisten kemikaalien vaikutukset maaperän pieneliöstöön. Jos testattavat aineet ovat maatalouskemikaaleja (esimerkiksi kasvinsuojeluaineita, lannoitteita tai metsätalouskemikaaleja), on tehtävä sekä hiilen että typen muuntumistesti. Jos testattavat aineet ovat muita kuin maatalouskemikaaleja, pelkkä typen muuntumistesti riittää. Mikäli kyseisten kemikaalien typen muuntumistestistä saadut EC<sub>50</sub>-arvot ovat kaupallisissa nitrifikaatiota estävien aineiden (esimerkiksi nitrapyriini) alueella, hiilen muuntumistesti voidaan tehdä lisätietojen saamiseksi.

Maaperä muodostuu elävästä ja elottomasta aineesta, joka esiintyy erilaisina, heterogeenisina seoksina. Mikrobeilla on tärkeä osuus viljavien maannosten orgaanisen aineen hajottamisessa ja muuntamisessa, ja monet eliölajit vaikuttavat maannoksen viljavuuden eri tekijöihin. Kaikki pitkäaikaiset vaikutukset näihin biokemiallisiin prosesseihin saattavat muuttaa ravinnekiertoa, jolloin maannoksen viljavuus saattaa muuttua. Hiilen ja typen muuntumista tapahtuu kaikissa viljavissa maannoksissa. Vaikka nämä prosessit aiheuttava mikrobiyhteisö on erilainen eri maalajeissa, muuntumisreitit ovat olennaisilta osin samat.

Tässä kuvatussa menetelmän tarkoitus on todeta testiaineen pitkäaikaiset haittavaikutukset hiilen muuntumisprosessiin aerobisissa pintamaissa. Testin avulla voidaan havaita hiiltä muuntavien mikrobiyhteisöjen koon ja toiminnan muutoksia, koska testi altistaa mikrobiyhteisöt sekä kemialliselle stressille että hiilenpuutteelle. Testissä käytetään hiekkaista maannosta, joka sisältää niukasti orgaanista ainetta. Maannos käsitellään testiaineella ja inkuboidaan olosuhteissa, joissa mikrobien aineenvaihdunta on nopeaa. Tällaisissa olosuhteissa maannoksen sisältämät helposti saatava hiili loppuu nopeasti. Tämä aiheuttaa hiilenpuutteen, joka sekä tappaa mikrobisoluja että aiheuttaa horroksen ja/tai lepoitoiden muodostumisen. Jos testiä jatketaan yli 28 päivän ajan, näiden reaktioiden summa voidaan mitata (käsittelemätöntä maa-ainesta sisältävistä) kontrollinäytteistä metabolisesti aktiivisen mikrobibiomassan asteittain etenevänä vähenemisenä (7). Jos hiilikadosta kärsivän maa-aineksen biomassaan kohdistuu testiolosuhteissa jonkin kemikaalin vaikutus, testinäytteen biomassaa ei mahdollisesti palaudu samalle tasolle kuin kontrollinäytteen. Niinpä testiaineen milloin tahansa testin aikana aiheuttamat häiriöt kestävät usein testin loppuun asti.

Tämän menetelmän perustana olevat testit ovat olleet tarkoitettut pääasiassa aineille, joiden maaperään päätyvä määrä on ennakoitavissa. Tällaisia aineita ovat esimerkiksi kasvinsuojeluaineet, sillä niiden levitystiheys pelloille tiedetään. Maataloudessa käytettävien kemikaalien osalta riittää kahden sellaisen annoksen testaaminen, jotka kuvastavat oletettua levitysannosta. Maatalouskemikaalit voidaan testata tehoaineena tai (kaupallisena) valmisteena. Tässä esitetyn menetelmän soveltamisala ei kuitenkaan rajoitu kemikaaleihin, joiden ympäristössä havaittavat konsentraatiot ovat ennustettavissa. Muuttamalla sekä maannokseen levitettävän testiaineen määrää että tulosten arviointitapaa menetelmällä voidaan testata myös sellaisia kemikaaleja, joiden maaperään päätyvä määrä ei tunneta. Muista kuin maataloudessa käytettävistä kemikaaleista määritetään useiden konsentraatioiden vaikutukset hiilen muuntumiseen. Testitulosten perusteella laaditaan annos-vastekäyrä ja lasketaan  $EC_x$ -arvot, joissa x on määritelty vaikutus prosentteina.

## 1.2 MÄÄRITELMÄT

**Hiilen muuntuminen:** mikrobin toiminnan tuloksena tapahtuva orgaanisen aineen hajoaminen epäorgaaniseksi lopputuotteeksi, hiilidioksidiksi.

**$EC_x$  (efektiivinen konsentraatio):** maaperässä esiintyvä testiaineen konsentraatio, joka estää hiilen muuntumista hiilidioksidiksi x prosentilla.

**$EC_{50}$  (efektiivinen mediaanikonsentraatio):** maaperässä esiintyvä testiaineen konsentraatio, joka estää hiilen muuntumista hiilidioksidiksi 50 prosentilla.

## 1.3 VERTAILUAINE

Ei käytössä.

## 1.4 TESTIMENETELMÄN PERIAATE

Seulottua maa-ainesta joko käsitellään testiaineella tai käsittely jätetään tekemättä (kontrollinäyte). Maataloudessa käytettäviä kemikaaleja testattaessa suositellaan käytettäväksi vähintään kahta testikonsentraatiota, ja ne tulee valita suhteessa suurimpaan konsentraatioon, jonka odotetaan esiintyvän testattavassa ympäristössä. Inkubaatioajan (0, 7, 14 ja 28 päivää) jälkeen käsitelyihin näytteisiin ja kontrollinäytteisiin sekoitetaan glukoosia, ja glukoosin aiheuttaman soluhengityksen nopeutta mitataan yhtäjaksoisesti 12 tunnin ajan. Soluhengitysnopeus ilmoitetaan vapautuneena hiilidioksidina (milligrammaa hiilidioksidia/kuivapainokilo/tunti) tai kuluttuna happena (milligrammaa happea/maanäyteen kilo/ tunti). Soluhengitysnopeuden keskiarvoa käsitellyissä näytteissä verrataan vastaavaan nopeuteen kontrollinäytteissä ja käsiteltyjen näytteiden ja kontrollinäytteiden välinen prosentuaalinen ero lasketaan. Kaikkia testejä jatketaan vähintään 28 päivän ajan. Jos päivänä 28 käsiteltyjen näytteiden ja kontrollinäytteiden välinen ero on 25 % tai enemmän, mittauksia jatketaan 14 päivän välein enintään 100 päivään asti. Jos testattavana on muu kuin maataloudessa käytettävä kemikaali, maanäytteisiin lisätään sarja testiaineen konsentraatioita, ja muodostuneen glukoosin aiheuttama soluhengitysnopeus (muodostuneen hiilidioksidin tai kulutetun hapen määrän keskiarvo) mitataan käsitellyistä näytteistä ja kontrollinäytteistä 28 päivän inkubaation jälkeen. Useita konsentraatioita käyttäneiden testien tulokset analysoidaan regressiomallia käyttäen ja  $EC_x$ -arvot lasketaan ( $EC_{50}$ ,  $EC_{25}$  ja/tai  $EC_{10}$ ). Katso kohta Määritelmät.

## 1.5 TESTIN VALIDITEETTI

Maatalouskemikaalien testitulosten arviot perustuvat suhteellisen pieniin eroihin (esimerkiksi keskiarvo  $\pm 25\%$ ) käsitellyissä näytteissä ja kontrollinäytteissä vapautuneen hiilidioksidin tai näytteiden kuluttaman hapen välillä, joten kontrollinäytteiden suuri vaihtelu voi johtaa virheellisiin tuloksiin. Tästä syystä rinnakaisten kontrollinäytteiden välisen vaihtelun pitäisi olla alle  $\pm 15\%$ .

## 1.6 TESTIMENETELMÄN KUVAUS

### 1.6.1 **Laitteet**

Testissä käytetään säiliöitä, jotka on valmistettu kemiallisesti inertistä materiaalista. Säiliöiden on sovitettava kooltaan maanäytteiden inkubaatiomenettelyyn (joko koko massana tai sarjana erillisiä maanäytteitä, katso kohta 1.7.1.2). Testin aikana on syytä varmistaa, että veden haihtuminen on mahdollisimman vähäistä ja että kaasujen vaihtuminen on mahdollista (testisäiliö voidaan esimerkiksi peittää rei'itetyllä polyetyleenikalvolla). Testattaessa helposti haihtuvia aineita tulee käyttää kannellisia ja kaasutiiviitä säiliöitä. Niiden koon tulisi olla sellainen, että maanäyte täyttää noin neljäsosan niiden tilavuudesta.

Glukoosin aiheuttaman soluhengityksen mittaamiseksi tarvitaan inkubointijärjestelmä ja mittauslaitteet, joilla voidaan mitata hiilidioksidin tuotantoa tai hapen kulutusta. Tällaisia järjestelmiä ja mittauslaitteita kuvataan jäljempänä mainituissa kirjallisuusviitteissä (8) (9) (10) (11).

### 1.6.2 **Testattavien maalajien valinta ja määrä**

Testissä käytetään yhtä maalajia. Näytteeksi valittavan maannoksen suositeltavat ominaisuudet ovat seuraavat:

- hiekkapitoisuus: vähintään 50% ja enintään 75%
- pH: 5,5–7,5
- orgaanisen hiilen pitoisuus: 0,5–1,5%
- mikrobibiomassa mitataan (12)(13), ja sen hiilipitoisuuden tulee olla vähintään 1% maaperän orgaanisen hiilen kokonaispitoisuudesta.

Useimmissa tapauksissa tällainen maannos on hankalin mahdollinen tapaus, koska testiaineen adsorboituminen on minimaalista ja sen saatavuus pieneliöstölle maksimaalista. Tämän vuoksi ei yleensä ole tarpeen testata muita maalajeja. Kuitenkin joissain olosuhteissa, esimerkiksi kun testiainetta ennakoidaan käytettäväksi runsaasti ennen kaikkea happamien metsämaiden tapaisissa maannoksissa tai kun kemikaali on elektrostaattisesti varautunut, voi olla tarpeen käyttää testissä toista maalajia.

### 1.6.3 **Maanäytteiden kerääminen ja varastointi**

#### 1.6.3.1 *Kerääminen*

Näyteenkeräyspaikasta tulisi olla käytettävissä yksityiskohtaiset taustatiedot. Näitä tietoja ovat tarkka sijainti, kasvipeite, kasvinsuojeluainekäsittelyjen päivämäärät, käsitellyt orgaanisilla ja epäorgaanisilla lannoitteilla, biologisten materiaalien lisäykset tai satunnaiset saastumiskerrat. Näyteenkeräyspaikaksi valitun paikan tulisi olla pitkäaikainen. Sopivia paikkoja ovat jatkuvasti laidunmaana käytettävät alueet, vuosittain korjattavien viljakasvien (paitsi maissin) pellot tai tiheään kylvetyt viherkesannot. Näyteenottoaikaksi soveltuu alue, jota ei ole käsitelty kasvinsuojeluaineilla vähintään vuoteen ennen näyteenottoa. Soveltuvalla alueella ei myöskään ole käytetty orgaanista lannoitetta vähintään kuuteen kuukauteen. Mineraalilannoitteiden käyttö on hyväksyttävää vain silloin, kun se on viljeltävän kasvin kannalta tarpeen; maanäytteet voidaan tällöin ottaa vasta vähintään kolmen kuukauden kuluttua lannoitteen käytöstä. Näytteiden ottamista maasta, jota on käsitelty biosidin tavoin vaikuttavalla lannoitteella (esimerkiksi kalsiumsyanamidilla), tulisi välttää.

Näyteenottoa tulisi välttää pitkien (yli 30 päivän) kuivuuden tai vettymisjaksojen aikana tai välittömästi niiden jälkeen. Auratuilla mailla näytteet on otettava 0–20cm:n syvyydestä. Nurmimailla (laitumilla) tai muilla maa-alueilla, joita ei aurata pitkään aikaan (vähintään yhteen kasvukauteen), näyteenoton enimmäissyvyys voi olla hiukan yli 20cm (esimerkiksi enintään 25cm). Maanäytteet on kuljetettava säiliöissä sellaisessa lämpötilassa, jossa maanäytteen alkuperäiset ominaisuudet eivät muutu merkittävästi.

### 1.6.3.2 *Varastointi*

Käytetyn maa-aineksen on oltava mieluiten äskettäin maasta otettua. Jos on välttämätöntä käyttää laboratoriossa varastoitua maa-ainesta, maanäytteet voidaan varastoida pimeässä  $4 (\pm 2)^\circ\text{C}$ :n lämpötilassa enintään kolmen kuukauden ajan. Näytteiden varastoinnin aikana on varmistettava, että olosuhteet ovat aerobiset. Jos näytteet on kerätty alueilta, joilla maaperä on jäässä vähintään kolme kuukautta vuodesta, varastointi kuuden kuukauden ajan  $-18^\circ\text{C}$ :n lämpötilassa voi tulla kysymykseen. Varastoitavien näytteiden mikrobibiomassa mitataan ennen kutakin koetta. Biomassan hiilipitoisuuden on oltava vähintään 1% näytteen orgaanisen hiilen kokonaispitoisuudesta (katso kohta 1.6.2).

### 1.6.4 **Näytteiden käsittely ja valmistelu testiä varten**

#### 1.6.4.1 *Esi-inkubaatio*

Jos näytettä on varastoitu (katso kohta 1.6.4.2 ja 1.7.1.3), suositellaan sen esi-inkuboimista 2–28 päivän ajan. Esi-inkubaation aikana näytteen lämpötilan ja kosteuspitoisuuden tulisi olla samanlaiset kuin testissä käytetyt (katso kohdat 1.6.4.2 ja 1.7.1.3)

#### 1.6.4.2 *Fysiko-kemialliset ominaisuudet*

Näytteestä puhdistetaan manuaalisesti suuret vieraat esineet (esimerkiksi kivet ja kasvinosat), minkä jälkeen se märkäsulotaan liikaa kuivaamatta enintään 2 mm:n raekokoon. Näytteen kosteuspitoisuus tulee säätää tislattulla tai ionipuhdistetulla vedellä 40%–60%:iin maksimaalisesta vedenpidätyskyvystä.

### 1.6.5 **Testiaineen valmistelu näytteeseen annostelua varten**

Testiaine annostellaan tavallisesti kantaja-aineen avulla. Kantaja-aineena voi olla vesi (vesiliukoisten testiaineiden yhteydessä) tai inertti kiintoaine, kuten hieno kvartsihiekkä (raekoko 0,1–0,5mm). Muita nestemäisiä kantaja-aineita kuin vettä (esimerkiksi orgaanisia liuottimia, kuten asetonia ja kloroformia) tulee välttää, koska ne saattavat vahingoittaa pieneliöstöä. Jos kantaja-aineena käytetään hiekkää, se voidaan pinnoittaa testiaineella, joka on liuotettu tai suspendoitu sopivaan liuottimeen. Tällaisissa tapauksissa liuotin tulee poistaa haihduttamalla ennen kuin kantaja-aine sekoitetaan maannokseen. Jotta testiaine leviäisi näytteessä optimaalisesti, suositellaan suhteeksi 10g hiekkää yhtä näytteen kuivapainokiloa kohti. Kontrollinäytteet käsitellään vastaavalla määrällä pelkkää vettä ja/tai kvartsihiekkää.

Testattaessa helposti haihtuvia kemikaaleja tulisi mahdollisuuksien mukaan välttää aineen hävikkiä käsittelyn aikana ja pyrkiä varmistamaan aineen tasainen leviäminen näytteeseen (esimerkiksi ruiskuttamalla testiaine näytteeseen useisiin kohtiin).

### 1.6.6 **Testikonsentraatiot**

Jos testataan maataloudessa käytettäviä kemikaaleja tai muita kemikaaleja, joiden pitoisuus ympäristössä on ennustettavissa, tulee käyttää ainakin kahta konsentraatiota. Pienemmän konsentraation tulee kuvastaa vähintään testiaineen käytännössä maaperään pääsevää enimmäismäärää, ja suuremman konsentraation puolestaan tulee olla pienemmän kerrannainen. Maanäytteeseen lisättävät testiaineen konsentraatiot lasketaan olettaen, että aine imeytyy tasaisesti 5 cm:n syvyyteen ja että maamassan tiheyden arvo on 1,5. Testattaessa maataloudessa käytettäviä, suoraan maaperään levitettäviä kemikaaleja tai kemikaaleja, joiden maaperään pääsevä määrä on ennakoitavissa, suositeltavat testikonsentraatiot ovat suurin odotettavissa oleva konsentraatio ympäristössä sekä mainittu konsentraatio kerrottuna viidellä. Testattaessa mahdollisesti useita kertoja kasvukaudessa maaperään levitettäviä aineita testikonsentraatio johdetaan kertomalla suurin odotettavissa oleva konsentraatio ympäristössä ennakoitujen levityskertojen määrällä. Suurin testikonsentraatio voi kuitenkin olla enintään kymmenen kertaa suurempi kuin suurin yksittäinen annos.

Jos testataan muita kuin maataloudessa käytettäviä kemikaaleja, tulee testissä käyttää vähintään viiden konsentraation geometrista sarjaa. Valittujen testikonsentraatioiden tulee kattaa EC<sub>50</sub>-arvojen määrittämiseksi tarvittava alue.

## 1.7 TESTIN SUORITUS

### 1.7.1 **Altistusolosuhteet**

#### 1.7.1.1 *Testinäytteet ja kontrollinäytteet*

Jos testataan maataloudessa käytettäviä kemikaaleja, maanäyte jaetaan kolmeen samanpainoiseen osaan. Kahteen osaan sekoitetaan testiaineen sisältävää kantaja-ainetta ja kolmanteen sekoitetaan kantaja-ainetta, joka ei sisällä testiainetta (kontrollinäyte). On suositeltavaa käyttää vähintään kolmea rinnakkaisnäytettä sekä testi- että kontrollinäytteestä. Jos testataan muita kuin maataloudessa käytettäviä kemikaaleja, maanäyte jaetaan kuuteen samanpainoiseen osaan. Viiteen osaan sekoitetaan testiaineen sisältävää kantaja-ainetta ja kuudenteen sekoitetaan kantaja-ainetta, joka ei sisällä testiainetta. On suositeltavaa käyttää kolmea rinnakkaisnäytettä sekä testi- että kontrollinäytteestä. Testiaineen tasainen leviäminen testinäytteisiin tulee varmistaa. Sekoittamisen aikana on vältettävä näytteen tiivistämistä tai muotoutumista palloksi.

#### 1.7.1.2 *Maanäytteiden inkubointi*

Maanäytteiden inkubointi voidaan toteuttaa kahdella tavalla: massana testi- ja kontrollinäytteestä tai sarjana yksittäisiä, samankokoisia osanäytteitä testi- ja kontrollinäytteestä. Helposti haihtuvien aineiden testi on kuitenkin toteutettava sarjalle yksittäisiä osanäytteitä. Kun maanäytteet inkuboidaan massana, kutakin testi- ja kontrollinäytettä valmistetaan suuri määrä, josta analysoidaan osanäytteet otetaan tarpeen mukaan testin aikana. Aluperin valmistettava testi- ja kontrollinäytteen määrä riippuu osanäytteiden koosta, analysoidavien rinnakkaisnäytteiden määrästä sekä arvioitujen näytteenottokertojen enimmäismäärästä. Massana inkuboidut maanäytteet tulee sekoittaa huolellisesti ennen osanäytteen ottoa. Kun maanäytteet inkuboidaan yksittäisten näytteiden sarjana, kukin testi- ja kontrollimassanäyte jaetaan tarvittaviin osanäytteisiin, joita sitten käytetään tarpeen mukaan. Kokeissa, joissa näytteenottokertoja ennakoidaan olevan enemmän kuin kaksi, osanäytteitä tulee valmistaa riittävästi kaikkia rinnakkaisnäytteitä ja näytteenottokertoja varten. Vähintään kolme testattavan maanäytteen rinnakkaisnäytettä tulee inkuboida aerobisissa olosuhteissa (katso kohta 1.7.1.1). Kaikkien testien aikana tulee käyttää asianmukaisia säiliöitä, joissa on riittävästi ilmatilaa, jotta vältetään anaerobisten olosuhteiden kehittyminen. Kun testataan haihtuvia aineita, testi tulee aina tehdä sarjalle yksittäisiä osanäytteitä.

#### 1.7.1.3 *Testiolosuhteet ja testin kesto*

Testi toteutetaan pimeässä 20 ( $\pm 2$ )°C:n huoneenlämmössä. Maanäytteiden kosteuspitoisuus tulee pitää testin aikana 40–60%:ssa näytteen maksimaalisesta vedenpidätkyvyydestä (katso kohta 1.6.4.2) vaihteluvälillä  $\pm 5\%$ . Tarvittaessa voidaan lisätä tislattua, ionipuhdistettua vettä.

Testien vähimmäiskesto on 28 päivää. Testattaessa maataloudessa käytettäviä kemikaaleja verrataan testi- ja kontrollinäytteissä vapautuneen hiilidioksidin tai kulutetun hapen määrää. Jos näiden ero on yli 25% päivänä 28, testiä jatketaan, kunnes saavutetaan enintään 25% suuruinen ero, tai 100 päivän ajan sen mukaan, kumpaan kuluu vähemmän aikaa. Testattaessa muita kuin maataloudessa käytettäviä kemikaaleja testi lopetetaan 28 päivän kuluttua. Päivänä 28 määritetään vapautuneen hiilidioksidin tai kulutetun hapen määrät testi- ja kontrollinäytteissä sekä lasketaan EC<sub>x</sub>-arvot.

### 1.7.2 **Näytteenotto ja näytteiden analyysi**

#### 1.7.2.1 *Näytteenottoaikataulu*

Jos testataan maataloudessa käytettäviä kemikaaleja, maanäytteistä analysoidaan glukoosin aiheuttama soluhengitysnopeus päivinä 0, 7, 14 ja 28. Jos testiä on jatkettava, jatkomittaukset tehdään 14 päivän välein päivästä 28 lähtien.

Jos testataan muita kuin maataloudessa käytettäviä kemikaaleja, tulee käyttää vähintään viittä testikonsentraatiota, ja näytteistä analysoidaan glukoosin aiheuttama soluhengitys testin alussa (päivä 0) ja altistusjakson lopussa (28 päivää). Tarvittaessa voidaan tehdä välimittaus esimerkiksi päivänä 7. Päivänä 28 saatuja tietoja käytetään kemikaalin EC<sub>x</sub>-arvon määrittämiseksi. Haluttaessa voidaan arvioida maanäytteen alkuperäinen metabolisesti aktiivisen mikrobibiomassan määrä päivän 0 tietojen perusteella (12).

### 1.7.2.2 *Glukoosin aiheuttaman soluhengityksenopeuden mittaaminen*

Glukoosin aiheuttama soluhengityksenopeus mitataan kustakin testi- ja kontrollinäytteestä jokaisella näytteenottokerralla. Maanäytteisiin sekoitetaan sellainen glukoosimäärä, joka riittää aiheuttamaan välittömästi maksimaalisen soluhengitysvasteen. Kullekin maalajille riittävä määrä voidaan määrittää testaamalla esitestissä sarja glukoosipitoisuuksia (14). Hiekkamaannoksille, joiden orgaanisen hiilen pitoisuus on 0,5–1,5%, riittävä annos on kuitenkin yleensä 2000 mg–4000 mg glukoosia/maanäytteen kuivapainokilo. Glukoosi voidaan jauhaa hienoksi yhdessä puhtaan kvartsihiekan kanssa (10 g hiekkaa/maanäytteen kuivapainokilo) ja sekoittaa tasaisesti maanäytteeseen.

Glukoosilla parannettuja maanäytteitä inkuboidaan laitteessa, josta soluhengityksenopeus voidaan mitata joko jatkuvasti, joka tunti tai joka toinen tunti (katso kohta 1.6.1) 20 °C:n ( $\pm 2$ ) lämpötilassa. Vapautunut hiilidioksidi tai kulutettu happi mitataan yhtäjaksoisesti 12 tunnin aikana. Mittaukset tulee aloittaa mahdollisimman pian eli 1–2 tunnin kuluttua glukoosin lisäämisestä. Mitataan 12 tunnin aikana vapautuneen hiilidioksidin tai kulutetun hapen kokonaismäärä ja määritetään soluhengityksen keskinopeus.

## 2 MÄÄRITYSTULOKSET

### 2.1 TULOSTEN KÄSITTELY

Jos tutkitaan maatalouskemikaaleja, kunkin rinnakkaisnäytteessä vapautuneen hiilidioksidin tai kunkin maanäytteen kuluttaman hapen määrä raportoidaan, ja kaikkien rinnakkaisnäytteiden keskiarvoista laaditaan taulukko. Tulokset tulee arvioida asianmukaisilla ja yleisesti hyväksytyillä tilastollisilla menetelmillä (esimerkiksi F-testi, 5%:n merkitsevyytaso). Glukoosin aiheuttama soluhengityksenopeus ilmoitetaan milligrammoina hiilidioksidia/maanäytteen kuivapainokilo/tunti tai milligrammoina happea/maanäytteen kuivapainokilo/h. Kustakin testinäytteestä saatua hiilidioksidin muodostumisnopeuden keskiarvoa tai hapen kulutusnopeuden keskiarvoa verrataan kontrollinäytteen arvoihin ja lasketaan prosentuaalinen poikkeama kontrollista.

Jos testataan muita kuin maataloudessa käytettäviä kemikaaleja, kussakin rinnakkaisnäytteessä vapautuneen hiilidioksidin tai kulutetun hapen määrä määritetään ja laaditaan annos-vastekäyrä  $EC_x$ -arvojen arvioimista varten. Testinäytteistä 28 päivän jälkeen havaittuja glukoosin aiheuttaman soluhengityksenopeuden arvoja (mg hiilidioksidia/maanäytteen kuivapainokilo/tunti tai mg happea/maanäytteen kuivapainokilo/tunti) verrataan kontrollinäytteistä havaittuihin arvoihin. Näistä tiedoista lasketaan prosentuaaliset estoarvot kaikille testikonsentraatioille. Laaditaan kuvaaja, jossa esitetään prosentiosuudet konsentraation funktiona, ja  $EC_x$ -arvot lasketaan tilastollisin menetelmin. Luottamusvälit ( $p=0,95$ ) lasketuille  $EC_x$ -arvoille määritetään myös standardimenetelmillä (15)(16)(17).

### 2.2 TULOSTEN TULKINTA

Kun maatalouskemikaalien testituloksia arviotaessa soluhengityksenopeuden ero alimman testiaineannostuksen (joka vastaa ennakoitua enimmäiskonsentraatiota) ja kontrollinäytteen välillä on 25% tai vähemmän millä tahansa näytteenottokerralla päivän 28 jälkeen, voidaan arvioida, että testiaineella ei ole pitkäaikaista vaikutusta hiilen muuntumiseen maaperässä. Arviotaessa muita kuin maatalouskemikaaleja tuloksissa esitetään  $EC_{50}$ -,  $EC_{25}$ - ja/tai  $EC_{10}$ -arvot.

3

**TULOSTEN ILMOITTAMINEN****TESTISELOSTE**

Testiselosteessa on annettava seuraavat tiedot:

Testinäytteen täydelliset tunnistetiedot mukaan luettuina

- näytteenottoaikan maantieteellinen sijainti (leveys- ja pituusaste)
- näytteenottoaikkaa koskevat taustatiedot (esimerkiksi kasvipeite, käsittelyt kasvinsuojeluaineilla, lannoitekäsittelyt, satunnainen saastuminen)
- käyttötapa (esimerkiksi viljelysmaa, metsä)
- näytteenottosyvyyden (cm)
- hiekka-/siltti-/savipitoisuus (% kuivapainosta)
- pH (vedessä)
- orgaanisen hiilen pitoisuus (% kuivapainosta)
- typpipitoisuus (% kuivapainosta)
- kationinvaihtokyky (mmol/kg);
- alkuperäinen mikrobibiomassa prosentteina orgaanisen hiilen kokonaismäärästä
- viitetiedot kunkin parametrin määrittelymenetelmästä
- tiedot maanäytteen keräämisestä ja varastoinnista
- tiedot maanäytteen esi-inkubaatiosta.

Testiaine:

- fysikaalinen olomuoto ja tarvittaessa fysiko-kemialliset ominaisuudet
- tarvittaessa kemialliset tunnistetiedot, mukaan luettuna rakennekaava, puhtaus (esimerkiksi kasvinsuojeluaineista tehoaineen prosenttiosuus), typpipitoisuus.

Testiolosuhteet:

- tiedot maanäytteen parantamisesta orgaanisella kasvualustalla
- testiaineen käytettyjen konsentraatioiden määrä ja tarvittaessa niiden valintaperusteet
- tiedot testiaineen annostelusta näytteeseen
- inkubaatiolämpötila
- näytteen kosteuspuite testin alussa ja sen aikana
- näytteen inkubointitapa (massana tai useina erillisinä osanäytteinä)
- rinnakkaisnäytteiden määrä
- näytteenottoajankohdat.

## Tulokset:

- soluhengitysnopeuden mittauksessa käytetty menetelmä ja laitteisto
- taulukko hiilidioksidi- tai happimittausten yksittäisistä arvoista ja keskiarvoista
- testi- ja kontrollinäytteiden rinnakkaisnäytteiden välinen vaihtelu
- laskuihin tehtyjen korjausten selitykset tarvittaessa
- glukoosin aiheuttaman soluhengitysnopeuden prosentuaalinen vaihtelu kullakin näytteenotokerralla tai soveltuvin osin  $EC_{50}$ -arvo 95%:n luottamusvälein, muu  $EC_x$ -arvo (joko  $EC_{25}$  tai  $EC_{10}$ ) luottamusvälein ja annos-vastekäyrä
- tulosten tilastollinen käsittely tarvittaessa
- kaikki tulosten tulkinnan kannalta hyödylliset tiedot ja havainnot.

**LÄHDELUETTELO**

- (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 (toinen painos, 1990).
- (3) EPA (1987). Soil Microbial Community Toxicity Test. EPA 40 CFR Part 797.3700. Toxic Substances Control Act Test Guidelines; Proposed rule. 28. syyskuuta 1987.
- (4) SETAC-Europe (1995). Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides, Ed. M.R. Lynch, Pub. SETAC-Europe, Bryssel.
- (5) OECD (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/Sediments, Belgirate, Italia, 18.–20. tammikuuta 1995.
- (6) ISO 10381-6 (1993). Soil quality - Sampling. Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in the laboratory.
- (7) Anderson, J.P.E. (1987). Handling and Storage of Soils for Pesticide Experiments, teoksessa "Pesticide Effects on Soil Microflora". Toim. L. Somerville and M.P. Greaves, luku 3: 45–60.
- (8) Anderson, J.P.E. (1982). Soil Respiration, teoksessa "Methods of Soil Analysis – Part 2: Chemical and Microbiological Properties". Agronomy Monograph N° 9. Toim. 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). Soil Quality - Laboratory incubation systems for measuring the mineralization of organic chemicals in soil under aerobic conditions.
- (11) Heinemeyer O., Insam, H., Kaiser, E.A, and Walenzik, G. (1989). Soil microbial biomass and respiration measurements; an automated technique based on infrared gas analyses. Plant and Soil, 116: 77–81.
- (12) ISO 14240-1 (1997). Soil quality - Determination of soil microbial biomass - Part 1: Substrate-induced respiration method.
- (13) ISO 14240-2 (1997). Soil quality - Determination of soil microbial biomass - Part 2: Fumigation-extraction method.
- (14) Malkomes, H.-P. (1986). Einfluß von Glukosemenge auf die Reaktion der Kurzzeit-Atmung im Boden Gegenüber Pflanzenschutzmitteln, Dargestellt am Beispiel eines Herbizide. (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. and 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. 3. painos, toim., Cambridge, Lontoo ja New York.
- (17) Finney D.J. (1978). Statistical Methods in Biological Assay. Griffin, Weycombe, Iso-Britannia.

### C.23. KEMIKAALIEN AEROBINEN JA ANAEROBINEN HAJOAMINEN MAAPERÄSSÄ

#### 1. MENETELMÄ

Tämä menetelmä on toisinto OECD:n testiohjeesta nro 307 (2002)

#### 1.1 JOHDANTO

Tämä menetelmä perustuu aikaisempiin ohjeisiin 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ja 9. Kuvatun testimenetelmän tarkoitus on arvioida kemikaalien aerobista ja anaerobista hajoamista maaperässä. Testien avulla määritetään i) testiaineen hajoamisnopeus sekä ii) sellaisten hajoamistuotteiden laatu, joille kasvit ja maaperän mikrobit saattavat altistua, ja niiden muodostumis- ja häviämisnopeus. Nämä tutkimukset on tehtävä kemikaaleille, joita levitetään suoraan maaperään tai jotka todennäköisesti päätyvät maaperään. Laboratoriotutkimusten tulosten pohjalta voidaan myös kehittää vastaavissa kenttätutkimuksissa käytettäviä näytteenotto- ja analyysikäytäntöjä.

Hajoamisreittien arvioimiseksi riittää yleensä aerobinen ja anaerobinen testi yhdellä maannostyyppillä (8)(10)(11). Hajoamisnopeuksien määrittämiseksi on käytettävä sen lisäksi vähintään kolmea maannostyyppiä (8)(10).

Belgiratessa Italiassa vuonna 1995 pidetyssä maannosten ja sedimenttien valintaa käsitelleessä OECD:n työryhmän kokouksessa sovittiin erityisesti tässä testissä käytettävien maannosten määrästä ja tyypeistä (10). Testattavien maannostyyppien pitää edustaa kattavasti ympäristöolosuhteita, joissa testiainetta käytetään tai joissa päästöt tapahtuvat. Esimerkiksi testattaessa kemikaaleja, joiden päästöjä saattaa tapahtua subtrooppisissa tai trooppisissa ilmastotyypeissä, täytyy käyttää FAO:n järjestelmän mukaisia Ferrasol (rauta-alu-maannos)- ja Nitosol (hohtosavimaannos) -tyyppisiä. Työryhmä esitti myös maanäytteiden keräämiseen, käsittelyyn ja varastointiin liittyviä suosituksia, jotka perustuvat ISO:n ohjeisiin (15). Menetelmässä otetaan huomioon myös riisin kosteikkoviljelyyn käytettävät maannokset.

#### 1.2 MÄÄRITELMÄT

**Testiaine:** mikä tahansa aine, joko alkutuote tai merkitykselliset hajoamistuotteet.

**Hajoamistuotteet:** kaikki aineet, jotka syntyvät testiaineen bioottisista tai abioottisista hajoamisreaktioista, mukaan luettuina CO<sub>2</sub> ja tuotteet, jotka ovat sitoutuneissa jäämissä.

**Sitoutuneet jäämät:** maaperässä, kasveissa tai eläimissä esiintyvät yhdisteet, jotka uuttamisen jälkeen säilyvät matriisissa alkutuotteen tai sen metaboliitin (metaboliittien) / hajoamistuotteiden muodossa. Uuttomenetelmä ei saa olennaisesti muuttaa itse yhdisteitä tai matriisin rakennetta. Sidoksen luonnetta voidaan osittain selvittää matriisia muuttavilla uuttomenetelmillä ja kehittyneillä analyysitekniikoilla. Tähän mennessä on tunnistettu tällä tavalla esimerkiksi kovalentit ioni- ja sorptiosidokset sekä sulkeuma-aineet. Yleisesti voidaan todeta, että sitoutuneiden jäämien muodostuminen vähentää aineen biologista saatavuutta ja hyötyosuutta merkittävästi (12) [vuodelta 1984 olevaan IUPAC-nimikkeistön tehty muutos (13)].

**Aerobinen hajoaminen:** reaktiot, joihin osallistuu molekyylistä happea (14).

**Anaerobinen hajoaminen:** reaktiot, joihin ei osallistu molekyylistä happea (14).

**Maaperä:** pienten organismien (pääasiassa mikro-organismien) eloperäiseksi tekemä sekoitus mineraalisia ja orgaanisia kemiallisia ainesosia, joista jälkimmäisiin sisältyy suuren hiili- ja typpipitoisuuden sisältäviä yhdisteitä sekä molekyyllipainoltaan suuria yhdisteitä. Maaperää voidaan käsitellä kahdessa eri tilassa:

- a) luonnontilaisena eli siinä muodossa, johon se on ajan kuluessa kehittynyt maannostyyppilleen luonteenomaisiksi kerrostumiksi
- b) häiriintyneenä eli siinä muodossa, jossa se yleensä esiintyy viljellyissä peltomaissa tai tätä testimenetelmää varten kaivetuissa näytteissä (14).

**Mineralisaatio:** orgaanisen yhdisteen täydellinen hajoaminen CO<sub>2</sub>:ksi ja H<sub>2</sub>O:ksi aerobisissa olosuhteissa sekä CH<sub>4</sub>:ksi, CO<sub>2</sub>:ksi ja H<sub>2</sub>O:ksi anaerobisissa olosuhteissa. Tässä testimenetelmässä käytettäessä merkkiaineena <sup>14</sup>C:ta mineralisaatio tarkoittaa laajaa hajoamista, jonka aikana merkitty hiiliatomi hapettuu ja vapautuu asianmukainen määrä <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>:ta (14).

**Puoliintumisaika:** t<sub>0,5</sub> on aika, joka kuluu testiaineen 50-prosenttiseen hajoamiseen tapauksissa, joissa hajoaminen voidaan kuvata ensimmäisen asteen kinetiikan avulla. Puoliintumisaika ei riipu konsentraatiosta.

**Häviämisaika 50 (DT<sub>50</sub>):** aika, jonka kuluessa testiaineen konsentraatio vähenee 50 %:lla; tämä arvo on eri kuin puoliintumisaika t<sub>0,5</sub> silloin kun hajoamista ei voi kuvata ensimmäisen asteen kinetiikan avulla.

**Häviämisaika 75 (DT<sub>75</sub>):** aika, jonka kuluessa testiaineen konsentraatio vähenee 75 %:lla.

**Häviämisaika 90 (DT<sub>90</sub>):** aika, jonka kuluessa testiaineen konsentraatio vähenee 90 %:lla.

### 1.3 VERTAILUAIINEET

Hajoamistuotteiden karakterisointiin ja/tai tunnistukseen spektroskopia- ja kromatografiamenetelmillä olisi käytettävä vertailuaineita.

### 1.4 TESTIN SOVELLUSALA

Menetelmää voidaan soveltaa kaikkiin kemiallisiin aineisiin (joita ei ole merkitty merkkiaineella tai jotka on merkitty radioaktiivisella merkkiaineella), joiden analysointiin on olemassa riittävän tarkka ja herkkä menetelmä. Tässä kuvattua menetelmää voidaan soveltaa lievästi haihtuviin, haihtumattomiin, vesiliukoisiin tai veteen liukenemattomiin yhdisteisiin. Menetelmää ei voida soveltaa kemikaaleihin, jotka haihtuvat helposti maaperästä (esimerkiksi savuavat aineet tai orgaaniset liuottimet) ja jotka eivät siis säily maaperässä tässä kuvatuissa testiolosuhteissa.

### 1.5 TESTIAINEETTA KOSKEVAT TIEDOT

Hajoamisnopeuden mittaamiseen voidaan käyttää merkittyä tai merkitsemätöntä testiainetta. Merkkiaineen (leiman) käyttö on välttämätöntä tutkittaessa hajoamisreittejä ja määritettäessä massatasetta. <sup>14</sup>C on suositeltava merkkiaine, mutta muitakin isotooppeja, kuten <sup>13</sup>C:ta, <sup>15</sup>N:ta, <sup>3</sup>H:ta tai <sup>32</sup>P:ta voidaan käyttää. Leiman pitäisi mahdollisuuksien mukaan sijaita molekyylin stabiileimmassa osassa tai osissa<sup>1</sup>. Testiaineen puhtausasteen tulisi olla vähintään 95 %.

Ennen kuin tehdään testi, joka koskee aerobista ja anaerobista hajoamista maaperässä, testiaineesta täytyy selvittää seuraavat tiedot:

- a) vesiliukoisuus (menetelmä A.6)
- b) liukoisuus orgaanisiin liuottimiin
- c) höyrynpaine (menetelmä A.4) ja Henryn lain vakio
- d) n-oktanolivesi-jakaantumiskerroin (menetelmä A.8);
- e) kemiallinen pysyvyys pimeässä (hydrolyysi) (menetelmä C.7);
- f) pK<sub>a</sub>, jos molekyylillä on taipumus protonoitua tai deprotonoitua [OECD:n ohje 112 | (16)].

Muita tarpeellisia tietoja saattavat olla tiedot testiaineen myrkyllisyydestä maaperän mikrobeille [testimenetelmät C.21 ja C.22] (16).

Testiaineen sekä sen hajoamistuotteiden määrien mittaamiseen ja tunnistukseen on oltava käytettävissä sopivat analyysimenetelmät (myös uutto- ja puhdistusmenetelmät).

<sup>1</sup> Jos testiainemolekyylillä on esimerkiksi yhden renkaan, tämä rengas täytyy merkitä; jos testiainemolekyylillä on kaksi tai useampia renkaita, saatetaan tarvita erillinen testi kunkin merkityn renkaan reitin arvioimiseksi ja tarvittavan tiedon saamiseksi hajoamistuotteiden muodostumisesta.

## 1.6 TESTIMENETELMÄN PERIAATE

Maanäytteet käsitellään testiaineella ja inkuboidaan pimeässä Erlenmeyer-pulloissa tai läpivirtausjärjestelmässä valvotuissa laboratorio-olosuhteissa (lämpötilan ja maaperänäytteen kosteuspitoisuuden ollessa vakio). Maanäytteet uutetaan sopivin väliajoin ja niistä analysoidaan alkutuote ja hajoamistuotteet. Myös helposti haihtuvat hajoamistuotteet kerätään analysoitaviksi sopivien absorptiolaitteiden avulla. Kun käytetään <sup>14</sup>C-merkkiainetta, voidaan eri mineralisaationopeudet mitata ottamalla talteen näytteessä kehittynyt <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>, jolloin massatase sekä muodostuneet maannokseen sitoutuneet jäämät voidaan määrittää.

## 1.7 LAATUVAATIMUKSET

### 1.7.1 Saanto

Vähintään kahden maanäytteen uutto ja analysointi heti testiaineen lisäämisen jälkeen antaa alustavia tietoja analyysimenetelmän toistettavuudesta ja sen testiaineeseen lisäämisen tasaisuudesta. Saanto testin myöhemmissä vaiheissa saadaan massataseista. Saantojen tulisi olla 90–110 % käytettäessä merkkiainetta (8) ja 70–110 %, kun merkkiainetta ei käytetä (3).

### 1.7.2 Analyysimenetelmän toistettavuus ja herkkyys

Analyysimenetelmän toistettavuus (lukuun ottamatta alussa tehtävän uuton tehokkuutta) testiaineen ja hajoamistuotteiden kvantifioinnin osalta voidaan varmistaa kaksoismäärittämällä samasta maannoksessa tehty uute, jota on inkuboitu niin kauan, että hajoamistuotteita on ehtinyt muodostua.

Testiaineen ja hajoamistuotteiden osalta analyysimenetelmän osoitusrajan (LOD) on oltava vähintään 0,01 mg·kg<sup>-1</sup> maanäytettä (testiaine) tai 1 % käytetystä annoksesta sen mukaan, kumpi on pienempi. Kvantifiointiraja (LOQ) on myös määritettävä.

### 1.7.3 Hajoamisreaktiossa saatujen mittaustulosten tarkkuus (luotettavuus)

Hajoamista kuvaavan käyrän luotettavuudesta saadaan tarvittavat tiedot tekemällä regressioanalyysi testiaineen konsentraatioista ajan funktiona, jolloin voidaan laskea puoliintumisaikojen luottamusvälit (kun reaktio noudattaa näennäistä ensimmäisen asteen kinetiikkaa) tai DT<sub>50</sub>-arvot sekä tarvittaessa DT<sub>75</sub>- ja DT<sub>90</sub>-arvot.

## 1.8 TESTIMENETELMÄN KUVAUS

### 1.8.1 Laitteet ja kemialliset reagenssit

Inkubointijärjestelmänä voi olla staattinen suljettu järjestelmä tai sopiva läpivirtausjärjestelmä (7)(17). Esimerkit maanäytteen inkubointiin soveltuvasta läpivirtausjärjestelmästä ja Erlenmeyer-pullosta ovat kuvissa 1 ja 2. Molemmilla järjestelmillä on omat etunsa ja rajoituksensa (7)(17).

Testiin tarvitaan tavanomaisia laboratoriolaitteita ja erityisesti seuraavia:

- analyttisiä laitteita, kuten GLC-, HPLC- ja TLC-laitteet, mukaan luettuina radioaktiivisten tai muiden kuin radioaktiivisten merkkiaineiden osoittamiseen soveltuvat järjestelmät tai käänteinen isotooppilaimennusmenetelmä
- tunnistukseen käytettävät laitteet (esimerkiksi MS-, GC-MS-, HPLC-MS-spektrometri tai NMR-laite)
- nestetuikelaskin
- hapetin radioaktiivisten aineiden polttamista varten
- sentrifugi
- uuttovälineet (esimerkiksi sentrifugiputkia kylmäuuttoa varten ja Soxhlet-uuttolaite jatkuvaa takaisinvirtausuuttoa varten);

- liuosten ja uutteiden konsentrointivälineet (esimerkiksi pyöröhaihdutin)
- vesihaude
- mekaaninen sekoituslaite (esimerkiksi sekoituskone tai pyörivä sekoitin).

Esimerkiksi seuraavia kemiallisia reagensseja tarvitaan:

- NaOH, analyysilaatu,  $2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ , tai muu sopiva emäs (esimerkiksi KOH, etanoliamiini)
- $\text{H}_2\text{SO}_4$ , analyysilaatu,  $0,05 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$
- etyleeniglykoli, analyysilaatu
- kiinteät absorptiomateriaalit, kuten natronkalkki ja polyuretaanitulpat
- orgaaniset liuottimet, analyysilaatu, kuten asetonit tai metanoli
- tuikeneste.

### 1.8.2 Testiaineen annostelu

Maanäytteeseen annostelua ja levittämistä varten testiaine voidaan liuottaa (ionipuhdistettuun tai tislattuun) veteen tai tarvittaessa pienimpään mahdolliseen määrään asetonitai muuta orgaanista liuotinta (6), jossa testiaine on riittävän liukoinen ja stabiili. Valittu liuotin ei kuitenkaan saa vaikuttaa merkittävästi maaperän mikrobien toimintaan (katso kohdat 1.5 ja 1.9.2–1.9.3). Testissä on vältettävä käyttämästä mikrobien toimintaa estävien liuottimien, kuten kloroformin, dikloorimetaniin ja muiden halogenoitujen liuottimien käyttöä.

Testiaine voidaan annostella myös kiinteässä muodossa, esimerkiksi sekoitettuna kvartsihiekkään (6) tai pieneen maanäytteen osanäytteeseen, joka on ilmakuivattu ja steriloitu. Jos testiaine lisätään liuottimen avulla, liuottimen on annettava haihtua ennen testiainetta sisältävän osanäytteen lisäämistä alkuperäiseen epästeriiliin maanäytteeseen.

Testattaessa yleiskemikaaleja, jotka joutuvat maaperään pääasiassa jätevesilietteen kautta tai maatalouskäytön yhteydessä, testiaine on ensin lisättävä lietteeseen, joka sitten annostellaan maanäytteeseen (katso kohdat 1.9.2 ja 1.9.3).

Kaupallisten valmisteiden käyttäminen testissä ei ole yleensä suositeltavaa. Se voi kuitenkin tulla kysymykseen esimerkiksi heikosti liukenevien testiaineiden kohdalla.

### 1.8.3 Maannokset

#### 1.8.3.1 Maannoksen valinta

Hajoamisreitit määrittämiseksi voidaan käyttää edustavaa maannostyyppiä. Suositeltava maannostyyppi on [FAO:n ja USDA:n luokituksen mukaan (18)] hiekkapitoinen hiesu, silttipitoinen hiesu, hiesu tai hiesupitoinen hiekka, jonka pH on 5,5–8,0, orgaanisen hiilen pitoisuus 0,5–2,5 % ja mikrobibiomassa vähintään 1 % orgaanisen hiilen kokonaismäärästä (10).

Hajoamisnopeuden määrittämiseksi on lisäksi testattava vähintään kolme erilaista edustavaa maannostyyppiä. Kunkin maannostyyppin orgaanisen hiilen pitoisuuden, pH:n, savipitoisuuden ja mikrobibiomassan on oltava erilaiset (10).

Kaikista maannostyypeistä on tutkittava ainakin rakenne (hiekk-, siltti- ja saviprosentti) [FAO:n ja USDA:n luokituksen mukaan (18)] ja määritettävä pH, kationinvaihtokyky, orgaaninen hiili, bulkkitiheys, vedenpidätyskyky<sup>2</sup> ja mikrobibiomassa (vain aerobisissa testeissä). Tulosten tulkinnassa muistakin maannoksen ominaisuuksia koskevista tiedoista voi olla hyötyä. Maannoksen ominaisuuksia voidaan määrittää lähteissä (19), (20), (21), (22) ja (23) suositeltujen menetelmien avulla. Mikrobibiomassa on määritettävä substraatin indusoiman soluhengityksen (SIR) menetelmällä (25)(26) tai muulla vastaavalla menetelmällä (20).

<sup>2</sup> Maannoksen vedenpidätyskyky voidaan mitata joko vedenpidätyslukuna, vedenpidätyskykynä tai imupaineena (pF). Lisätietoja asiasta on liitteessä 1. Testiraportissa on ilmoitettava, onko maannoksen vedenpidätysominaisuudet ja bulkkitiheys määritetty luonnontilaisista vai häiriintyneistä (käsittelyistä) maannosnäytteistä.

### 1.8.3.2 *Maanäytteiden kerääminen, käsittely ja varastointi*

Yksityiskohtaiset taustatiedot maanäytteiden keruupaikasta on oltava saatavilla. Tarvittavat tiedot ovat tarkka paikka, kasvipeite, kemikaalikäsittelyt, käsittelyt orgaanisilla ja epäorgaanisilla lannoitteilla, biologisten materiaalien lisääminen tai muu saastuminen. Hajoamistestissä ei pitäisi käyttää maannoksia, joita on käsittely testiaineella tai sen kanssa rakenteellisesti analogisella aineella edeltävän neljän vuoden aikana (10)(15).

Maa-aineksen on oltava äskettäin maasta otettua (A-horisontista eli ylimmän 20 cm:n kerroksesta), ja sen vesipitoisuuden tulisi olla seulomiseen sopiva. Näytteenottoa muista maannostyyypeistä kuin kosteikkoviljelmistä on vältettävä pitkien (> 30 päivää) kuivuus-, jäätyms- tai tulvajaksojen (14) aikana tai heti niiden jälkeen. Maanäytteet on kuljetettava siten, että niiden vesipitoisuus muuttuu mahdollisimman vähän, ja ne on säilytettävä pimeässä ja ilmvassa tilassa. Tähän tarkoitukseen sopii yleensä löyhästi sidottu polyetyleenipussi.

Maanäytteet on käsiteltävä mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen. Kasvit, maaperän suuremmat eliöt ja kivet on poistettava ennen näytteen seulomista 2 mm:n seulalla, joka poistaa pikkukivet, eläimet ja kasvinosat. Näytteen liiallista kuivaamista ja murskaamista ennen seulontaa on vältettävä (15).

Kun näytteen ottaminen pelloilta on talvella vaikeaa (maan ollessa jäässä tai lumikerroksen peitossa), näyte voidaan ottaa maannoserästä, joka on varastoitu kasvihuoneessa kasvipeitteen alla (esimerkiksi ruohon tai ruohon ja apilan sekoituksen alla). Testissä on erittäin suotavaa käyttää juuri kerättyjä näytteitä, mutta jos kerätty ja käsitelty näyte on varastoitava ennen testin alkua, varastointiolosuhteiden on oltava asianmukaiset ja varastointiajan lyhyt ( $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  enintään kolmen kuukauden ajan), jotta mikrobien toiminta ei keskeydy.<sup>3</sup> Biomuuntumiskokeissa käytettävien maanäytteiden keräämistä, käsittelyä ja varastointia koskevat yksityiskohtaiset ohjeet esitetään lähdeviiteissä (8)(10)(15)(26)(27).

Ennen kuin käsitelty maannos testataan, se on esi-inkuboitava, jotta siinä olevat siemenet saadaan itämään ja voidaan poistaa ja jotta mikrobien aineenvaihdunnan tasapaino ehtii palautua ennalleen, kun näyte siirretään näytteenotto- tai varastointiolosuhteista inkubointiolosuhteisiin. Yleensä riittää 2–28 päivän inkubointijakso, jonka aikana lämpötila- ja kosteusolosuhteet vastaavat varsinaisen testin olosuhteita (15). Yhteenlaskettu varastointi- ja esi-inkubointiaika saa olla enintään kolme kuukautta.

## 1.9 TESTIN SUORITUS

### 1.9.1 **Testiolosuhteet**

#### 1.9.1.1 *Testilämpötila*

Koko testijakson aikana maanäytteitä on inkuboitava pimeässä tasaisessa lämpötilassa, joka muistuttaa niitä ilmasto-olosuhteita, joissa testiainetta käytetään tai jossa sen päästöt tapahtuvat. Kaikkien lauhkeissa ilmasto-olosuhteissa maaperään päätyvien testiaineiden lämpötilaksi suositellaan  $20 (\pm 2)^{\circ}\text{C}$ . Lämpötilaa on tarkkailtava testin aikana.

Testattaessa kemikaaleja, joiden käyttö tai päästöt tapahtuvat kylmemmissä ilmasto-olosuhteissa (esimerkiksi pohjoisen pallonpuoliskon maissa, syys-/talvikauden aikana), on inkuboitava lisänäytteitä myös alhaisemmassa lämpötilassa (esimerkiksi  $10 (\pm 2)^{\circ}\text{C}$ ).

<sup>3</sup> Viimeaikaiset tutkimustulokset osoittavat, että myös lauhkeilta ilmastovyöhykkeiltä kerätyt maannokset voidaan varastoida  $-20^{\circ}\text{C}$ :ssa yli kolmen kuukauden ajan (28)(29) mikrobien toiminnan siitä merkittävästi häiriintymättä.

1.9.1.2 *Kosteuspitoisuus*

Aerobisissa olosuhteissa tehtävissä hajoamistesteissä maanäytteen kosteuspitoisuuden<sup>4</sup> pF-arvoa tulisi säädellä niin, että se on 2,0–2,5 (3). Maaperän kosteuspitoisuus ilmoitetaan veden massana kuivan maannoksen massaa kohti, ja sitä on tarkkailtava säännöllisesti (esimerkiksi kahden viikon välein) punnitsemalla inkubointiastiat ja korvaamalla veden menetys lisäämällä näytteeseen vettä (mieluiten steriilisti suodatettua vesijohtovettä). Nestettä lisättäessä testiaineen ja/tai hajoamistuotteiden hävikki haihtumalla ja/tai fotolyyysi (jos sitä tapahtuu) on estettävä tai pidettävä mahdollisimman vähäisenä.

Kun hajoamistesti on tehtävä anaerobisissa olosuhteissa ja kosteikkoviljelyissä maanäyteissä, maanäyte kyllästetään vedellä upottamalla se veteen.

1.9.1.3 *Aerobiset inkubaatio-olosuhteet*

Läpivirtausjärjestelmissä aerobiset olosuhteet säilytetään vaihtamalla näyteastian ilma säännöllisin väliajoin tai ilmastamalla jatkuvasti kosteutetulla ilmalla. Erlenmeyer-pulloissa ilmanvaihtoa pidetään yllä diffuusion avulla.

1.9.1.4 *Steriilit aerobiset olosuhteet*

Haluttaessa selvittää abioottisen hajoamisen merkitystä testiaineelle maanäytteet voidaan steriloida (lisätietoja sterilointimenetelmistä on lähdeviitteissä 16 ja 29), käsitellä steriilillä testiaineella (esimerkiksi suodattamalla liuos steriiliin suodattimen läpi) ja ilmastaa se kosteutetulla steriilillä ilmalla kohdan 1.9.1.3 mukaisesti. Kosteikkoviljelyissä maanäyteissä maannos ja vesi steriloidaan ja näyte inkuboidaan kohdassa 1.9.1.6 kuvatulla tavalla.

1.9.1.5 *Anaerobiset inkubaatio-olosuhteet*

Anaerobisten olosuhteiden luomiseksi ja ylläpitämiseksi testiaineella käsitelty maanäyte, joka on inkuboitu aerobisissa olosuhteissa 30 päivän tai yhden puoliintumisajan tai  $DT_{50:n}$  ajan (sen mukaan, mihin kuluu vähimmin aikaa) kyllästetään vedellä (1–3 cm:n vesikerros), ja inkubointijärjestelmä huuhdellaan inertillä kaasulla (esimerkiksi typellä tai argonilla)<sup>5</sup>. Testijärjestelmästä on voitava mitata pH, happipitoisuus ja hapetus-pelkistyspotentiaali, ja siinä on oltava haihtuvien aineiden talteenottolaitteet. Käytettäessä Erlenmeyer-pulloista koostuvaa järjestelmää sen on oltava suljettu, jotta vältetään ilman tunkeutuminen järjestelmään diffuusion kautta.

1.9.1.6 *Kosteikkoviljelyn maanäytteen inkubaatio-olosuhteet*

Testattaessa aineen hajoamista riisin kosteikkoviljelyyn käytetyssä maannoksessa maanäyte upotetaan noin 1–5 cm:n syvyyseen veteen ja testiaine lisätään vesifaasiin (9). Suositeltava maakerroksen paksuus on vähintään 5 cm. Järjestelmän ilmansaannista huolehditaan samaan tapaan kuin aerobisissakin olosuhteissa. Vesikerroksen pH:ta, happipitoisuutta ja hapetus-pelkistyspotentiaalia tarkkaillaan ja ne ilmoitetaan testiselosteessa. Ennen hajoamistestin aloittamista näytettä on esi-inkuboitava vähintään kahden viikon ajan (katso kohta 1.8.3.2).

<sup>4</sup> Maanäyte ei saa olla liian kostea eikä liian kuiva, jotta maaperän pieneliöiden ilmastus ja ravitsemustila pysyy sopivana. Optimaalisen mikrobien kasvun kannalta suositeltava kosteuspitoisuus on 40–60 % vedenpidätyskyvystä ja paine 0,1–0,33 bar (6). Jälkimmäinen arvo vastaa pF-arvoja 2,0–2,5. Eri maannostyyppien tyypilliset kosteuspitoisuudet esitetään liitteessä 2.

<sup>5</sup> Pintamaissa ja jopa jankossa vallitsevat yleensä aerobiset olosuhteet, kuten käy ilmi EY:n rahoittamasta tutkimushankkeesta [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, Ruotsi]. Anaerobisia olosuhteita esiintyy vain ajoittain maannosten tulvimisen aikaan rankkasateiden jälkeen tai riisipeltojen kosteikkoviljelyssä.

1.9.1.7 *Testin kesto*

Nopeutta ja hajoamisreittejä koskevat tutkimukset eivät tavallisesti saa kestää yli 120 päivää<sup>6</sup> (3)(6)(8), koska sen jälkeen mikrobien toiminnan odotetaan vähenevän keinotekoisessa laboratoriojärjestelmässä, johon ei tule luonnollista ravinnetäydennystä. Testiä voidaan jatkaa pitempään (esimerkiksi 6 tai 12 kuukautta) (8) silloin kun se on tarpeen testiaineen ja pääasiallisten hajoamistuotteiden muodostumisen ja hajoamisen määrittämiseksi. Tätä pidemmät inkubointiajat on perusteltava testiselosteessa, ja niiden yhteydessä on esitettävä biomassan mittaustulokset inkubointijaksojen aikana ja niiden lopussa.

1.9.2 **Testin suoritus**

Noin 50–200 g maanäytettä (kuivapaino) asetetaan kuhunkin inkubaatiopulloon (katso liitteessä 3 olevat kuvat 1 ja 2) ja maanäyte käsitellään testiaineella käyttäen jotakin kohdassa 1.8.2 kuvattua menetelmää. Jos testiaine annostellaan orgaanisten liuotinten avulla, ne on poistettava näytteestä haihduttamalla. Sen jälkeen maanäyte sekoitetaan huolellisesti lastalla ja/tai ravistamalla pulloa. Jos testi tehdään kosteikkoviljelylle maanäytteelle, maannos ja vesi on sekoitettava huolellisesti testiaineen lisäämisen jälkeen. Käsitellyistä näytteistä on analysoitava pieniä määriä (esimerkiksi 1 g), jotta voidaan varmistua sen tasaisesta leviämisestä näytteeseen. Vaihtoehtoinen tapa on kuvattu alla.

Annosteltava määrä siten, että se vastaa kasvinsuojeluaineen käyttöohjeissa suositeltua suurinta annostusta ja tasaista leviämistä käytettyyn syvyyteen (esimerkiksi maannoksen ylin 10 cm:n kerros<sup>7</sup>). Esimerkiksi kemikaaleille, jotka levitetään kasvien lehtiin tai maannoksen päälle ilman, että ne tunkeutuvat kasviin tai maannokseen, sopiva annostelumäärä kuhunkin astiaan lasketaan 2,5 cm:n annostelusyvyden mukaan. Kemikaaleille, jotka tunkeutuvat maannokseen, sopiva annostelusyvyys on aineen käyttöohjeissa ilmoitettu tunkeutumissyvyys. Yleiskemikaaleille annostus on arvioitava tärkeimmän leviämisreittein mukaan. Jos aineen pääasiallinen leviäminen maannokseen tapahtuu esimerkiksi jätevesilietteen kautta, kemikaali on annosteltava lietteeseen konsentraationa, joka vastaa lietteen ennakoitua konsentraatiota. Maannokseen lisättävän lietteen määrän on vastattava maatalousmaihin tavanomaisesti lisättävää lietemäärää. Jos tämä konsentraatio ei ole riittävä pääasiallisten hajoamistuotteiden havaitsemiseksi, erillisten suuremman konsentraation sisältävien näytteiden inkubointi voi olla hyödyllistä. On kuitenkin syytä välttää liian suuria annosmääriä, koska ne haittaavat maaperän mikrobien toimintaa (katso kohdat 1.5 ja 1.8.2).

Vaihtoehtoisesti myös suurempi maanäyte-erä (esimerkiksi 1–2 kg) voidaan käsitellä testiaineella, sekoittaa seos huolellisesti sopivassa sekoituslaitteessa ja sitten siirtää se pienissä 50–200 g annoksissa inkubointipulloihin (esimerkiksi näytekaulan avulla). Käsitellyistä maanäyte-erästä on analysoitava testiaine pieninä määrinä (esimerkiksi 1 g) aineen tasaisen leviämisen varmistamiseksi. Tämä menetelmä on suositeltava, koska sen avulla testiaine saadaan levitettyä maanäytteeseen tasaisesti.

Myös käsittelemättömät maanäytteet inkuboidaan samoissa (aerobisissa) olosuhteissa kuin testiaineella käsitellyt näytteet. Näitä näytteitä käytetään biomassan mittaamiseen testien aikana ja niiden lopuksi.

<sup>6</sup> Aerobiset testit voidaan lopettaa paljon ennen 120:tä päivää, jos lopullinen hajoamisreitti ja lopullinen mineralisaatio on selkeästi tapahtunut siihen mennessä. Testi voidaan lopettaa 120 päivän kuluttua tai silloin kun vähintään 90 % testiaineesta on hajonnut, mutta vasta silloin kun CO<sub>2</sub>:ta on muodostunut vähintään 5 % .

<sup>7</sup> Alkuperäinen konsentraatio pinta-alan perusteella voidaan laskea seuraavasta yhtälöstä:

$$C_{\text{soil}}[\text{mg}/\text{kg}_{\text{soil}}] = \frac{A[\text{kg}/\text{ha}] \cdot 10^6[\text{mg}/\text{kg}]}{[m] \cdot 10^4[\text{m}^2/\text{ha}] \cdot d[\text{kg}_{\text{soil}}/\text{m}^3]}$$

$C_{\text{soil}}$  = Alkuperäinen konsentraatio maanäytteessä [ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]

$A$  = Annostus [ $\text{kg ha}^{-1}$ ];  $l$  = maannoksen paksuus tutkittavassa ympäristössä [ $\text{m}$ ];  $d$  = maannoksen kuivapainotiheys [ $\text{kg m}^{-3}$ ].

Nyrkkisääntö on, että annostuksella  $1 \text{ kg ha}^{-1}$  maannoksen konsentraatioksi tulee noin  $1 \text{ mg kg}^{-1}$  kymmenen sentin kerroksena (olettaen, että bulkkitiheys on  $1 \text{ g cm}^{-3}$ ).

Jos testiaine annostellaan maanäytteeseen orgaanisen liuottimen tai liuottimien avulla, samalla määrällä liuotinta tai liuottimia käsitellyt maanäytteet inkuboidaan samoissa (aerobisissa) olosuhteissa kuin testiaineella käsitellyt näytteet. Näistä näytteistä mitataan biomassa testin aluksi, sen aikana ja sen lopuksi, jotta liuottimen tai liuottimien vaikutus mikrobibiomassaan voidaan tarkistaa.

Pullot, jotka sisältävät käsitellyt maanäytteet, joko kiinnitetään kuvassa 1 esitettyyn läpivirtausjärjestelmään tai suljetaan kuvassa 2 esitettyyn absorptiokolonnilla. (katso liite 3).

### 1.9.3 Näytteenotto ja mittaus

Rinnakkaiset inkubaatiopullot poistetaan sopivin väliajoin, maanäytteet uutetaan sopivilla liuottimilla, joilla on eri polariteetti, ja niistä analysoidaan testiaine ja/tai hajoamistuotteet. Hyvin suunnitellussa testissä on varauduttava siihen, että joka näytteenotokerralla tarvitaan kaksi pulloa. Myös absorptioliuokset tai kiinteät absorptiomateriaalit poistetaan tietyin väliajoin (7 päivän välein ensimmäisen kuukauden aikana ja sen jälkeen 17 päivän välein) kunkin maanäytteen inkuboinnin aikana ja sen lopuksi, ja niistä analysoidaan haihtuvat hajoamistuotteet. Heti testiaineen annostelun jälkeen (päivän 0 näyte) otetun maanäytteen lisäksi testeihin tulisi sisällyttää ainakin viisi eri väliajoin tehtyä testiä. Näytteenottoajat on valittava siten, että testiaineen hajoamisajat sekä hajoamistuotteiden muodostumis- ja hajoamisajat voidaan määrittää (esimerkiksi 0, 1, 3 ja 7 päivää; 2 ja 3 viikkoa; 1, 2 ja 3 kuukautta).

Käytettäessä <sup>14</sup>C-merkkiainetta uuttumattomien radioaktiivisten aineiden määrä määritetään polttamalla, ja kullekin näytteenottoajalle lasketaan massatase.

Anaerobisen ja kosteikkoviljelynäytteen osalta testiaine ja hajoamistuotteet analysoidaan yhdistetystä maa- ja vesifaasista, tai maa- ja vesifaasit erotetaan suodattamalla tai sentrifugoimalla ennen uuttoa ja analyysia.

### 1.9.4 Vapaaehtoiset lisätestit

Aerobisella epästeriilillä testillä, joissa käytetään muita lämpötiloja ja näytteen kosteuspitoisuuksia, voidaan arvioida maaperän lämpötilan ja kosteuspitoisuuden vaikutusta testiaineen ja/tai sen hajoamistuotteiden hajoamisnopeuteen maaperässä.

Uuttumattomia radioaktiivisia aineita voidaan lisäksi yrittää karakterisoida esimerkiksi ylikriittisellä nesteuutolla.

## 2 MITTAUSTULOKSET

### 2.1 TULOSTEN KÄSITTELY

Testiaineen, hajoamistuotteiden, haihtuvien aineiden (vain prosentteina) ja uuttumattomien aineiden määrät on ilmoitettava prosentteina alkuperäisestä konsentraatiosta ja tarvittaessa mg.kg<sup>-1</sup> maanäytettä (kuivapaino) kutakin näytteenotokertaa kohti. Massatase ilmoitetaan prosenttina alkuperäisestä konsentraatiosta kutakin näytteenotokertaa kohti. Esittämällä testiaineen konsentraatiot ajan funktiona voidaan arvioida aineen hajoamisen puolintumisaika tai DT<sub>50</sub>-arvo. Pääasialliset hajoamistuotteet olisi tunnistettava ja niiden konsentraatiot olisi myös esitettävä ajan funktiona, jolloin voidaan määrittää niiden muodostumis- ja hajoamisnopeus. Pääasiallinen hajoamistuote on mikä tahansa tuote, jota esiintyy milloin tahansa testin aikana  $\geq 10\%$  testiaineen annoksesta.

Talteen otetut haihtuvat yhdisteet antavat viitteitä testiaineen ja sen hajoamistuotteiden haihtuvuuspotentiaalista maaperässä.

Tarkemmat puoliintumisaikojen tai  $DT_{50}$ -arvojen sekä tarvittaessa  $DT_{75}$ - ja  $DT_{90}$ -arvojen määritykset on tehtävä asianmukaisen kineettisen mallin mukaisilla laskelmilla. Puoliintumisaajan ja  $DT_{50}$ -arvojen ilmoittamisen yhteydessä on kuvattava käytetty malli, kinetiikan aste ja määrittyskerroin ( $r^2$ ). Ensimmäisen asteen kinetiikan käyttö on yleensä suositeltavaa paitsi silloin, kun  $r^2 < 0.7$ . Tarvittaessa laskelmat on tehtävä myös pääasiallisista hajoamistuotteista. Esimerkkejä sopivista malleista on esitetty lähteissä 31–35.

Testattaessa muodostumis- ja hajoamisnopeuksia eri lämpötiloissa hajoamisnopeudet on kuvattava lämpötilan funktiona testissä käytetyn lämpötila-alueen sisällä käyttäen Arrheniuksen lakia muodossa:

$$k = A \cdot e^{-B/T} \quad \text{tai} \quad \ln k = \ln A - \frac{B}{T},$$

missä  $\ln A$  ja  $B$  ovat Y-akselin leikkauspisteestä ja kulmakertoimesta saatavat regressiovakiot suoralle, joka saadaan  $\ln k$ - ja  $1/T$ -arvon lineaarisen regressioanalyysin tuloksena,  $k$  on nopeusvakio lämpötilassa  $T$  ja  $T$  on lämpötila Kelvin-asteina. Jos aineen hajoamista säätelee mikrobin toiminta, on otettava huomioon lämpötila-alue, jolla Arrheniuksen laki on validi.

## 2.2 TULOSTEN ARVIOINTI JA TULKINTA

Vaikka testit toteutetaan keinotekoisessa laboratoriojärjestelmässä, tulosten perusteella voidaan arvioida testiaineen hajoamisnopeutta sekä hajoamistuotteiden muodostumis- ja hajoamisnopeutta kenttäolosuhteissa (36)(37).

Testiaineen hajoamisreitit tutkimus antaa tietoja siitä, miten aineen rakenne muuttuu maaperässä kemiallisten reaktioiden ja mikrobin toiminnan tuloksena.

## 3 TULOSTEN ILMOITTAMINEN

### TESTISELOSTE

Testiselosteessa on annettava seuraavat tiedot.

Testiaine:

- yleisnimi, kemiallinen nimi, CAS-numero, rakennekaava (josta käy ilmi leiman sijainti käytettäessä radioaktiivista merkkiainetta) ja merkitykselliset fysiko-kemialliset ominaisuudet (katso kohta 1.5)
- testiaineen puhtaus (epäpuhtaudet)
- merkkiaineena käytetyn kemikaalin radiokemiallinen puhtaus ja spesifinen aktiivisuus (tarvittaessa)

Vertailuaineet:

- hajoamistuotteen karakterisointiin ja/tai tunnistukseen käytettävän vertailuaineen kemiallinen nimi ja rakenne

Testimaannokset:

- keruupaikkaa koskevat tiedot
- näytteenottopäivä ja -menetelmä
- maannosten ominaisuudet, kuten pH, orgaanisen hiilen pitoisuus, rakenne (hiekk-, siltti- ja saviprosentti), kationinvaihtokyky, bulkkitiheys, vedenpidätysominaisuudet ja mikrobibiomassa
- jos maannosta on varastoitu, varastointiaika ja varastointiolosuhteet

## Testiolosuhteet:

- testien suorituspäivämäärät
- testiaineen annosteltu määrä
- käytetyt liuottimet ja testiaineen annostelutapa
- käsitellyn maanäytteen alkuperäinen paino ja sen paino kullakin näytteenotokerralla
- kuvaus käytetystä inkubointijärjestelmästä
- ilman virtausnopeus (vain läpivirtausjärjestelmien osalta)
- koejärjestelmän lämpötila
- maanäytteen kosteuspitoisuus inkuboinnin aikana
- mikrobibiomassa aerobisten testien aluksi, niiden aikana ja niiden lopuksi
- pH, happikonsentraatio ja hapetus-pelkistyspotentiali anaerobisten testien ja kosteikkoviljeltyjen näytteiden testien aluksi, niiden aikana ja niiden lopuksi
- erotusmenetelmä(t)
- testiaineen ja pääasiallisten hajoamistuotteiden kvantifiointi- ja tunnistusmenetelmät maanäytteissä ja absorptiomateriaaleissa
- rinnakkaisnäytteiden ja kontrollinäytteiden määrä.

## Tulokset:

- mikrobien aktiivisuuden määrittäytulos
- käytettyjen analyysimenetelmien toistettavuus ja herkkyys
- saanto (validin testin prosenttiarvot on esitetty kohdassa 1.7.1)
- tulokset taulukkomuodossa, ilmoitetaan prosenteina alkuperäisestä annoksesta ja tarvittaessa  $\text{mg.kg}^{-1}$  maanäytettä (kuivapaino)
- massatase testien aikana ja niiden lopuksi
- maannoksen uuttumattoman (sitoutuneen) radioaktiivisuuden tai jäämien karakterisointi
- vapautuneen  $\text{CO}_2$ :n ja muiden helposti haihtuvien yhdisteiden määrittäyt
- testiaineen ja tarvittaessa pääasiallisten hajoamistuotteiden konsentraatiot maanäytteessä esitettynä ajan funktiona
- testiaineen ja tarvittaessa pääasiallisten hajoamistuotteiden puoliintumisaika tai  $\text{DT}_{50}$ -,  $\text{DT}_{75}$ - ja  $\text{DT}_{90}$ -arvot luottamusvälein
- arvio abioottisen hajoamisen nopeudesta steriileissä olosuhteissa; arvio testiaineen ja tarvittaessa pääasiallisten hajoamistuotteiden hajoamiskinetiikasta
- arvio oletetuista hajoamisreiteistä tarvittaessa
- tulosten pohdinta ja tulkinta
- käsittelemättömät tulokset (esimerkiksi näytteestä saadut kromatogrammit, hajoamisnopeutta koskevat laskelmat ja hajoamistuotteiden tunnistusmenetelmät).

4

**LÄHDELUETTELO**

- (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) European Union (EU) (1995). Commission Directive 95/36/EC of 14 July 1995 amending Council Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market. Annex II, Part A and Annex III, Part A: Fate and Behaviour in the Environment.
- (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). Soil Quality – Laboratory incubation systems for measuring the mineralization of organic chemicals in soil under aerobic conditions.
- (8) SETAC (1995). Procedures for Assessing the Environmental Fate and Ecotoxicity of Pesticides. Mark R. Lynch, toim.
- (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, Italia, 18.–20. tammikuuta 1995.
- (11) Guth, J.A. (1980). The study of transformations. Teoksessa Interactions between Herbicides and the Soil (R.J. Hance, toim.), 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 (adopted 12 May 1981)
- (15) ISO 10381-6 (1993). Soil Quality - Sampling - Part 6: Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in the laboratory.
- (16) Annex V to Dir. 67/548/EEC
- (17) Guth, J.A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. Teoksessa Progress in Pesticide Biochemistry. D.H. Hutson, T.R. Roberts, toim. J. Wiley & Sons. Vol 1, 85–114.
- (18) Soil Texture Classification (US and FAO systems): Weed Science, 33, Suppl. 1 (1985) and Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 26:305 (1962).
- (19) Methods of Soil Analysis (1986). Part 1, Physical and Mineralogical Methods. A. Klute, toim.) Agronomy Series No 9, 2. painos.
- (20) Methods of Soil Analysis (1982). Part 2, Chemical and Microbiological Properties. A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keelney, toim. Agronomy Series No 9, 2. painos.
- (21) ISO Standard Compendium Environment (1994). Soil Quality - General aspects; chemical and physical methods of analysis; biological methods of analysis. 1. painos.
- (22) Mückenhausen, E. (1975). Die Bodenkunde und ihre geologischen, geomorphologischen, mineralogischen und petrologischen Grundlagen. DLG-Verlag, Frankfurt, Main.
- (23) Scheffer, F., Schachtschabel, P. (1975). Lehrbuch der Bodenkunde. F. Enke Verlag, Stuttgart.
- (24) Anderson, J.P.E., Domsch, K.H. (1978) A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. Soil Biol. Biochem. 10, 215–221.
- (25) ISO 14240-1 and 2 (1997). Soil Quality - Determination of soil microbial biomass - Part 1: Substrate-induced respiration method. Part 2: fumigation-extraction method.

- (26) Anderson, J.P.E. (1987). Handling and storage of soils for pesticide experiments. Teoksessa *Pesticide Effects on Soil Microflora*, L. Somerville, M.P. Greaves, toim. Taylor & Francis, 45–60.
- (27) Kato, Yasuhiro. (1998). Mechanism of pesticide transformation in the environment: Aerobic and biotransformation of pesticides in aqueous environment. *Proceedings of the 16<sup>th</sup> Symposium on Environmental Science of Pesticide*, 105–120.
- (28) Keuken O., Anderson J.P.E. (1996). Influence of storage on biochemical processes in soil. Teoksessa *Pesticides, Soil Microbiology and Soil Quality*, 59–63 (SETAC-Europe).
- (29) Stenberg B., Johansson M., Pell M., Sjö Dahl-Svensson K., Stenström J., Torstensson L. (1996). Effect of freeze and cold storage of soil on microbial activities and biomass. Teoksessa *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 Diallyl 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. Teoksessa *"Environmental Dynamics of Pesticides"*, R. Haque and V.H. Freed, toim., 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. Teoksessa *Interactions between Herbicides and the Soil* (R.J. Hance, toim.), Academic Press, 83–122.

## LIITE 1

## VEDEN JÄNNITYS, KENTTÄKAPASITEETTI (FC) JA VEDENPIDÄTYSKYKY (WHC)(1)

Vesipatsaan korkeus [cm]	pF <sup>(a)</sup>	bar <sup>(b)</sup>	Huomautuksia
10 <sup>7</sup>	7	10 <sup>4</sup>	kuiva maannos
1,6 · 10 <sup>4</sup>	4,2	16	lakastumisraja
10 <sup>4</sup>	4	10	
10 <sup>3</sup>	3	1	
6 · 10 <sup>2</sup>	2,8	0,6	
3,3 · 10 <sup>2</sup>	2,5	0,33 <sup>(c)</sup>	} kenttäkapasiteetin alue <sup>(d)</sup>
10 <sup>2</sup>	2	0,1	
60	1,8	0,06	} vedenpidätyskyky (arvio) vedellä kyllästetty maannos
33	1,5	0,033	
10	1	0,01	
1	0	0,001	

a) pF = vesipatsaan korkeuden (cm) logaritmi.

b) 1 bar = 10<sup>5</sup> Pa.

c) Vastaa noin 10 %:n vesipitoisuutta hiekassa, 35 %:n hiesussa ja 45 %:n savessa.

d) Kenttäkapasiteetti ei ole vakio, vaan vaihtelee maannostyyppin mukaan pF-arvojen 1,5 ja 2,5 välillä.

*Veden jännitys* mitataan vesipatsaan korkeutena (cm) tai baareina. Imupaineen laajan vaihtelun vuoksi jännitys ilmaistaan yksinkertaisesti pF-arvona, joka vastaa vesipatsaan korkeuden (cm) logaritmia.

*Kenttäkapasiteetti* on veden määrä, joka voi varastoitua ilmakehän paineessa luonnonmaannokseen 2 päivän kuluessa pitkistä sadejaksosta tai riittävästä kastelusta. Tämä arvo määritetään luonnontilaisesta maannoksesta tutkittavassa ympäristössä. Mittausta ei siis voida soveltaa käsiteltyihin maanäyte-eriin laboratorio-olosuhteissa. FC-arvoissa, jotka on määritetty käsiteltyjen maanäytteiden perusteella, voi esiintyä suurta järjestelmällistä vaihtelua.

*Vedenpidätyskyky (WHC)* määritetään laboratoriossa sekä luonnontilaisesta että käsitellystä maannoksesta kyllästäväällä maapatsas vedellä kapillaari-ilmion avulla. Tämä arvo on erityisen käyttökelpoinen käsiteltyjen maannosten yhteydessä ja se voi olla jopa 30 % suurempi kuin kenttäkapasiteetti (1). Se on myös kokeellisesti helpompi määrittää kuin luotettava FC-arvo.

(1) Mückenhausen, E. (1975). Die Bodenkunde und ihre geologischen, geomorphologischen, mineralogischen und petrologischen Grundlagen. DLG-Verlag, Frankfurt, Main.

## LIITE 2

**ERILAISTEN MAANNOSTYYPPIEN  
KOSTEUSPITOISUUDET (g vettä per 100 g kuivaa maannosta) ER VALTIOISSA**

Maannos	Valtio	Maannoksen kosteuspitoisuus arvolla		
		WHC <sup>1</sup>	pF = 1,8	pF = 2,5
Hiekka	Saksa	28,7	8,8	3,9
Hiesupitoinen hiekka	Saksa	50,4	17,9	12,1
Hiesupitoinen hiekka	Sveitsi	44,0	35,3	9,2
Silttipitoinen hiesu	Sveitsi	72,8	56,6	28,4
Savipitoinen hiesu	Brasilia	69,7	38,4	27,3
Savipitoinen hiesu	Japani	74,4	57,8	31,4
Hiekkapitoinen hiesu	Japani	82,4	59,2	36,0
Silttipitoinen hiesu	USA	47,2	33,2	18,8
Hiekkapitoinen hiesu	USA	40,4	25,2	13,3

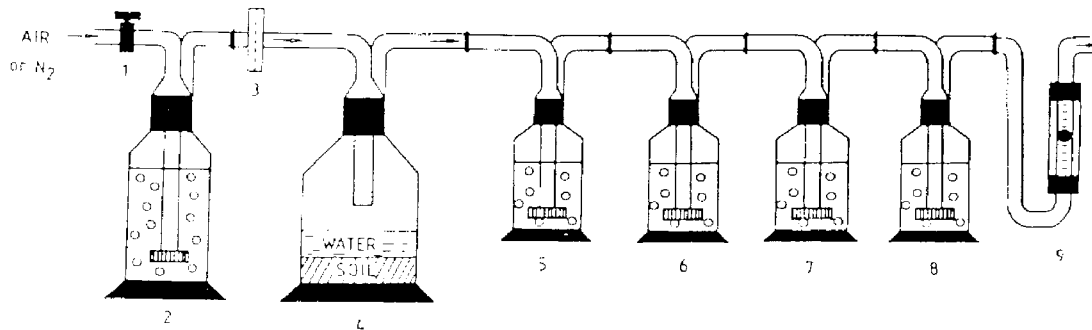
<sup>1</sup> Vedenpidätyskyky

## LIITE 3

## Kuva 1

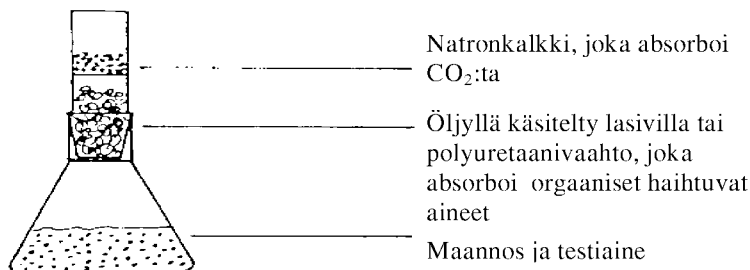
## Esimerkki läpivirtausjärjestelmästä, jolla tutkitaan kemikaalien hajoamista maannoksessa (1)(2)

- |   |   |   |
|---|---|---|
| 1: neulaventtiili   | 4: maannoksen aineenvaihduntapullo (vedellä kyllästetty vain testattaessa anaerobisia ja kosteikkoviljelyolosuhteita) | 7, 8: natriumhydroksidilukko CO <sub>2</sub> :ta ja muita happamia helposti haihtuvia yhdisteitä varten |
| 2: vettä sisältävä kaasunpesupullo                                    | 5: etyleeniglykolilukko orgaanisia helposti haihtuvia yhdisteitä varten   | 9: virtausmittari   |
| 3: ultramembraani (vain steriileissä olosuhteissa), huokoskoko 0,2 µm | 6: rikkihappolukko emäksisiä yhdisteitä varten  |   |



## Kuva 2

## Esimerkki Erlenmeyer-pullostta, jolla tutkitaan kemikaalien hajoamista maannoksessa (3)



- (1) Guth, J.A. (1980). The study of transformations. Teoksessa Interactions between Herbicides and the Soil (R.J. Hance, toim.), Academic Press, 123–157.
- (2) Guth, J.A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. Teoksessa Progress in Pesticide Biochemistry. D.H. Hutson, T.R. Roberts, toim. 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. AEROBINEN JA ANAEROBINEN HAJOAMINEN VESIYMPÄRISTÖN SEDIMENTTIJÄRJESTELMISSÄ

### 1. MENETELMÄ

Tämä menetelmä on toisinto OECD:n testiohjeesta nro 308 (2002).

#### 1.1 JOHDANTO

Kemikaalit voivat päästä mataliin tai syviin pintavesiin esimerkiksi suoraan annosteltuina, lentosumutuksen yhteydessä, valumana sekä viemäröinnin, jätteiden käsittelyn, teollisuuden, kotitalouden tai maanviljelyn päästöinä ja ilmakehän laskeumina. Kuvatus testimenetelmän tarkoitus on arvioida laboratorio-olosuhteissa orgaanisten kemikaalien aerobista ja anaerobista hajoamista vesiympäristön sedimenttijärjestelmissä. Menetelmä perustuu aikaisempiin ohjeisiin (1)(2)(3)(4)(5)(6). Belgiratsessa Italiassa vuonna 1995 pidetyssä maannosten ja sedimenttien valintaa käsitelleessä OECD:n työryhmän kokouksessa sovittiin erityisesti tässä testissä käytettävien sedimenttien lukumäärästä ja tyypeistä (7). Työryhmä esitti myös sedimenttinäytteiden keräämiseen, käsittelyyn ja varastointiin liittyviä suosituksia, jotka perustuvat ISO:n ohjeisiin (8). Testit ovat pakollisia kemikaaleille, jotka tarkoituksella tai todennäköisesti päätyvät vesiympäristöön edellä mainituilla tavoilla.

Luonnollisten vesiympäristön sedimenttijärjestelmien olosuhteet ovat usein aerobiset ylempässä vesifaasissa. Sedimentin pintakerros voi olla joko aerobinen tai anaerobinen, kun taas syvemmällä sijaitseva sedimenttikerros on yleensä anaerobinen. Kaikkien näiden vaihtoehtojen huomioon ottamiseksi tässä asiakirjassa selostetaan sekä aerobisia että anaerobisia testejä. Aerobisessa testissä simuloidaan aerobista vesipatsasta, jonka alla on aerobinen sedimenttikerros ja sen alla anaerobinen gradientti. Anaerobisessa testissä simuloidaan täysin anaerobista vesi-sedimenttijärjestelmää. Jos olosuhteet edellyttävät merkittävää poikkeamista näistä suosituksista, esimerkiksi sedimentistä otettujen käsittelemättömien kairausnäytteiden tai testiaineelle mahdollisesti altistuneiden sedimenttien käyttöä, voidaan käyttää muita testimenetelmiä (9).

#### 1.2 MÄÄRITELMÄT

Kaikissa tapauksissa on käytettävä kansainvälisen SI-standardin mukaisia yksikköjä.

**Testiaine:** mikä tahansa aine, joko alkutuote tai merkitykselliset hajoamistuotteet.

**Hajoamistuotteet:** kaikki aineet, jotka syntyvät testiaineen bioottisista tai abioottisista hajoamisreaktioista, mukaan luettuina CO<sub>2</sub> ja tuotteet, jotka ovat sitoutuneissa jäämissä.

**Sitoutuneet jäämät:** maaperässä, kasveissa tai eläimissä esiintyvät yhdisteet, jotka uuttamisen jälkeen säilyvät matriisissa alkutuotteen tai sen metaboliitin/hajoamistuotteen muodossa. Uuttomenetelmä ei saa olennaisesti muuttaa itse yhdisteitä tai matriisin rakennetta. Sidoksen luonnetta voidaan osittain selvittää matriisia muuttavilla uuttomenetelmillä ja kehittyneillä analyysitekniikoilla. Tähän mennessä on tunnistettu esimerkiksi kovalenttisia ioni- ja sorptiosidoksia sekä eri materiaalien sisään jääneitä aineita (sulkeuma-aineita) tällä menetelmällä. Yleisesti voidaan todeta, että sitoutuneiden jäämien muodostuminen vähentää aineen biologista saatavuutta ja käytettävyyttä merkittävästi (10) [vuodelta 1984 olevaan IUPAC-nimikkeistön tehty muutos (11)].

**Aerobinen hajoaminen (muuntuminen):** reaktiot, jotka tapahtuvat molekyyllisen hapen läsnäollessa (12).

**Anaerobinen hajoaminen:** reaktiot, joihin ei osallistu molekyyllistä happea (12).

**Luonnonvedet:** esimerkiksi lammista, joista ja virroista saadut pintavedet.

**Sedimentti:** sekoitus mineraalisia ja orgaanisia kemiallisia aineksia, joista jälkimmäiset sisältävät paljon hiiltä ja tyypeä sisältäviä suurimolekyyllisiä aineita. Sedimentti kerrostuu luonnonvesiin ja muodostaa rajapinnan veteen.

**Mineralisaatio:** orgaanisen yhdisteen täydellinen hajoaminen CO<sub>2</sub>:ksi ja H<sub>2</sub>O:ksi aerobisissa olosuhteissa sekä CH<sub>4</sub>:ksi, CO<sub>2</sub>:ksi ja H<sub>2</sub>O:ksi anaerobisissa olosuhteissa. Kun käytetään leimana <sup>14</sup>C:ta tässä testimenetelmässä, mineralisaatio tarkoittaa laajaa hajoamista, jonka aikana leimattu hiiliatomi hapettuu tai pelkistyy ja vapauttaa vastaavan määrän <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>:ta tai CH<sub>4</sub>:ää.

**Puoliintumisaika:** t<sub>0,5</sub> on aika, joka kuluu testiaineen 50-prosenttiseen hajoamiseen tapauksissa, joissa hajoaminen voidaan kuvata ensimmäisen asteen kinetiikan avulla. Puoliintumisaika ei riipu konsentraatiosta.

**Häviämisaika 50 (DT<sub>50</sub>):** aika, jonka kuluessa testiaineen konsentraatio vähenee 50 %:lla.

**Häviämisaika 75 (DT<sub>75</sub>):** aika, jonka kuluessa testiaineen konsentraatio vähenee 75 %:lla.

**Häviämisaika 90 (DT<sub>90</sub>):** aika, jonka kuluessa testiaineen konsentraatio vähenee 90 %:lla.

### 1.3 VERTAILUAINEET

Vertailuaineita on käytettävä hajoamistuotteiden karakterisointiin ja/tai tunnistukseen spektroskopia- ja kromatografiamenetelmillä.

### 1.4 TESTIAINETTA KOSKEVAT TIEDOT

Hajoamisnopeuden mittaamiseen voidaan käyttää leimattua tai leimaamatonta testiainetta, vaikka leimatun aineen käyttöä suositellaan. Merkkiaineen käyttö on välttämätöntä tutkittaessa hajoamisreittejä ja määritettäessä massatasetta. <sup>14</sup>C on suositeltava leima, mutta muitakin isotooppeja, kuten <sup>13</sup>C:ta, <sup>15</sup>N:ta, <sup>3</sup>H:ta tai <sup>32</sup>P:ta, voidaan käyttää. Leiman pitäisi mahdollisuuksien mukaan sijaita molekyylin stabiileimmassa osassa tai osissa<sup>1</sup>. Testiaineen kemiallisen ja/tai radiokemiallisen puhtausasteen on oltava vähintään 95 %.

Ennen testin tekemistä testiaineesta on oltava saatavilla seuraavat tiedot:

- (a) vesiliukoisuus (menetelmä A.6)
- (b) liukoisuus orgaanisiin liuottimiin
- (c) höyrynpaine (menetelmä A.4) ja Henryn lain vakio
- (d) n-oktanolivesi-jakaantumiskerroin (menetelmä A.8)
- (e) adsorptiokerroin (K<sub>d</sub>, K<sub>f</sub> tai K<sub>oc</sub>, tapauksen mukaan) (menetelmä C.18)
- (f) hydrolyysi (menetelmä C.7)
- (g) dissosiaatiovakio (pK<sub>a</sub>) [OECD:n ohje 112] (13)
- (h) testiaineen kemiallinen rakenne ja merkkiaineen isotoopin sijainti, jos merkkiainetta käytetään.

*Huomautus:* Raportissa on ilmoitettava lämpötila, jossa mittaukset on tehty.

Muita tarpeellisia tietoja saattavat olla tiedot testiaineen myrkyllisyydestä mikrobeille, tiedot nopeasta ja/tai inherentistä biologisesta hajoavuudesta sekä tiedot testiaineen aerobisesta ja anaerobisesta hajoamisesta maaperässä.

<sup>1</sup> Jos testiaine sisältää esimerkiksi yhden renkaan, tämä rengas täytyy merkitä; jos testiaine sisältää kaksi tai useampia renkaita, saatetaan tarvita erillinen testi kunkin merkityn renkaan reitin arvioimiseksi ja tarvittavan tiedon saamiseksi hajoamistuotteiden muodostumisesta.

Käytettävissä on oltava analyysimenetelmät (myös uutto- ja puhdistusmenetelmät) testiaineen sekä sen hajoamistuotteiden kvantifioimiseksi ja tunnistamiseksi vedestä ja sedimentistä (katso kohta 1.7.2).

#### 1.5 TESTIMENETELMÄN PERIAATE

Tässä kuvatussa menetelmässä käytetään yhtä aerobista ja yhtä anaerobista vesiympäristön sedimenttijärjestelmää (katso liite 1), jolloin voidaan

- (i) mitata testiaineen muuttumisnopeus vesi-sedimenttijärjestelmässä
- (ii) mitata testiaineen muuttumisnopeus sedimentissä
- (iii) mitata testiaineen ja/tai sen hajoamistuotteiden mineralisaationopeus (kun leimana on  $^{14}\text{C}$ )
- (iv) tunnistaa ja määrittää hajoamistuotteet vesi- ja sedimentifaasissa, mukaan luettuna massatase (kun käytetään merkkiainetta)
- (v) mitata testiaineen ja sen hajoamistuotteiden jakautuminen kahteen faasiin pimeässä (esimerkiksi leväkukinnan välttämiseksi) tietyn inkubaatiojakson aikana vakiolämpötilassa. Puoliintumisajat,  $DT_{50}$ ,  $DT_{75}$  ja  $DT_{90}$ -arvot määritetään, jos mittaustulokset sallivat sen, mutta arvoja ei pidä ekstrapoloida pitkälle koejakson yli (katso kohta 1.2).

Sekä aerobiseen että anaerobiseen tutkimukseen tarvitaan vähintään kaksi sedimentinäytettä ja näytteet niihin kuuluvista vesistä (7). Joissakin tapauksissa voi kuitenkin olla tarpeen käyttää useampia kuin kahta vesiympäristön sedimenttiä, esimerkiksi jos kemikaali voi esiintyä makean veden ympäristössä ja/tai merivesiympäristössä.

#### 1.6 TESTIN SOVELLUSALA

Menetelmää voidaan soveltaa kaikkiin kemiallisiin aineisiin (leimaamattomiin tai radioaktiivisella isotoopilla leimattuihin), joiden analysoimiseen on riittävän tarkka ja herkkä menetelmä. Tässä kuvattua menetelmää voidaan soveltaa lievästi haihtuviin, haihtumattomiin, vesiliukoisiin tai veteen liukenemattomiin yhdisteisiin. Menetelmää ei voida soveltaa kemikaaleihin, jotka haihtuvat helposti vedestä (esimerkiksi savuavat aineet tai orgaaniset liuottimet) ja jotka eivät siis säily vedessä ja/tai sedimentissä tässä kuvatuissa testiolosuhteissa.

Tähän mennessä menetelmällä on tutkittu kemikaalien muuntumista makeassa vedessä ja sedimenteissä, mutta periaatteessa menetelmää voidaan soveltaa jokisuisto- ja meriympäristöihin. Menetelmä ei sovellu virtaavien vesien, kuten jokien, tai avomeren olosuhteiden simulointiin.

#### 1.7 LAATUVAATIMUKSET

##### 1.7.1 Saanto

Vähintään kahden maaperänäytteen uutto ja analysointi heti testiaineen lisäämisen jälkeen antaa alustavia tietoja analyysimenetelmän toistettavuudesta ja sen testiaineeseen lisäämisen tasaisuudesta. Saanto testin myöhemmissä vaiheissa määritetään vastaavan massataseen mukaan. Saantojen tulisi olla 90–110 % käytettäessä merkkiainetta (6) ja 70–110 %, kun merkkiainetta ei käytetä.

##### 1.7.2 Analyysimenetelmän toistettavuus ja herkkyys

Analyysimenetelmän toistettavuus (lukuun ottamatta alussa tehtävän uutun tehokkuutta) testiaineen ja hajoamistuotteiden määritysten osalta voidaan tarkistaa kaksoismäärittämällä samasta vesi- tai sedimentinäytteestä tehty uute, jota on inkuboitu niin kauan, että hajoamistuotteita on ehtinyt muodostua.

Testiaineen ja hajoamistuotteiden osalta analyysimenetelmän osoitusrajan (LOD) on oltava vähintään 0,01 mg·kg<sup>-1</sup> vesi- tai sedimenttinäytettä (testiaine) tai 1 % käytetystä annoksesta sen mukaan, kumpi on pienempi. Määritysraja (LOQ) on myös määritettävä.

### 1.7.3 Hajoamistesteissä saatujen tulosten luotettavuus

Tiedot hajoamista kuvaavan käyrän luotettavuudesta saadaan tekemällä regressioanalyysi testiaineen konsentraatioista ajan funktiona, jolloin voidaan laskea puoliintumisaikojen luottamusvälit (näennäisen ensimmäisen asteen kinetiikan osalta) tai DT<sub>50</sub>-arvot sekä tarvittaessa DT<sub>75</sub>- ja DT<sub>90</sub>-arvot.

## 1.8 MENETELMÄN KUVAUS

### 1.8.1 Testijärjestelmä ja -laitteet

Testi on suoritettava lasiastioissa (esimerkiksi pulloissa tai sentrifugiputkissa), paitsi jos esitiedot (kuten n-oktanolivesi-jakaantumiskerroin tai sorptiotiedot) osoittavat, että testiaine saattaa kiinnittyä lasiin; tällöin voidaan harkita jonkin muun materiaalin, esimerkiksi teflonin, käyttöä. Jos testiaineen tiedetään kiinnittyvän lasiin, ongelmaa voidaan helpottaa yhdellä tai usealla seuraavista tavoista:

- Määritetään lasiin kiinnittyneen testiaineen ja hajoamistuotteiden massa.
- Pestään kaikki lasitavarat liuottimella testin päätyttyä.
- Käytetään kaupallisia valmisteita (katso myös kohta 1.9.2).
- Lisätään testiaine järjestelmään lisäliuottimen avulla; tällöin lisäliuottimen on oltava aine, joka ei aiheuta testiaineen hajaantumista.

Esimerkkejä tyypillisistä testilaitteista, eli läpivirtaus- ja Erlenmeyer-tyyppisistä järjestelmistä, on liitteissä 2 ja 3 (14). Muita käyttökelpoisia inkubointijärjestelmiä on esitetty lähteessä 15. Testilaitteiston on oltava rakenteeltaan sellainen, että ilman tai typen vaihto ja helposti haihtuvien tuotteiden talteenotto on mahdollista. Laitteiston mittojen täytyy täyttää testivaatimukset (katso kohta 1.9.1). Ilmanvaihto voidaan järjestää joko varovaisena kuplailmastuksena tai viemällä ilmaa tai typpeä veden pinnalle. Jälkimmäisessä tapauksessa on suositeltavaa sekoittaa vettä varovasti ylhäältäpäin, jotta happi tai typpi leviäisi paremmin veteen. CO<sub>2</sub>:ta sisältämätöntä ilmaa ei pidä käyttää, koska se saattaa nostaa veden pH-arvoa. Molemmissa tapauksissa sedimentin häiritseminen ei ole suotavaa, ja sitä pitää mahdollisuuksien mukaan välttää. Haihtuvat kemikaalit on testattava Erlenmeyer-tyyppisessä järjestelmässä sekoittamalla veden pintaa varovasti. Voidaan myös käyttää suljettuja säiliöitä, joiden ilmatilassa on joko ilmakehä ilmaa tai typpeä ja astiat helposti haihtuvien aineiden talteen ottamiseksi (16). Aerobisissa testeissä vaatimuksena on ilmatilan kaasun säännöllinen vaihtuminen, jolla kompensoidaan biomassan hapenkulutusta.

Sopivia erottimia helposti haihtuvien hajoamistuotteiden keräämiseen ovat muun muassa, mutta eivät ainoastaan, kaliumhydroksidi- tai natriumhydroksidiliuokset (1 mol·dm<sup>-3</sup>) hiilidioksidin<sup>2</sup> keräämiseen sekä etyleeniglykoli, etanoliamiini tai ksyleeniin liuotettu 2-prosenttinen parafiini orgaanisten yhdisteiden keräämiseen. Anaerobisissa olosuhteissa muodostuneet helposti haihtuvat aineet, kuten metaani, voidaan kerätä esimerkiksi molekyyliulalla. Tällaiset helposti haihtuvat aineet voidaan hapettaa esimerkiksi CO<sub>2</sub>:ksi viemällä kaasu CuO:lla täytetyn kvartsiputken läpi 900 °C:n lämpötilassa ja erottamalla muodostunut CO<sub>2</sub> absorboivaan emäksiseen aineeseen (17).

<sup>2</sup> Koska nämä emäksiset absorptioluokset imevät myös tuuletusilman hiilidioksidin sekä aerobisissa testeissä soluhengityksen tuloksena syntyneen hiilidioksidin, ne on vaihdettava säännöllisesti, jotta vältetään niiden kyllästyminen ja siitä seuraava absorptiokyvyn menettäminen.

Testiaineen ja sen hajoamistuotteiden kemiallista analyysia varten tarvitaan laboratoriolaitteita (esimerkiksi GLC eli kaasu-nestekromatograafi, HPLC eli korkean suorituskyvyn nestekromatograafi ja TLC eli ohutlevykromatografialaite, MS eli massaspektrometri tai GC-MS eli kaasukromatograafi-massaspektrometri tai NMR eli ydinmagneettiseen resonanssiin perustuva tutkimuslaite) sekä detektiojärjestelmät radioaktiivisia merkkiaineita sisältäville tai leimaamattomille kemikaaleille. Käytettäessä radioaktiivisia merkkiaineita tarvitaan myös nestetuikelaskin ja poltto- eli hapetinlaite (sedimenttinäytteiden polttamiseen ennen radioaktiivisten aineiden analyysia).

Testissä voidaan tarvita myös muita tavanomaisia laboratoriolaitteita fysikaalis-kemiallisiin tai biologisiin määrittäksiin (katso taulukko 1, kohta 1.8.2.2), lasitavaraa, kemikaaleja ja reagensseja.

## 1.8.2 Vesiympäristön sedimenttien valinta ja määrä

Näytteenottoapaikat on kaikissa tilanteissa valittava testin tarkoituksen mukaan. Näytteenottoapaikkojen valinnassa on otettava huomioon valuma-alueen ja yläjuoksun mahdolliset maanviljely-, teollisuus- tai kotitaloussyötteet. Testissä ei saa käyttää sedimenttejä, jotka ovat altistuneet testiaineelle tai sen kanssa rakenteellisesti analogiselle aineelle viimeisten neljän vuoden aikana.

### 1.8.2.1 *Sedimentin valinta*

Aerobisissa testeissä käytetään tavallisesti kahta sedimenttiä (7). Valittujen kahden sedimentin on poikettava toisistaan orgaanisen hiilen pitoisuuden ja rakenteen osalta. Yhdessä sedimentissä on oltava suuri orgaanisen hiilen pitoisuus (2,5–7,5 %) ja hieno rakenne, toisessa taas pieni orgaanisen hiilen pitoisuus (0,5–2,5 %) ja karkea rakenne. Orgaanisen hiilen pitoisuuksien eron pitäisi yleensä olla vähintään 2 %. ”Hieno rakenne” merkitsee määritelmän mukaan > 50 %:n [savi + siltti]<sup>3</sup>-pitoisuutta, ja ”karkea rakenne” merkitsee < 50 %:n [savi + siltti]-pitoisuutta. Kahden sedimentin [savi + siltti]-pitoisuuden välisen eron pitäisi yleensä olla vähintään 20 %. Jos kemikaali saattaa päästä myös merivesiin, vähintään yhden vesiympäristö-sedimenttijärjestelmän on oltava peräisin merestä.

Pelkässä anaerobisessa testissä näytteet on otettava kahdesta sedimentistä (ja niihin kuuluvista vesistä) pintavesimassan anaerobiselta alueelta (7). Sekä sedimentti- että vesifaasi on käsiteltävä ja kuljetettava huolellisesti hapettomissa olosuhteissa.

Sedimenttien valintaan saattavat vaikuttaa muutkin parametrit, jotka on harkittava kussakin tapauksessa erikseen. Jos esimerkiksi testataan kemikaaleja, joiden muuntuminen ja/tai sorptio saattaa riippua pH-arvosta, sedimenttien pH-arvoalue on merkitsevä parametri. Sorption pH-riippuvuus saattaa heijastua testiaineen pK<sub>a</sub>-arvossa.

### 1.8.2.2 *Vesi-sedimenttinäytteiden karakterisointi*

Seuraavassa taulukossa on esitetty keskeiset parametrit, jotka on mitattava ja raportoitava (käytetyn menetelmän lisäksi) sekä veden että sedimentin osalta, sekä testin vaihe, jonka kuluessa ne on määritettävä. Näiden parametrien määrittäminen esitetään lähteissä 18, 19, 20 ja 21.

Lisäksi voi olla tarpeen mitata ja raportoida muitakin parametreja tapauskohtaisesti (esimerkiksi makean veden järjestelmistä hiukkaset, emäksisyys, kovuus, sähkönjohtokyky, NO<sub>3</sub>/PO<sub>4</sub> (suhde ja erilliset arvot); sedimenteistä kationinvaihtokyky, vedenpidätyskyky, karbonaatti, typen ja fosforin kokonaismäärä; merivesijärjestelmistä suolaisuus). Nitraatin, sulfaatin, biologisesti käyttökelpoisen raudan ja mahdollisesti muiden elektronin vastaanottajien analysoiminen sedimenteistä ja vedestä voi myös olla tarpeen hapetus-pelkistysolosuhteiden arviointia varten, erityisesti anaerobisen muuttumisen osalta.

<sup>3</sup> [Savi + siltti] on sedimentin mineraaliosa, jonka raekoko on <50 µm.

Vesi-sedimentinäytteiden karakterisointiin tarvittavien parametrien mittaaminen (7)(22)(23)

Parametri	Testin vaihe					
	Näytteenotto kentältä	Jälki-käsittely	Akklimati-soitumisen alku	Testin alku	Testin aikana	Testin loppu
<b>Vesi</b>						
Alkuperä/lähde	x					
Lämpötila	x					
pH	x		x	x	x	x
Orgaanisen hiilen kokonais-pitoisuus			x	x		x
O <sub>2</sub> -pitoisuus*	x		x	x	x	x
Hapetus-pelkistyspotentiaali*			x	x	x	x
<b>Sedimentti</b>						
Alkuperä/lähde	x					
Kerroksen paksuus	x					
pH		x	x	x	x	x
Partikkelien kokojakauma		x				
Orgaanisen hiilen kokonais-pitoisuus		x	x	x		x
Mikrobibiomassa**		x		x		x
Hapetus-pelkistyspotentiaali*	Havainnot (väri/haju)		x	x	x	x

\* Viimeaikaiset tutkimukset ovat osoittaneet, että veden happipitoisuuden ja hapetus-pelkistyspotentiaalnin mittaauksilla ei ole sen paremmin mekanistista kuin ennustavaa arvoa, kun kysymys on pintavesien mikrobipopulaatioiden kasvusta ja kehityksestä (24)(25). Parempia välineitä aerobisen biomuutuksen nopeuden ja reittien tulkintaan ja arvioimiseen voivat olla biokemiallinen hapenkulutus (näytteenoton yhteydessä sekä testin alussa ja lopussa mitattuna) sekä hiivenaineiden/makroravinteiden Ca, Mg ja Mn konsentraatiot (testin alussa ja lopussa) vedessä sekä N:n ja P:n kokonaismäärät sedimentissä (näytettä otettaessa sekä testin lopussa).

\*\* Aerobisissa tutkimuksissa mikrobien hengitysnopeusmenetelmä (26), savutusmenetelmä (27) tai pesäkkeiden laskeminen Petri-maljassa (esimerkiksi bakteerit, aktinomykeetit eli sädesienet, sienet ja pesäkkeiden kokonaismäärä); anaerobisissa tutkimuksissa metaanin muodostumisnopeus.

### 1.8.3 Näytteiden kerääminen, käsittely ja varastointi

#### 1.8.3.1 Kerääminen

Sedimentinäytteitä otettaessa on sovellettava ISO:n pohjasedimentinäytteiden ottamista koskevaa alustavaa ohjetta (8). Sedimentinäytteet on otettava sedimentin ylimmästä kerroksesta (5–10 cm ylärajasta) koko kerroksen alueelta. Sedimenttiin kuuluvat vesinäytteet on kerättävä samasta paikasta ja samaan aikaan kuin sedimentinäytekin. Anaerobisia tutkimuksia varten sedimentinäyte ja siihen kuuluva vesinäyte on otettava ja kuljetettava hapettomissa olosuhteissa (28)(katso kohta 1.8.2.1). Joitakin näytteenottovälineitä kuvataan lähteissä (8)(23).

### 1.8.3.2 *Käsittely*

Sedimentti erotetaan vedestä suodattamalla ja märkäseulotaan 2 mm:n seulalla käyttäen ylimäärää tutkimuspaikalta otettua vettä, joka sitten heitetään pois. Tunnetut määrät sedimenttiä ja vettä sekoitetaan halutussa suhteessa (katso kohta 1.9.1) inkubointipulloissa ja valmistellaan akklimatisaatiojaksoa varten (katso kohta 1.8.4). Kun kyseessä on anaerobinen tutkimus, kaikki käsittelyn vaiheet on tehtävä hapettomissa olosuhteissa (29)(30)(31)(32)(33).

### 1.8.3.3 *Varastointi*

Sedimentti- ja vesinäytteet on mieluiten käytettävä juuri kerättyinä, mutta jos näytteiden varastointi on välttämätöntä, sedimentti ja vesi on seulottava edellä kuvatulla tavalla ja varastoitava yhdessä vedellä kyllästettynä (6–10 cm:n vesikerroksessa) pimeässä,  $4 \pm 2$  °C<sup>4</sup>-asteen lämpötilassa enintään neljän viikon ajan (7)(8)(23). Aerobisiin tutkimuksiin tarkoitetut näytteet on varastoitava niin, että ilmaa on vapaasti saatavilla (esimerkiksi avoimissa säiliöissä); anaerobisiin tutkimuksiin tarkoitetut näytteet puolestaan on varastoitava hapettomissa olosuhteissa. Kuljetuksen ja varastoinnin aikana sedimentti- ja vesinäytteet eivät saa jäätyä eikä sedimentti kuivua.

### 1.8.4 **Sedimentti- ja vesinäytteiden valmistelu testiä varten**

Ennen testiaineen lisäämistä näytteen on käytävä läpi akklimatisaatiojakso, jonka aikana kukin sedimentti- ja vesinäyte sijoitetaan varsinaisessa testissä käytettävään inkubaatiosäiliöön, ja akklimatisaation on tapahduttava täsmälleen samoissa olosuhteissa kuin testin inkubaatiojakson (katso kohta 1.9.1). Akklimatisaatiojakso on tarpeen, jotta järjestelmä saavuttaa kohtuullisen stabiilin tilan pH:n, veden happikonsentraation, sedimentin ja veden hapetus-pelkistyspotentiaalın sekä faasien makroskooppisen erottumisen osalta. Akklimatisaatiojakson suositeltu kesto on tavallisesti viikosta kahteen viikkoon, kuitenkin enintään neljä viikkoa. Tänä aikana mitatut määritystulokset on raportoitava.

## 1.9 TESTIN SUORITUS

### 1.9.1 **Testiolosuhteet**

Testi on suoritettava inkubointilaitteistossa (katso kohta 1.8.1), jossa veden ja sedimentin tilavuuden suhde on 3:1–4:1 ja sedimenttikerroksen paksuus on 2,5 cm ( $\pm 0,5$  cm).<sup>2</sup> Vähintään 50 g sedimenttiä (kuivapaino) suositellaan laitettavaksi inkubaatiosäiliöön.

Testi on suoritettava pimeässä vakioidussa lämpötilassa, jonka alue voi olla 10–30 C. Suositeltava lämpötila on  $20 \pm 2$  °C. Tarvittaessa voidaan tapauskohtaisesti käyttää toista, alempaa lämpötilaa (esimerkiksi 10 C), sen mukaan, millaisia tietoja testistä halutaan saada. Inkubointilämpötilaa on tarkkailtava ja se on raportoitava.

<sup>4</sup> Viimeaikaiset tutkimukset ovat osoittaneet, että varastointi 4 °C:n lämpötilassa saattaa vähentää sedimentin orgaanisen hiilen pitoisuutta, mikä puolestaan saattaa vähentää mikrobin toimintaa (34).

### 1.9.2 Testiaineen käsittely ja annostelu

Testissä käytetään yhtä testiaineen konsentraatiota<sup>5</sup>. Kun testiaine on suoraan vesimassaan annosteltava kasvinsuojeluaine, aineen käyttöohjeissa oleva enimmäisannos tulkitaan enimmäisannostelumääräksi, joka lasketaan testisäiliössä olevan veden pinta-alan mukaan. Muissa tapauksissa testikonsentraation on perustuttava ympäristöpäästöjen perusteella tehtyihin ennusteisiin. Testiaineen oikea konsentraatio on valittava huolellisesti, jotta voidaan karakterisoida hajoamistuotteiden muodostuminen ja hajoaminen sekä niiden hajoamisreitit. Suurempienkin (esimerkiksi 10-kertaisten) testiaineannosten käyttö voi olla tarpeen tilanteissa, joissa testiaineen konsentraatiot ovat testin alussa lähellä havaitsemisrajaa ja/tai joissa pääasiallisia hajoamistuotteita ei voida helposti havaita, kun niiden osuus on 10% testiaineen annostelumäärästä. Jos käytetään suurempia testiaineen konsentraatioita, ne eivät saa merkittävästi haitata vesi-sedimenttijärjestelmän mikrobien toimintaa. Jotta testiaineen konsentraatio erikoisissa säiliöissä olisi sama, testiaineen määrää voidaan mukauttaa säiliön vesipatsaan syvyyden mukaan suhteessa veden syvyyteen tutkittavassa ympäristössä (oletusarvo on 100cm, mutta muitakin syvyyksiä voidaan käyttää). Esimerkilaskelma on liitteessä 4.

Ilhannetapauksessa testiaine annostellaan vesiliuoksena testijärjestelmän vesifaasiin. Pakottavista syistä testiaineen annostelussa ja levittämisessä voidaan käyttää pieniä määriä veteen sekoituvia liuottimia (esimerkiksi asetonia ja etanolia), mutta niiden määrä ei saa olla enempää kuin 1% v/v, eivätkä ne saa haitata testijärjestelmän mikrobien toimintaa. Testiaineen vesiliuos on valmistettava huolella; täydellisen homogeenisuuden varmistamiseksi voi olla tarpeen käyttää kehitinkolonneja ja esisekoitusta. Kun vesiliuos on lisätty testijärjestelmään, on suositeltavaa sekoittaa vettä varovasti siten, että sedimenttiä häiritään mahdollisimman vähän.

Kaupallisten valmisteiden käyttö testissä ei ole yleensä suositeltavaa, koska valmisteiden ainesosat voivat vaikuttaa testiaineen ja/tai hajoamistuotteiden jakautumiseen vesi- ja sedimenttifaasin välillä. Se voi kuitenkin tulla kysymykseen esimerkiksi veteen heikosti liukenevien testiaineiden kohdalla.

Inkubointisäiliöiden määrä riippuu näytteenotokertojen määrästä (katso kohta 1.9.3). Testissä on oltava riittävästi mitattavia näytteitä, sillä kullakin näytteenotokerralla kuluu kaksi mittausta. Jos kustakin vesiympäristön sedimenttijärjestelmästä tehdään kontrollinäyte, niitä ei käsitellä testiaineella. Kontrollinäytteitä voidaan käyttää sedimentin mikrobibiomassan sekä veden ja sedimentin orgaanisen hiilen kokonaismäärän määrittämiseen testin lopuksi. Kahta kontrollinäytettä (yksi kontrollinäyte kustakin vesiympäristön sedimentistä) voidaan käyttää akklimatisaatiojakson aikana tarvittavien vesi- ja sedimenttiparametrien tarkkailemiseen (katso taulukko kohdassa 1.8.2.2). Jos testiaine annostellaan liuottimen avulla, tarvitaan lisäksi kaksi kontrollinäytettä, jotta voidaan mitata testijärjestelmän haittavaikutukset mikrobien toimintaan.

### 1.9.3 Testin kesto ja näytteenotto

Testi saa tavallisesti kestää enintään 100 päivää (6), ja sitä on jatkettava niin kauan, kunnes hajoamisreitit sekä jakautuminen veteen ja sedimenttiin on selvitetty tai 90 % testiaineesta on hävinnyt muuntumisen tai haihtumisen kautta. Näytteenotokertoja on oltava ainakin kuusi (mukaan luettuna näytteenotokerta 0), ja ennen testiä voidaan tehdä vapaaehtoinen esitestit (katso kohta 1.9.4), jonka aikana päätetään asianmukaiset näytteenottojärjestelyt sekä testin kesto, mikäli riittäviä tietoja testiaineesta ei ole saatavissa aikaisemmista tutkimuksista. Kun testataan hydrofobisia aineita, testin alkuvaiheessa saatetaan tarvita ylimääräisiä näytteenottoajankohtia, jotta voidaan määrittää testiaineen jakautumisnopeus vesifaasin ja sedimenttifaasin välillä.

<sup>5</sup> Kahden konsentraation käyttäminen voi olla hyödyllistä testattaessa kemikaaleja, jotka päätyvät pintavesiin eri reittejä ja esiintyvät niissä merkittävästi erilaisina konsentraatioina, kunhan pienempi konsentraatio on analysoitavissa riittävän tarkasti.

Asianmukaisina näytteenottoaikoina inkubointisäiliöt (rinnakkaisnäytteineen) irrotetaan kokonaisuudessaan analyysia varten. Sedimentti ja sen päällä oleva vesi analysoidaan erikseen<sup>6</sup>. Pintavesi on poistettava varovasti niin, että sedimenttiä häiritään mahdollisimman vähän. Testiaineen ja hajoamistuotteiden eristämisessä ja karakterisoinnissa on noudatettava asianmukaisia analyysikäytäntöjä. Myös inkubointisäiliöön tai haihtuvien aineiden erottimen putkiin mahdollisesti adsorboitunut materiaali on huolellisesti poistettava.

#### 1.9.4 Vapaaehtoinen esitesti

Jos testin kestoa ja näytteenottokäytäntöä ei voida päättää muiden testiainetta koskevien relevanttien tutkimusten perusteella, vapaaehtoinen esitesti voi olla tarpeen. Esitesti on tehtävä samoissa olosuhteissa, joissa varsinainen testi suunnitellaan tehtävän. Jos esitesti tehdään, olennaiset testiolosuhteet ja määrittystulokset on lyhyesti raportoitava.

#### 1.9.5 Mittaukset ja analyysi

Jokaisella näytteenottokerralla mitataan ja raportoidaan testiaineen ja hajoamistuotteiden konsentraatio vedessä ja sedimentissä (konsentraationa ja prosenttina testiaineen annostellusta määrästä). Yleisesti voidaan todeta, että hajoamistuotteet, jotka havaitaan  $\geq 10$  %:n pitoisuuksina annostellusta radioaktiivisesta aineesta vesi-sedimenttikokonaisjärjestelmässä millä tahansa näytteenottokerralla, on tunnistettava, paitsi mikäli muulle menettelylle on päteviä perusteet. On myös syytä harkita sellaisten hajoamistuotteiden tunnistusta, joiden konsentraatiot kasvavat jatkuvasti testin aikana, vaikka niiden konsentraatiot eivät ylittäisikään edellä esitettyjä rajoja, koska tämä voi merkitä tuotteiden pysyvyyttä. Nämä seikat on harkittava tapauskohtaisesti ja perustelut on esitettävä testiselosteessa.

Määrittystulokset kaasujen tai helposti haihtuvien aineiden (CO<sub>2</sub>:n ja vastaavien helposti haihtuvien orgaanisten yhdisteiden) erotinjärjestelmistä on raportoitava kullakin näytteenottokerralla. Mineralisaationopeus on myös raportoitava. Uuttumattomat (sitoutuneet) jäämät sedimentissä on raportoitava kullakin näytteenottokerralla.

## 2 MITTAUSTULOKSET

### 2.1 TULOSTEN KÄSITTELY

Lisätyn radioaktiivisen aineen kokonaismassatase tai saanto (katso kohta 1.7.1) on laskettava jokaisella näytteenottokerralla. Määrittystulokset on raportoitava prosenttina lisätystä radioaktiivisesta aineesta. Radioaktiivisen aineen jakautuminen veden ja sedimentin välille on raportoitava konsentraationa ja prosenttiosuutena jokaisella näytteenottokerralla.

Testiaineen puoliintumisaika, DT<sub>50</sub>- ja tarvittaessa DT<sub>75</sub>- ja DT<sub>90</sub>-arvot on laskettava luottamusväleineen (katso kohta 1.7.3). Tiedot testiaineen häviämisenopeudesta vedessä ja sedimentissä saadaan asianmukaisin arviointimenetelmin. Tällaisia voivat olla näennäisen ensimmäisen asteen kinetiikan käyttö, graafisia tai numeerisia ratkaisuja käyttävät empiiriset käyrän sovitukset sekä monimutkaisemmat arviointimenetelmät, joissa käytetään esimerkiksi yhden tai usean lohkon malleja. Lisätietoja on esitetty lähteissä (35)(36)(37).

<sup>6</sup> Tapauksissa, joissa anaerobiset hajoamistuotteet voivat hapettua uudelleen nopeasti, on huolehdittava anaerobisten olosuhteiden säilymisestä näytteenoton ja analyysin aikana.

Kaikissa lähestymistavoissa on omat vahvuutensa ja heikkoutensa, ja niiden monimutkaisuus vaihtelee suuresti. Ensimmäisen asteen kinetiikka voi yksinkertaistaa hajoamis- ja jakautumisprosesseja liikaa, mutta tapauksissa, joissa sitä voidaan käyttää, sen avulla saadaan suure (nopeusvakio tai puoliintumisaika), joka on helppotajuinen ja käyttökelpoinen simulaatiomallinnuksessa ja ennustettujen ympäristökonsentraatioiden laskennassa. Empiirisillä lähestymistavoilla tai lineaarisilla muunnoksilla voidaan tuottaa paremmin aineistoon sopivia käyriä ja siten tarkempia arvioita puoliintumisaajoista,  $DT_{50}$ - ja tarvittaessa  $DT_{75}$ - ja  $DT_{90}$ -arvoista. Derivoituja vakioiden käyttökelpoisuus on kuitenkin rajoitettua. Lohkomalleilla voidaan luoda riskien arviointia varten useita käyttökelpoisia vakioita, jotka kuvaavat hajoamisnopeutta eri lohkoissa sekä kemikaalin jakutumista. Lohkomalleja on käytettävä myös pääasiallisten hajoamistuotteiden muodostumis- ja hajoamisnopeusvakioiden arviointiin. Valitun menetelmän on kaikissa tapauksissa oltava perusteltu, ja testaajan on esitettävä sovituksen hyvyys graafisesti ja/tai tilastollisesti.

### 3 TULOSTEN ILMOITTAMINEN

#### 3.1 TESTISELOSTE

Testiselosteessa on annettava seuraavat tiedot:

Testiaine:

- yleisnimi, kemiallinen nimi, CAS-numero, rakennekaava (josta käy ilmi leiman tai leimojen sijainti käytettäessä radioaktiivista merkkiainetta) ja merkitykselliset fysiko-kemialliset ominaisuudet
- testiaineen puhtaus (epäpuhtaudet)
- merkkiaineena käytetyn kemikaalin radiokemiallinen puhtaus ja molaarinen aktiivisuus tapauksen mukaan.

Vertailuaineet:

- hajoamistuotteen karakterisointiin ja/tai tunnistukseen käytettävän vertailuaineen kemiallinen nimi ja rakenne.

Testissä käytettävät sedimentti- ja vesinäytteet:

- vesiympäristöstä otetun sedimentin keräyspaikan tai -paikkojen sijainti ja kuvaus, mukaan luettuna taustatiedot saastumisesta, jos ne ovat saatavissa
- täydelliset tiedot vesi-sedimenttijärjestelmän keräämisestä, varastoinnista (jos näytettä on varastoitu) sekä akklimatisaatiosta
- vesi-sedimentinäytteiden ominaisuudet kohdan 1.8.2.2 taulukon mukaan.

Testiolosuhteet:

- testissä käytetty järjestelmä (esimerkiksi läpivirtaus- tai Erlenmeyer-järjestelmä, ilmastus- ja sekoitustapa, veden tilavuus, sedimentin massa, sekä vesi- että sedimenttikerroksen paksuus ja testisäiliöiden mitat)
- testiaineen annostelu testijärjestelmään: testissä käytetyt konsentraatiot, rinnakkais- ja kontrollinäytteiden määrä, testiaineen annostelutapa (esimerkiksi liuottimen käyttö)
- inkubointilämpötila
- näytteenottoajat
- eristysmenetelmät ja -tehokkuudet sekä analyysimenetelmät ja osoitusrajat
- hajoamistuotteiden karakterisointi- ja tunnistusmenetelmät
- testin aikana tapahtuneet poikkeamat testiohjeista tai suositelluista olosuhteista.

## Tulokset:

- edustavien analyysien mittaustulokset (kaikki mittaustulokset on tallennettava laboratorion arkistoon)
- käytettyjen analyysimenetelmien toistettavuus ja herkkyys
- saanto (validin testin prosenttiarvot on esitetty kohdassa 1.7.1)
- tulokset taulukkomuodossa, ilmoitetaan testiaineen ja tarvittaessa pääasiallisten hajoamistuotteiden sekä uuttumattomien radioaktiivisten aineiden prosenttiosuutena alkuperäisestä annoksesta ja tarvittaessa  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  vedessä, sedimentissä ja kokonaisjärjestelmässä (vain prosentteina)
- massatase testien aikana ja niiden lopuksi
- graafinen esitys testiaineen muuntumisesta vesi- ja sedimenttiosajärjestelmissä sekä kokonaisjärjestelmässä (mineralisaatio mukaan luettuna)
- mineralisaationopeudet
- testiaineen ja tarvittaessa pääasiallisten hajoamistuotteiden puoliintumisaika sekä tarvittaessa  $DT_{50}$ -,  $DT_{75}$ - ja  $DT_{90}$ -arvot vedessä, sedimentissä ja kokonaisjärjestelmässä
- arvio testiaineen ja tarvittaessa pääasiallisten hajoamistuotteiden hajoamiskinetiikasta
- arvio oletetuista hajoamisreiteistä tapauksen mukaan
- tulosten pohdinta.

## 4

## LÄHDELUETTELO

- (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 <sup>14</sup>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 (17<sup>th</sup> 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. Chemosphere 27, 1499-1509.
- (32) Nuck, B.A. and Federle, T.W. (1986). A batch test for assessing the mineralisation of <sup>14</sup>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.

## LIITE I

## AEROBISIIN JA ANAEROBISIIN TESTIJÄRJESTELMIIN LIITTYVIÄ OHJEITA

**Aerobinen testijärjestelmä**

Tässä menetelmässä kuvattu aerobinen testijärjestelmä koostuu aerobisesta vesikerroksesta (tyypillinen happikonsentraatio on 7–10 mg l<sup>-1</sup>) ja sedimenttikerroksesta, joka on aerobinen pinnalta ja anaerobinen sen alta (tyypillinen hapetus-pelkistyspotentiaalien (E<sub>h</sub>) keskiarvo sedimentin anaerobisella alueella on -80–190 mV). Kussakin inkubointiyksikössä viedään kosteutettua ilmaa veden pinnalle riittävän happimäärän varmistamiseksi ilmatilassa.

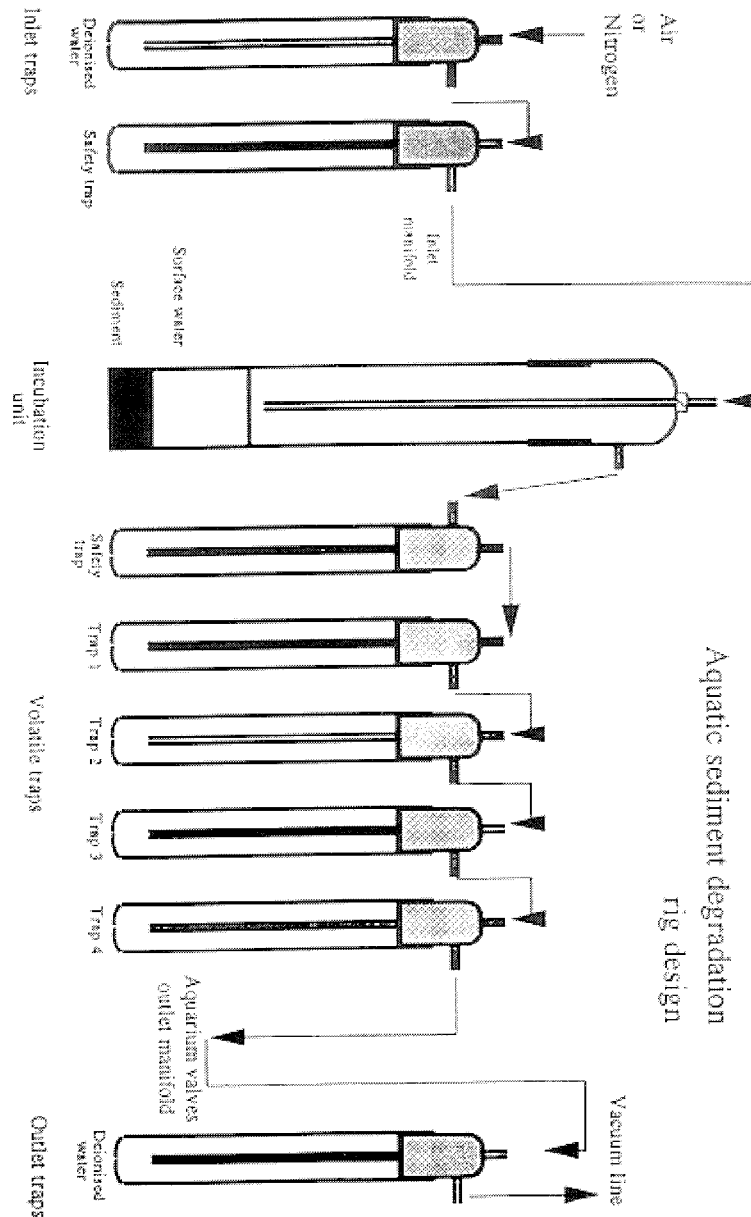
**Anaerobinen testijärjestelmä**

Anaerobisessa testijärjestelmässä testimenettely on olennaisilta osin sama kuin aerobisessa järjestelmässä sillä poikkeuksella, että kussakin inkubointiyksikössä veden pinnalle viedään kosteutettua typpeä riittävän typpimäärän varmistamiseksi ilmatilassa. Sedimenttiä ja vettä voidaan pitää anaerobisina heti, kun hapetus-pelkistyspotentiaali (E<sub>h</sub>) on alle -100 mV.

Anaerobisessa testissä mineralisaation arviointiin kuuluu myös näytteessä kehittyneen hiilidioksidin ja metaanin mittaaminen.

## LIITE 2

## ESIMERKKI LÄPIVIRTAUSJÄRJESTelmäSTÄ



Varmistava talteenottojärjestelmä, tyhjä

Erotin 1: etyleeniglykoliin otetaan orgaaniset haihtuvat aineet

Erotin 2: rikkihappoon (0,1 M) otetaan emäksiset haihtuvat aineet

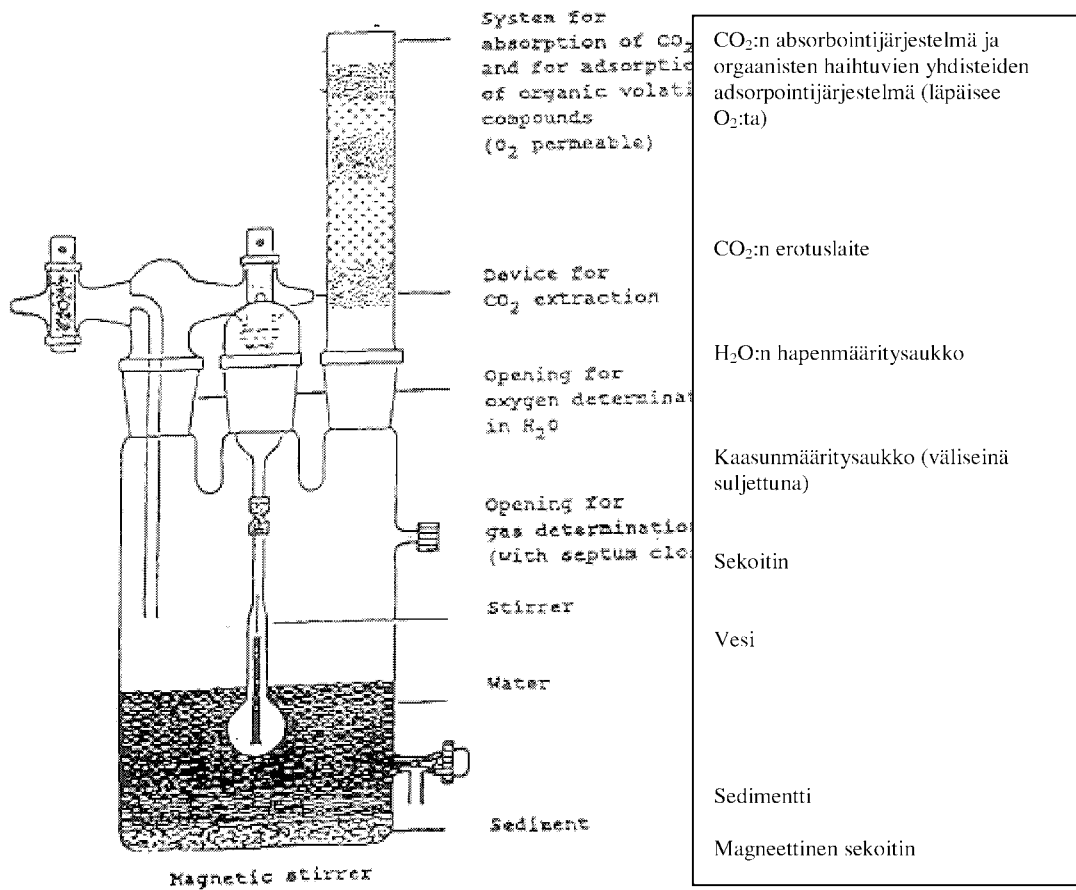
Erottimet 3 & 4: natriumhydroksidiin (2M) otetaan CO<sub>2</sub> ja muut happamat haihtuvat aineet

### Vesiympäristön sedimentissä tapahtuva hajoaminen – laitteiston kokoonpano

Ilma tai typpi	Näytteensyöttölaite		
Imuputki	Ionipuhdistettu vesi		
Sisääntulossa sijaitsevat talteenotto-järjestelmät			
Varmistava talteenotto-järjestelmä (erotin)			
Pintavesi	Sedimentti		
Inkubointi-yksikkö	Varmistava talteenotto-järjestelmä		
Erotin 1	Erotin 2	Erotin 3	Erotin 4
Haihtuvien aineiden talteenotto-järjestelmät			
Akvaarion venttiilien ulostulo	Ionipuhdistettu vesi		
Ulostulossa sijaitsevat talteenotto-järj			

## LIITE 3

## ESIMERKKI ERLLENMEYER-LAITTEESTA (BIOMETER)



## LIITE 4

## ESIMERKKILASKELMA TESTIAINEEN ANNOTELUSTA TESTISÄILIÖIHIN

Lieriön sisähalkaisija:	= 8 cm
Vesipatsaan syvyys sedimentti poisluettuna:	= 12 cm
Pinta-ala: $3,142 \times 4^2$	= $50,3 \text{ cm}^2$
Annostus: 500 g testiainetta/ha vastaa $5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$	
Yhteensä $\mu\text{g}$ : $5 \times 50,3$	= $251,5 \mu\text{g}$
Mukautettu määrä suhteessa 100 cm:n syvyyteen: $12 \times 251,5 \div 100$	= $30,18 \mu\text{g}$
Vesipatsaan tilavuus: $50,3 \times 12$	= $603 \text{ ml}$
Konsentraatio vedessä: $30,18 \div 603$	= $0,050 \mu\text{g}/\text{ml}$ tai $50 \mu\text{g}/\text{l}$