32004L0073

L 152/1 *JURNALUL OFICIAL AL UNIUNII EUROPENE* 30.4.2004

DIRECTIVA 2004/73/CE A COMISIEI
din 29 aprilie 2004
de efectuare a celei de-a douăzeci și noua adaptări la progresul tehnic a Directivei 67/548/CEE a Consiliului privind apropierea actelor cu putere de lege și a actelor administrative referitoare la clasificarea, ambalarea și etichetarea substanțelor periculoase

(Text cu relevanță pentru SEE)

COMISIA COMUNITĂȚILOR EUROPENE,

având în vedere Tratatul de instituire a Comunității Europene,

având în vedere Directiva 67/548/CEE a Consiliului din 27 iunie 1967 privind apropierea actelor cu putere de lege și actelor administrative referitoare la clasificarea, ambalarea și etichetarea substanțelor periculoase [1] și, în special, articolul 28 al acesteia,

întrucât:

(1) Anexa I la Directiva 67/548/CEE a Consiliului conține o listă cu substanțele periculoase însoțită de detalii privind clasificarea și etichetarea fiecărei substanțe. Această listă trebuie actualizată, pentru a include substanțele noi notificate ulterior și alte substanțe existente, precum și pentru a adapta intrările existente la progresul tehnic, cum ar fi stabilirea Limitelor de concentrație ale anumitor substanțe în mediu. Este, de asemenea, necesar să se elimine intrările pentru anumite substanțe și să se dividă unele intrări, deoarece clasificarea respectivă nu se mai aplică pentru toate substanțele cuprinse la intrările respective. Etichetarea substanțelor conținând 1,3-butadienă trebuie modificată pentru a reflecta faptul că respectiva substanță este clasificată ca mutagenă în prezenta directivă.

(2) Anexa V la Directiva 67/548/CEE prevede metodele de determinare a proprietăților fizico-chimice, a toxicității și ecotoxicității substanțelor și preparatelor. Este oportună modificarea acestei anexe în scopul reducerii la minimum a numărului de animale utilizate în scopuri experimentale, în conformitate cu Directiva 86/609/CEE a Consiliului din 24 noiembrie 1986 privind armonizarea actelor cu putere de lege și a actelor administrative ale statelor membre referitoare la protecția animalelor utilizate în scopuri experimentale și în alte scopuri științifice [2]. Trebuie revizuite în consecință metodele pentru toxicitatea orală subcronică din capitolele B.1, B.4, B.5, B.31 și B.35. De asemenea, la anexa V trebuie adăugat capitolul B.42, care prezintă o metodă perfecționată de determinare a toxicității orale subcronică. În cele din urmă, este necesar să se adauge capitolul A.21 privind proprietățile fizico-chimice, capitolul B.43 privind toxicitatea orală subcronică și capitolele C.21-C.24 privind toxicitatea ambiantă pentru a permite determinarea proprietăților insuficient cuprinse în metodele menționate în anexa V.

(3) Măsurile prevăzute de prezenta directivă sunt conforme cu avizul Comitetului pentru adaptarea la progresul tehnic a directivelor privind eliminarea barierelor tehnice din calea comerțului cu substanțe și preparate periculoase,

ADOPTĂ PREZENTA DIRECTIVĂ:

Articolul 1

Directiva 67/548/CEE se modifică după cum urmează:

(1) Anexa I se modifică după cum urmează:

(a) nota K din cuvântul introductiv se înlocuiește cu textul din anexa 1A;

(b) intrările corespunzătoare intrărilor din anexa 1B la prezenta directivă se înlocuiesc cu textul din respectiva anexă;

(c) intrările din anexa 1C la prezenta directivă se inserează în conformitate cu ordinea intrărilor din anexa I la Directiva 67/548/CEE;

(d) intrările cu nr. de index 604-050-00-X, 607-050-00-8, 607-171-00-6 și 613-130-00-3 se elimină;

[1] JO 196, 16.8.1967, p. 1 Directivă astfel cum a fost modificată ultima dată prin Directiva 2001/59/CE a Comisiei (JO L 225, 6.8.2001, p. 1).

[2] JO L 358, 18.12.1986, p. 1. Directivă astfel cum a fost modificată ultima dată prin Directiva 2003/65/CE a Parlamentului European și a Consiliului (JO L 230, 16.9.2003, p. 32).

(e) intrarea cu nr. de index 048-002-00-0 se înlocuiește cu intrările cu nr. de index 048-002-00-0 și 048-011-00-X menționate la anexa 1D la prezenta directivă;

(f) intrarea cu nr. de index 609-006-00-3 se înlocuiește cu intrările cu nr. de index 609-006-00-3 și 609-065-00-5 menționate la anexa 1D la prezenta directivă;

(g) intrarea cu nr. de index 612-039-00-6 se înlocuiește cu intrările cu nr. de index 612-039-00-6 și 612-207-00-9 menționate la anexa 1D.

(2) Anexa V se modifică după cum urmează:

(a) se adaugă capitolul A.21, cu textul menționat în anexa 2A la prezenta directivă;

(b) capitolul B.la se înlocuiește cu textul cuprins în anexa 2B la prezenta directivă;

(c) capitolul B.1b se înlocuiește cu textul cuprins în anexa 2C la prezenta directivă;

(d) capitolul B.4 se înlocuiește cu textul cuprins în anexa 2D la prezenta directivă;

(e) capitolul B.5 se înlocuiește cu textul cuprins în anexa 2E la prezenta directivă;

(f) capitolul B.31 se înlocuiește cu textul cuprins în anexa 2F la prezenta directivă;

(g) capitolul B.35 se înlocuiește cu textul cuprins în anexa 2G la prezenta directivă;

(h) se adaugă capitolele B.42 și B.43, cu textul cuprins în anexa 2H la prezenta directivă;

(i) se adaugă capitolele C.21-C.24, cu textul din anexa 2I la prezenta directivă.

Articolul 2

(1) Statele membre adoptă și pun în aplicare actele cu putere de lege și actele administrative necesare pentru a se conforma prezentei directive până la 31 octombrie 2005. Comisiei îi sunt comunicate de îndată textele dispozițiilor respective, precum și un tabel de corespondență între dispozițiile respective și cele din prezenta directivă. Atunci când statele membre adoptă aceste acte, ele cuprind o trimitere la prezenta directivă sau sunt însoțite de o asemenea trimitere la data publicării lor oficiale. Statele membre stabilesc modalitatea de efectuare a acestei trimiteri.

(2) Comisiei îi sunt comunicate de statele membre textele principalelor dispoziții de drept intern adoptate în domeniul reglementat de prezenta directivă.

Articolul 3

Prezenta directivă intră în vigoare în a douăzecea zi de la data publicării în *Jurnalul Oficial al Uniunii Europene*.

Articolul 4

Prezenta directivă se adresează statelor membre.

Adoptată la Bruxelles, 29 aprilie 2004.

Pentru Comisie

Margot WALLSTRÖM

Membru al Comisiei

ANEXA 1A

„*Nota K:*

Clasificarea ca substanță cancerigenă sau mutagenă nu se aplică dacă se poate stabili că substanța respectivă conține mai puțin de 0,1 % din greutate 1,3-butadienă (nr. EINECS 203-450-8). Dacă substanța nu este clasificată drept cancerigenă sau mutagenă, trebuie aplicate cel puțin frazele S (2-)9-16. Prezenta notă se aplică anumitor substanțe complexe derivate din petrol, menționate în anexa I.”

ANEXA 1B

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
„006-005-00-4	tiram disulfură de tetrametiltiuran		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	cianură de hidrogen … % acid cianhidric … %	B	200-821-6	74-90-8	T+; R26/27/28 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-50/53 S: (1/2-)7/9-16-36/37-38-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-51-53 2,5 % ≤ C < 7 %: T, N; R23/24/25-51-53 1 % ≤ C < 2,5 %: T, N; R23/24/25-52-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22-52-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22	
006-012-00-2	ziram (ISO) bis(N,N-dimetilditiocarbamat) de zinc		205-288-3	137-30-4	T+; R26 Xn; R22-48/22 Xi; R37-41 R43 N; R50-53	T+; N R: 22-26-37-41-43-48/22-50/53 S: (1/2-)22-26-28-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R22-26-37-41-43-48/22-50-53 20 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26-37-41-43-48/22-50-53 10 % ≤ C < 20 %: T+, N; R26-41-43-48/22-50-53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R26-36-43-50-53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R23-36-43-50-53 1 % ≤ C < 5 %: T, N; R23-43-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R20-51-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
006-021-00-1	linuron (ISO) 3-(3,4-diclorfenil)-1-metil-1-metoxiuree	E	206-356-5	330-55-2	Repr. Cat. 2; R61 Repr. Cat. 3; R62 Carc. Cat. 3; R40	T; N R: 61-22-40-48/22-62-50/53 S: 53-45-60-61		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
					Xn; R22-48/22 N; R50-53			
006-044-00-7	izoproturon 3-(4-izopropilfenil)-1,1-dimetiluree		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	*N*,*N*-dipropiltiocarbamat de S-benzil		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	dioxid de clor		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	dioxid de clor … %	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	amoniac anhidru		231-635-3	7664-41-7	R10 T; R23 C; R34 N; R50	T; N R: 10-23-34-50 S: (1/2-)9-16-26-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R23-34-50 5 % ≤ C < 25 %: T; R23-34 0,5 % ≤ C < 5 %: Xn; R20-36/37/38	
007-008-00-3	hidrazină	E	206-114-9	302-01-2	R10 Carc. Cat. 2; R45 T; R23/24/25 C; R34 R43 N; R50-53	T; N R: 45-10-23/24/25-34-43-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R45-23/24/25-34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T, N; R45-20/21/22-34-43-51/53 3 % ≤ C < 10 %: T, N; R45-20/21/22-36/38-43-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R45-43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: T; R45-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
007-010-00-4	azotit de sodiu		231-555-9	7632-00-0	O; R8 T; R25 N; R50	O; T; N R: 8-25-50 S: (1/2-)45-61	C ≥ 25 %: T, N; R25-50 5 % ≤ C < 25 %: T; R25 1 % ≤ C < 5 %: Xn; R22	
007-011-00-X	azotit de potasiu		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-dimetil-hidrazină	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	azotit de izobutil	E	208-819-7	542-56-3	F; R11 Xn; R20/22 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68	F; T R: 11-20/22-45-68 S: 53-45		
007-027-00-7	1,6-bis(3,3-bis((1-metilpentilidenimino)propil) ureido)hexan		420-190-2	–	Xn; R21/22-48/21 C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 21/22-34-43-48/21-50/53 S: (1/2-)7-26-36/37/39-45-60-61		
008-003-00-9	peroxid de hidrogen soluție … % apă oxigenată … %	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 Nota de subsol: C ≥ 70 %: R5, O;R8 50 % ≤ C < 70 %: O; R8	
009-015-00-7	difluorură de sulfuril		220-281-5	2699-79-8	T; R23 Xn; R48/20 N; R50	T; N R: 23-48/20-50 S: (1/2-)45-63-60-61		
015-002-00-7	fosfor roșu		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	tributil fosfat		204-800-2	126-73-8	Carc.Cat.3; R40 Xn; R22 Xi; R38	Xn R: 22-38-40 S: (2-)36/37-46		
015-015-00-8	tricresil fosfat	C	201-103-5	78-30-8	T; R39/23/24/25	T; N	C ≥ 25 %: T, N; R39/23/24/25-	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	fosfat de tritolil o-o-o, o-o-m, o-o-p, o-m-m, o-p-m, o-p-p				N; R51-53	R: 39/23/24/25-51/53 S: (1/2-)20/21-28-45-61	51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T; R39/23/24/25-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R39/23/24/25 0,2 % ≤ C < 1 %: Xn; R68/20/21/22	
015-016-00-3	tricresil fosfat fosfat de tritolil m-m-m, m-m-p, m-p-p, p-p-p	C	201-105-6	78-32-0	Xn; R21/22 N; R51-53	Xn; N R: 21/22-51/53 S: (2-)28-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R21/22-51/53 5 % ≤ C < 25 %: Xn; R21/22-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: R52/53	
015-020-00-5	mevinfos (ISO) 1-metil- 2-metoxicarbonilvinil, dimetil fosfat		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	triclorfon (ISO) 2,2,2-triclor-1-hidroxietilfosfonat de dimetil		200-149-3	52-68-6	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)24-37-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-43-50-53 1 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R43-50-53 0,025 % ≤ C < 1 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-027-00-3	sulfotep (ISO) *O,O,O,O*-tetraetil ditiopirofosfat		222-995-2	3689-24-5	T+; R27/28 N; R50-53	T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)23-28-36/37-45-60-61	C ≥ 7 %: T+, N; R27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %: T, N; R24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-032-00-0	protoat (ISO)		218-893-2	2275-18-5	T+; R27/28	T+		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
	O,O-dietil, izopropilcarbamoil metil ditiofosfat				R52-53	R: 27/28-52/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61		
015-033-00-6	forat (ISO) O,O-dietil, etiltiometil ditiofosfat		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	paration (ISO) O,O-dietil, O-4-nitrofenil tiofosfat		200-271-7	56-38-2	T R26/28 T; 24-48/25 N; R50-53	T+; N R: 24-26/28-48/25-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R24-26/28-48/25-50-53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21-26/28-48/25-50-53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R21-26/28-48/22-50-53 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R21-23/25-48/22-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R23/25-48/22-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20/22-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R20/22-51-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-035-00-7	metil paration (ISO) O,O-dimetil, O-4-nitrofenil tiofosfat		206-050-1	298-00-0	R5 R10 T+; R26/28 T; R24 Xn; R48/22 N; R50-53	T+; N R: 5-10-24-26/28-48/22-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R24-26/28-48/22-50-53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21-26/28-48/22-50-53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R21-26/28-50-53 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R21-23/25-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R23/25-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20/22-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R20/22-51-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51-	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
							53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-041-00-X	malation (ISO) 1,2-bis(etoxicarbonil)etil, *O,O*-dimetil ditiofosfat		204-497-7	121-75-5	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)24-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,25 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-042-00-5	clortion (nume comun neadoptat de ISO) *O*-(3-clor-4-nitrofenil) *O,O*-dimetil tiofosfat		207-902-5	500-28-7	Xn; R20/21/22 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)13-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/21/22-50-53 0,25 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-047-00-2	etion (ISO) *O,O,O′,O′*- tetraetil, *S,S′*-metilendi (ditiofosfat) dietion		209-242-3	563-12-2	T; R25 Xn; R21 N; R50-53	T; N R: 21-25-50/53 S: (1/2-)25-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R21-25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,0025 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: N; R51-53 0,000025 % ≤ C < 0,00025 %: R52-53	
015-052-00-X	fenclorfos (ISO) *O,O*-dimetil, *O*-2,4,5-triclorfenil tiofosfat		206-082-6	299-84-3	Xn; R21/22 N; R50-53	Xn; N R: 21/22-50/53 S: (2-)25-36/37-60-61		
015-055-00-6	naled (ISO) fosfat de 1,2-dibrom-2,2-dicloroetil și de *O,O*-dimetil		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	dioxation (ISO) 1,4-dioxan-2,3-diil, *O,O,O′,O′*-tetraetil di(ditiofosfat)		201-107-7	78-34-2	T+; R26/28 T; R24 N; R50-53	T+; N R: 24-26/28-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R24-26/28-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21-26/28-50-53 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R21-23/25-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R23/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R50-	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
							53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-065-00-0	*S*-[2-(etilsulfinil)etil], O,O-dimetil ditiofosfat		–	2703-37-9	T R26/27/28 N; R51-53	T+; N R: 26/27/28-51/53 S: (1/2-)13-28-45-61		
015-076-00-0	*O*,*O*-dietil, *O*-(4-metil-7-cumarinil) tiofosfat		–	299-45-6	T+; R26/27/28 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-50/53 S: (1/2-)13-28-45-60-61	C 7 %: T+, N; R26/27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %: T, N; R23/24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20/21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-078-00-1	demeton-S-metilsulfon metilsulfon; S-2-etilsulfoniletil, dimetil tiofosfat		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	bensulidă (ISO) 2-fenilsulfonilaminoetil, *O*,*O*-diizopropil ditiofosfat		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	cloropirifos (ISO) *O*,*O*-dietil, *O*-3,5,6-triclor-2-piridil tiofosfat		220-864-4	2921-88-2	T; R25 N; R50-53	T; N R: 25-50/53 S: (1/2-)45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,0025 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: N; R51-53 0,000025 % ≤ C < 0,00025 %: R52-53	
015-095-00-4	metamidofos (ISO) *O*,*S*-dimetil tiofosforamidtioat		233-606-0	10265-92-6	T+; R26/28 T; R24 N; R50	T+; N R: 24-26/28-50 S: (1/2-)28-36/37-45-61		
015-096-00-X	oxidisulfoton *O*,*O*-dietil-*S*-[2-etilsulfinil)etil]tiofosfat		219-679-1	2497-07-6	T+; R28 T; R24 N; R50-53	T+; N R: 24-28-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R24-28-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21-28-50-53	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
							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	fentoat (ISO) 2-(dimetoxifosfinotioiltio)-2-fenilacetat		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	foxiim (ISO) α-(dietoxifosfinotioilimino) fenilacetonitril		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	fosmet (ISO) *O*,*O*-dimetil, ftalimidometil *S*-ditiofosfat		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	fosfit de trifenil		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	etoprofos (ISO) ditiofosfat de etil și *S*,*S*-dipropil		236-152-1	13194-48-4	T+; R26/27 T; R25 R43 N; R50-53	T+; N R: 25-26/27-43-50/53 S: (1/2-)27/28-36/37/39-45-60-61		
015-108-00-3	bromofos (ISO) *O*-4-brom-2,5-diclorfenil, *O*,*O*-dimetil tiofosfat		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-	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
							53	
015-109-00-9	crotoxifos (ISO) 3-(dimetoxifosfiniloxi)izocrotonat de 1-feniletil		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	cianofenfos (ISO) *O*-4-cianofenil, *O*-etil feniltiofosfonat		–	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	clormefos (ISO) *S*-clormetil, *O,O*-dietil ditiofosfat		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	clortiofos (ISO)		244-663-6	21923-23-9	T+; R28 T; R24 N; R50-53	T+; N R: 24-28-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61		
015-122-00-X	*O,O*-dimetil, *O*,6-etoxi-2-etilpirimidin-4-il tiofosfat etrimfos		253-855-9	38260-54-7	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-50-53 2,5 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
015-123-00-5	fenamifos (ISO) *N*-izopropilfosforamidat de etil şi de 4-metiltio-*m*-tolil		244-848-1	22224-92-6	T+; R28 T; R24 N; R50-53	T+; N R: 24-28-50/53 S: (1/2-)23-28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R24-28-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21-28-50-53 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R21-25-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R25-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R22-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R22-51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-126-00-1	heptenofos (ISO) 7-clorbiciclo(3.2.0)hepta-2,6-dien-6-il dimetil fosfat		245-737-0	23560-59-0	T; R25 N; R50-53	T; N R: 25-50/53 S: (1/2-)23-28-37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,25 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N;	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
							R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-127-00-7	iprobenfos *S*-benzil, diizopropil tiofosfat		247-449-0	26087-47-8	Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)61		
015-128-00-2	*IPSP* *O*,*O*-diizopropil, *S*-etilsulfinilmetil ditiofosfat		–	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	izofenfos (ISO) *O*-etil, *O*-2-izopropoxicarbonilfenil *N*-izopropiltiofosforamidotioat		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	izoxation (ISO) *O*,*O*-dietil, *O*-5-fenilizoxazol-3-il tiofosfat		242-624-8	18854-01-8	T; R24/25 N; R50-53	T; N R: 24/25-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61		
015-132-00-4	*S*-(clorofeniltiometil), *O*,*O*-dimetil ditiofosfat metilcarbofenotionă		–	953-17-3	T; R24/25 N; R50-53	T; N R: 24/25-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R24/25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-133-00-X	piperofos (ISO) *O*,*O*-dipropil,		–	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	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
	S-2-metilpiperidinocarbonilmetil ditiofosfat						0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
015-134-00-5	pirimifos-metil (ISO) *O*-(2-dietilamino-6-metilpirimidin-4-il) şi de *O*,*O*-dimetil tiofosfat		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	*O*-(4-brom-2-clorfenil) *O*-etil, *S*-propil tiofosfat profenofos (ISO)		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	3-[[(etilamido)metoxifosfinotioil] oxi]crotonat de izopropil propetamfos (ISO)		250-517-2	31218-83-4	T; R25 N; R50-53	T; N R: 25-50/53 S: (1/2-)37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,25 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-138-00-7	chinalfos (ISO) *O*,*O*-dietil, *O*-chinoxalin-2-il tiofosfat		237-031-6	13593-03-8	T; R25 Xn; R21 N; R50-53	T; N R: 21-25-50/53 S: (1/2-)22-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R21-25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,025 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-139-00-2	*S*-*terţ*-butiltiometil, *O*,*O*-dietil tiofosfat terbufos (ISO)		235-963-8	13071-79-9	T+; R27/28 N; R50-53	T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)36/37-45-60-61	C 7 %: T+, N; R27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %: T, N; R24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-154-00-4	acid 2-cloretilfosfonic; etefon		240-718-3	16672-87-0	Xn; R20/21 C; R34 R52-53	C R: 20/21-34-52/53 S: (1/2-)26-28-	C ≥ 25 %: C; R20/21-34-52/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R34 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
						36/37/39-45-61		
015-179-00-0	Produse de condensare UVCB a: clorurii de tetrakis-hidroximetilfosfoniu, ureei și a alchilaminelor C16-18 distilate și hidrogenate		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	acid sulfhidric		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	polisulfuri de amoniu		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	diclorură disulfurică monoclorură de sulf		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	diclorură de sulf		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	tetraclorură de sulf		–	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	metantiol metilmercaptan		200-822-1	74-93-1	F+; R12 T; R23 N; R50-53	F+; T; N R: 12-23-50/53 S: (2-)16-25-60-61		
016-023-00-4	sulfat de dimetil	E	201-058-1	77-78-1	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 T+; R26 T; R25 C; R34 R43	T+ R: 45-25-26-34-43-68 S: 53-45	C ≥ 25 %: T+; R45-R25-R26-R34-R43-R68 10 % ≤ C < 25 %: T+; R45-R22-R26-R34-R43-R68 7 % ≤ C < 10 %: T+; R45-R22-R26-R36/37/38-R43-R68 5 % ≤ C < 7 %: T; R45-R22-R23-R36/37/38-R43-R68 3 % ≤ C < 5 %: T; R45-R22-R23-R43- R68 1 % ≤ C < 3 %: T; R45-R23-R43-R68	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
							0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-R20-R68 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45-R68	
016-059-00-0	dihidroclorhidrat de *N,N,N′,N′*-tetrametilditiobis (etilen) diamină		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	clorat de bariu		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	clorat de potasiu		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	clorat de sodiu		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	soluţie de hipoclorit de sodiu … % Cl activ	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	hipoclorit de calciu		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	trioxid de crom	E	215-607-8	1333-82-0	O; R9 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 3; R62 T+; R26 T; R24/25-48/23 C; R35 R42/43 N; R50-53	O; T+; N R: 45-46-9-24/25-26-35-42/43-48/23-62-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R24/25-26-35-42/43-45-46-48/23-50/53-62 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21/22-26-35-42/43-45-46-48/23-51/53-62 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R21/22-26-34-42/43-45-46-48/20-51/53-62 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R21/22-23-34-42/43-45-46-48/20-51/53-62 3 % ≤ C < 5 %: T, N; R21/22-23-36/37/38-42/43-45-46-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R23-36/37/38-42/43-45-46-48/20-	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
							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	dicromat de potasiu	E	231-906-6	7778-50-9	O; R8 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; 50-53	T+; N; O R: 45-46-60-61-8-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-34-42/43-48/23-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-51/53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 3 % ≤ C < 5 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20-42/43-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20-42/43 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45-46-20	3
024-003-00-1	dicromat de amoniu	E	232-143-1	7789-09-5	E; R2 O; R8 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; R50-53	E; T+; N R: 45-46-60-61-2-8-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-34-42/43-48/23-50/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-50/53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53	3

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
							3 % ≤ C < 5 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20-42/43-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20-42/43 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45-46-20	
024-004-00-7	dicromat de sodiu	E	234-190-3	10588-01-9	O; R8 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; 50-53	T+; N; O R: 45-46-60-61-8-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-34-42/43-48/23-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-51/53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 3 % ≤ C < 5 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T ; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20-42/43-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20-42/43 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45-46-20	3
024-004-01-4	dicromat de sodiu, dihidrat	E	234-190-3	7789-12-0	O; R8 Carc. Cat.2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61	T+; N; O R: 45-46-60-61-8-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53	C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-	3

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
					T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; R50-53	S: 53-45-60-61	46-60-61-22-26-34-42/43-48/23-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-51/53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 3 % ≤ C < 5 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53 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 madiona	
024-011-00-5	bis(1-(3,5-dinitro-2-oxido-fenilazo)-3-(*N*-fenilcarbamoil)-2-naftolat)cromat(1-) de amoniu		400-110-2		F; R11 N; R50-53	F; N R: 11-50/53 S: (2-)33-60-61		
024-018-00-3	cromat de sodiu	E	231-889-5	7775-11-3	Carc. Cat. 2; R45Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat.2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; R50-53	T+; N R: 45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-34-42/43-48/23-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-51/53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 3 % ≤ C < 5 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53	3

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
							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	diclorură de cobalt	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	1
027-005-00-0	sulfat de cobalt	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	1
029-002-00-X	oxid de cupru (I) oxid cupros		215-270-7	1317-39-1	Xn; R22 N; 50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)22-60-61		
030-001-00-1	zinc-pulbere (piroforic)		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	zinc-pulbere (stabilizat)		231-175-3	7440-66-6	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
030-003-00-2	clorură de zinc		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	sulfat de zinc(mono-, hexa- şi heptahidrat) [1]		231-793-3 [1] 231-793-3	7446-19-7 [1] 7733-02-0 [2]	Xn; R22 R41 N; R50-53	Xn; N R: 22-41-50/53 S: (2-)22-26-39-46-60-		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	sulfat de zinc (anhidru) [2]		[2]			61		
033-001-00-X	arsen		231-148-6	7440-38-2	T; R23/25 N; R50-53	T; N R: 23/25-50/53 S: (1/2-)20/21-28-45-60-61		
033-002-00-5	compuși ai arsenului, cu excepția celor menționați în prezenta anexă	A	–	–	T; R23/25 N; R50-53	T; N R: 23/25-50/53 S: (1/2-)20/21-28-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/25-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/25-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: T; R23/25-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: T; R23/25 0,1 % ≤ C < 0,2 %: Xn; R20/22	1
042-002-00-4	hexa-μ-oxotetra-μ3-oxodi-μ5-oxotetradecaoxooctamolibdat (4-)de tetrakis(dimetilditetradecil amoniu)		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	compuși ai cadmiului, cu excepția sulfoseleniurii de cadmiu (xCdS.yCdSe), a sulfurii mixte cadmiu-zinc (xCdS.yZnS), a sulfurii mixte cadmiu-mercur (xCdS.yHgS) și a compușilor menționați în prezenta anexă	A	–	–	Xn; R20/21/22 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/21/22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20/21/22-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/21/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22	1
048-003-00-6	formiat de cadmiu		224-729-0	4464-23-7	T; R23/25 R33 Xn; R68 N; R50-53	T; N R: 23/25-33-68-50/53 S: (1/2-)22-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/25-33-50/53-68 10 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/25-33-51/53-68 2,5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/22-33-51/53-68 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/22-33-52/53-68 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/22-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/22-33-52/53	
048-004-00-1	cianură de cadmiu		208-829-1	542-83-6	T+; R26/27/28 R32 R33 Xn; R68 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-32-33-68-50/53 S: (1/2-)7-28-29-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-32-33-50/53-68 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-32-33-51/53-68 2,5 % ≤ C < 7 %: T, N; R23/24/25-32-33-51/53-68	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
							1 % ≤ C < 2,5 %: T; R23/24/25-32-33-52/53-68 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22-33	
048-005-00-7	hexafluorosilicat de cadmiu		241-084-0	17010-21-8	T; R23/25 R33 Xn; R68 N; R50-53	T; N R: 23/25-33-68-50/53 S: (1/2-)22-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/25-33-50/53-68 10 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/25-33-51/53-68 2,5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/22-33-51/53-68 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/22-33-52/53-68 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/22-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/22-33	
048-006-00-2	fluorură de cadmiu	E	232-222-0	7790-79-6	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23/25 N; R50-53	T+; N R: 45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-48/23/25-51/532,5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20/22-48/20/22-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20/22-48/20/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20/22-48/20/22 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
048-007-00-8	iodură de cadmiu		232-223-6	7790-80-9	T; R23/25 R33 Xn; R68 N; R50-53	T; N R: 23/25-33-68-50/53 S: (1/2-)22-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/25-33-50/53-68 10 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/25-33-51/53-68 2,5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/22-33-51/53-68 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/22-33-52/53-68 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/22-	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
							33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/22-33	
048-008-00-3	clorură de cadmiu	E	233-296-7	10108-64-2	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23/25 N; R50-53	T+; N R: 45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-48/23/25-51/53 2,5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20/22-48/20/22-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20/22-48/20/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20/22-48/20/22 0,01% ≤ C < 0,1 %: T; R45	
048-009-00-9	sulfat de cadmiu	E	233-331-6	10124-36-4	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T; R48/23/25 T+; R26 T; R25 N; R50-53	T+; N R: 45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-48/23/25-51/53 2,5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20/22-48/20/22-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20/22-48/20/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20/22-48/20/22 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
048-010-00-4	sulfură de cadmiu	E	215-147-8	1306-23-6	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62-63 T; R48/23/25	T; N R: 45-22-48/23/25-62-63-68-53 S: 53-45-61	C ≥ 25 %: T; R45-22-48/23/25-62-63-68-53 10 % ≤ C < 25 %: T; R45-22-48/23/25-62-63-68	1

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
					Xn; R22 R53		5 % ≤ C < 10 %: T; R45-48/20/22-62-63-68 1 % ≤ C < 5 %: T; R45-48/20/22-68 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-48/20/22	
050-001-00-5	tetraclorură de staniu		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	compuşi de trimetil staniu, cu excepţia celor menţionaţi în prezenta anexă	A	–	–	T+; R26/27/28 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-50/53 S: (1/2-)26-27-28-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R23/24/25-52/53 0,1% ≤ C < 0,25 %: T; R23/24/25 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22	1
050-006-00-2	compuşi de trietil staniu, cu excepţia celor menţionaţi în prezenta anexă	A	–	–	T+; R26/27/28 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-50/53 S: (1/2-)26-27-28-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R23/24/25-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R23/24/25 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22	1
050-007-00-8	compuşi de tripropil staniu, cu excepţia celor menţionaţi în prezenta anexă	A	–	–	T; R23/24/25 N; R50-53	T; N R: 23/24/25-50/53 S: (1/2-)26-27-28-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/24/25-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/24/25-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T; R23/24/25-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: Xn; R20/21/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22	1
050-008-00-3	compuşi de tributil staniu, cu excepţia celor menţionaţi	A	–	–	T; R25-48/23/25	T; N	C ≥ 25 %: T, N; R21-25-36/38-	1

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	în prezenta anexă				Xn; R21 Xi; R36/38 N; R50-53	R: 21-25-36/38-48/23/25-50/53 S: (1/2-)35-36/37/39-45-60-61	48/23/25-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R21-25-36/38-48/23/25-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R21-25-36/38-48/23/25-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R22-48/20/22-52/53	
050-009-00-9	fluorotripentil staniu [1] hexapentil distanoxan [2]		243-546-7 [1] 247-143-7 [2]	20153-49-5 [1] 25637-27-8 [2]	Xn; R20/21/22 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/21/22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20/21/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/21/22-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	1
050-010-00-4	fluorotrihexil staniu		243-547-2	20153-50-8	Xn; R20/21/22 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/21/22-50/53 2,5% ≤ C < 25 %: Xn, N; R20/21/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/21/22-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	1
050-011-00-X	compuși de trifenil staniu, cu excepția celor menționați în prezenta anexă	A	–	–	T; R23/24/25 N; R50-53	T; N R: 23/24/25-50/53 S: (1/2-)26-27-28-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/24/25-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/24/25-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R23/24/25-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22-52/53	1
050-012-00-5	tetraciclohexil stanan [1] clorotriciclohexil stanan [2] butiltriciclohexil stanan [3]	A	215-910-5 [1] 221-437-5 [2] 230-358-5 [3]	1449-55-4 [1] 3091-32-5 [2] 7067-44-9 [3]	Xn; R20/21/22 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/21/22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20/21/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/21/22-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	1
050-013-00-0	compuși de trioctil staniu, cu excepția celor menționați în prezenta anexă	A	–	–	Xi; R36/37/38 R53	Xi R: 36/37/38-53 S: (2-)61	C ≥ 25 %: Xi; R36/37/38-53 1 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/37/38	1
051-002-00-3	pentaclorură de stibiu pentaclorură de antimoniu		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;	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
							R36/37/38-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: R52/53	
051-003-00-9	compuși ai stibiului (antimoniului), cu excepția tetraoxidului (Sb_2O_4), a pentaoxidului (Sb_2O_5), a trisulfurii (Sb_2S_3), a pentasulfurii (Sb_2S_5) și a celor menționați în prezenta anexă	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	1
080-002-00-6	compuși anorganici ai mercurului, cu excepția sulfurii de mercur (cinabru) și a celor menționați în prezenta anexă	A	–	–	T+; R26/27/28 R33 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-33-50/53 S: (1/2-)13-28-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-33-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-33-51/53 2 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-33-52/53 0,5 % ≤ C <2 %: T; R23/24/25-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: Xn; R20/21/22-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22-33	1
080-004-00-7	compuși organici ai mercurului, cu excepția celor menționați în prezenta anexă	A	–	–	T+; R26/27/28 R33 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-33-50/53 S: (1/2-)13-28-36-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-33-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-33-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-33-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R23/24/25-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: Xn; R20/21/22-33-52/53 0,05 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22-33	1
080-007-00-3	dimetilmercur [1] dietilmercur [2]		209-805-3 [1] 211-000-7 [2]	593-74-8 [1] 627-44-1 [2]	T+; R26/27/28 R33 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-33-50/53 S: (1/2-)13-28-36-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-33-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-33-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R23/24/25-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R23/24/25-33 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22-33	1

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
082-001-00-6	compuși ai plumbului, cu excepția celor menționați în prezenta anexă	AE	–	–	Repr. Cat. 1; R61 Repr. Cat. 3; R62 Xn; R20/22 R33 N; R50-53	T; N R: 61-20/22-33-62-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R61-20/22-33-62-50/53 5 % ≤ C < 25 %: T, N; R61-20/22-33-62-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T, N; R61-20/22-33-62-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R61-20/22-33-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R61-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: R52/53	1
082-002-00-1	derivați alchilați ai plumbului	AE	–	–	Repr. Cat. 1; R61 Repr. Cat. 3; R62 T+; R26/27/28 R33 N; R50-53	T+; N R: 61-26/27/28-33-62-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R61-26/27/28-33-62-50/53 5 % ≤ C < 25 %: T+, N; R61-26/27/28-33-62-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T+, N; R61-26/27/28-33-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T+; R61-26/27/28-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R61-26/27/28-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R61-23/24/25-33 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22-33	1
601-010-00-3	etenă etilenă		200-815-3	74-85-1	F+; R12 R67	F+ R: 12-67 S: (2-)9-16-33-46		
601-014-00-5	izopren (stabilizat) 2-metil-1,3-butadienă	D	201-143-3	78-79-5	F+; R12 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 R52-53	F+; T R: 45-12-68-52/53 S: 53-45-61		
601-017-00-1	ciclohexan		203-806-2	110-82-7	F; R11 Xn; R65 Xi; R38 R67 N; R50-53	F; Xn; N R: 11-38-65-67-50/53 S: (2-)9-16-25-33-60-61-62		4 6
601-020-00-8	benzen	E	200-753-7	71-43-2	F; R11 Carc. Cat. 1; R45 Muta. 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	toluen		203-625-9	108-88-3	F; R11	F; Xn		4, 6

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
					Repr.Cat.3; R63 Xn; R48/20-65 Xi; R38 R67	R: 11-38-48/20-63-65-67 S: (2-)36/37-62-46		
601-025-00-5	mesitilen 1,3,5-trimetilbenzen		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-fenilpropen α-metilstiren		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-metilstiren (o-metilstiren) 2-viniltoluen		210-256-7	611-15-4	Xn; R20 N; R51-53	Xn; N R: 20-51/53 S: (2-)24-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: R52/53	
601-032-00-3	benzo[*a*]piren benzo[*def*]crisen		200-028-5	50-32-8	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 R43 N; R50-53	T; N R: 45-46-60-61-43-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R43-45-46-50-53-60-61 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R43-45-46-51-53-60-61 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R43-45-46-52-53-60-61 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-52-53-60-61 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-52-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
601-037-00-0	n-hexan		203-777-6	110-54-3	F; R11 Repr. Cat. 3; R62 Xn; R65-48/20 Xi; R38 R67 N; R51-53	F; Xn; N R: 11-38-48/20-62-65-67-51/53 S: (2-)9-16-29-33-36/37-61-62	C ≥ 25 %: Xn, N; R38-48/20-62-51/53 20 % ≤ C < 25 %: Xn; R38-48/20-62-52/53 5 % ≤ C < 20 %: Xn; R48/20-62-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: R52/53	4 6
601-041-00-2	dibenzo[*a,h*]antracen		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	crisen		205-923-4	218-01-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 N; R50-53	T; N R: 45-68-50/53 S: 53-45-60-61		
601-052-00-2	naftalină		202-049-5	91-20-3	Carc. Cat.3; R40	Xn; N		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
					Xn; R22 N; R50-53	R: 22-40-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
601-053-00-8	nonilfenol [1] 4-nonilfenol, ramificat [2]		246-672-0 [1] 284-325-5 [2]	25154-52-3 [1] 84852-15-3 [2]	Repr.Cat.3; R62 Repr.Cat.3; R63 Xn; R22 C; R34 N; R50-53	C; N R: 22-34-62-63-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-46-60-61		
602-003-00-8	dibrommetan bromură de metilen		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	tetraclormetan tetraclorură de carbon		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-dibrometan dibromură de etilenă	E	203-444-5	106-93-4	Carc. Cat. 2; R45 T; R23/24/25 Xi; R36/37/38 N; R51-53	T; N R: 45-23/24/25-36/37/38-51/53 S: 53-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R45-23/24/25-36/37/38-51/53 20 % ≤ C < 25 %: T, N; R45-23/24/25-36/37/38-52/53 2,5 % ≤ C < 20 %: T, N; R45-23/24/25-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23/24/25 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-20/21/22	
602-011-00-1	1,1-dicloretan diclorură de etiliden		200-863-5	75-34-3	F; R11 Xn; R22 Xi; R36/37 R52-53	F; Xn R: 11-22-36/37-52/53 S: (2-)16-23-61	C ≥ 25 %: Xn; R22-36/37-52/53 20 % ≤ C < 25 %: Xn; R22-36/37 12,5 % ≤ C < 20 %: Xn; R22	
602-014-00-8	1,1,2-tricloretan		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-tetracloretan 1,1,2,2-tetraclorură de etil		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	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
602-016-00-9	1,1,2,2-tetrabrommetan		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	pentaclorură de etil pentacloretan		200-925-1	76-01-7	Carc. Cat. 3; R40 T; R48/23 N; R51-53	T; N R: 40-48/23-51/53 S: (1/2-)23-36/37-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R40-48/23-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T; R40-48/23-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R40-48/23 0,2 % ≤ C < 1 %: Xn; R48/20	
602-019-00-5	1-brompropan bromură de n-propil		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-dicloretilenă clorură de vinilidenă	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-dicloretilenă *cis*-1,2-dicloretilenă [2] *trans*-1,2-dicloretilenă [3]	C	208-750-2 [1] 205-859-7 [2] 205-860-2 [3]	540-59-0 [1] 156-59-2 [2] 156-60-5 [3]	F; R11 Xn; R20 R52-53	F; Xn R: 11-20-52/53 S: (2-)7-16-29-61	C ≥ 25 %: Xn; R20-52/53 12,5 % ≤ C < 25 %: Xn; R20	
602-029-00-X	3-clorpropenă clorură de alil	D	203-457-6	107-05-1	F; R11 Carc. Cat.3; R40 Muta. Cat.3; R68 Xn; R20/21/22-48/20 Xi; R36/37/38 N; R50	F; Xn; N R: 11-20/21/22-36/37/38-40-48/20-68-50 S: (2-)16-25-26-36/37-46-61		
602-033-00-1	clorbenzen monoclorbenzen		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-diclorbenzen *o*-diclorbenzen		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	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
							2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53	
602-035-00-2	1,4-diclorbenzen *p*-diclorbenzen		203-400-5	106-46-7	Xi; R36 Carc. Cat. 3; R40 N; R50-53	Xn; N R: 36-40-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
602-036-00-8	2-clor-1,3-butadienă cloropren (stabilizat)	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	policlorură de difenil PCB	C	215-648-1	1336-36-3	R33 N; R50-53	Xn; N R: 33-50/53 S: (2-)35-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R33-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R33-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: Xn, N; R33-52/53 0,005 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R33	
602-043-00-6	lindan γ-1,2,3,4,5,6-hexaclorciclohexan		200-401-2	58-89-9	T; R25 Xn; R20/21-48/22 R64 N; R50-53	T; N R: 20/21-25-48/22-64-50/53 S: (1/2-)36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R20/21-25-48/22-64-50-53 10 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-48/22-64-50-53 3 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R22-64-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: N; R64-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: N; R64-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
602-062-00-X	1,2,3-triclorpropan	D	202-486-1	96-18-4	Carc. Cat. 2; R45 Repr. Cat. 2; R60 Xn; R20/21/22	T R: 45-60-20/21/22 S: 53-45		
602-073-00-X	1,4-diclorbut-2-enă	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	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
							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	izomerii pentanolului, cu excepţia celor menţionaţi în prezenta anexă	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-metil-2-butanol alcool *terţ*-amilic		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-cloretil)eter eter 2,2′-dicloretilic		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-aminoetanol etanolamină		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-dimetoxietan dimetileter de etilenglicol *EGDME*		203-794-9	110-71-4	Repr. Cat.2; R60 Repr. Cat.2; R61 F; R11 R19 Xn; R20	F; T R: 60-61-11-19-20S: 53-45		
603-054-00-9	oxid de dibutil eter n-butilic		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-epoxi-1-propanol glicidol	E	209-128-3	556-52-5	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 2; R60T; R23 Xn; R21/22 Xi; R36/37/38	T R: 45-60-21/22-23-36/37/38-68 S: 53-45		
603-066-00-4	1,2-epoxi-4-epoxietilciclohexan diepoxid de vinilciclohexan		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	1,2-epoxi-3-fenoxipropan fenilglicidil eter	E	204-557-2	122-60-1	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20 Xi; R37/38	T R: 45-20-37/38-43-68-52/53 S: 53-45-61		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
					R43 R52-53			
603-070-00-6	2-amino-metilpropanol		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	produs de reacție: bisfenol-A-epiclorhidrină răşini epoxidice (masă moleculară medie ≤ 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-butin-1,4-diol	D	203-788-6	110-65-6	C; R34 T; R23/25 Xn; R21-48/22 R43	C; T R: 21-23/25-34-43-48/22 S: (1/2-)25-26-36/37/39-45-46	C 50 %: T, C; R21-23/25-34-48/22-43 25 % ≤ C < 50 %: T; R21-23/25-36/38-48/22-43 10 % ≤ C < 25 %: Xn R20/22-48/22-43 3 % ≤ C < 10 %: Xn R20/22-43 1 % ≤ C < 3 %: Xi; R43	
603-095-00-2	2-(propiloxil)etanol eter monopropilic de etilenglicol		220-548-6	2807-30-9	Xn; R21 Xi; R36	Xn R: 21-36 S: (2-)26-36/37-46		
603-105-00-5	furan	E	203-727-3	110-00-9	F+; R12 R19 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20/22-48/22 Xi; R38 R52-53	F+; T R: 45-12-19-20/22-38-48/22-68-52/53 S: 53-45-61		
604-001-00-2	fenol acid carbolic monohidroxibenzen alcool fenilic		203-632-7	108-95-2	Muta.Cat.3; R68 T; R23/24/25 Xn; R48/20/21/22 C; R34	T; C R: 23/24/25-34-48/20/21/22-68 S: (1/2-)24/25-26-28-36/37/39-45	C 10 %: T; R23/24/25-48/20/21/22-34-68 3 % ≤ C < 10 %: C ; Xn ; R20/21/22-34-68 1 % ≤ C < 3 %: Xn ; R36/38-68	
604-009-00-6	1,2,3-trihidoxibenzen pirogalol		201-762-9	87-66-1	Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20/21/22 R52-53	Xn R: 20/21/22-68-52/53 S: (2-)36/37-61	C ≥ 25 %: Xn; R20/21/22-68-52/53 10 % ≤ C < 25 %: Xn; R20/21/22-68 1 % ≤ C < 10 %: Xn; R68	
604-010-00-1	1,3-benzendiol rezorcină (rezorcinol)		203-585-2	108-46-3	Xn; R22 Xi; R36/38	Xn; N R: 22-36/38-50	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-36/38-50	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
					N; R50	S: (2-)26-61	20 % ≤ C < 25 %: Xn; R22-36/38 10 % ≤ C < 20 %: Xn; R22	
604-012-00-2	4-cloro-*o*-crezol 4-cloro-2-metil fenol		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-tetraclorfenol		200-402-8	58-90-2	T; R25 Xi; R36/38 N; R50-53	T; N R: 25-36/38-50/53 S: (1/2-)26-28-37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R25-36/38-50/53 20 % ≤ C < 25 %: T, N; R25-51/53 5 % ≤ C < 20 %: T, N; R25-36/38-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R22-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R22-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: R52/53	
604-014-00-3	clorocrezol 4-clor-3-metilfenol *p*-clor-*m*-crezol		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′-metilen-bis(3,4,6-triclorfenol) hexaclorofen		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-triclorfenol		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	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
604-030-00-0	bisfenol A 4,4′-izopropilidendifenol		201-245-8	80-05-7	Repr. Cat. 3; R62 Xi; R37-41 R43	Xn R: 37-41-43-62 S: (2-)26-36/37-39-46		
605-002-00-0	1,3,5-trioxan trioximetilenă		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	etan-1,2-dionă …. % glioxal … %	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	safrol5-alil-1,3-benzodioxol	E	202-345-4	94-59-7	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Xn; R22	T R: 45-22-68 S: 53-45		
605-022-00-X	glutaral glutaraldehidă 1,5-pentandial		203-856-5	111-30-8	T; R23/25 C; R34 R42/43 N; R50	T; N R: 23/25-34-42/43-50 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61	C 50 %: T, N; R23/25-34-42/43-50 25 % ≤ C < 50 %: T; R22-23-34-42/43 10 % ≤ C < 25 %: C; R20/22-34-42/43 2 % ≤ C < 10 %: Xn; R20/22-37/38-41-42/43 1 % ≤ C < 2 %: Xn; R36/37/38-42/43 0,5 % ≤ C < 1 %: Xi; R36/37/38-43	
605-025-00-6	cloracetaldehidă		203-472-8	107-20-0	Carc. Cat. 3; R40 T+; R26 T; R24/25 C; R34 N; R50	T+; N R: 24/25-26-34-40-50 S: (1/2-)26-28-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: T+, N; R24/25-26-34-40-50 10 % ≤ C < 25 %: T+; R21/22-26-34-40 7 % ≤ C < 10 %: T+; R21/22-26-36/37/38-40 5 % ≤ C < 7 %: T; R21/22-23-36/37/38-40 3 % ≤ C < 5 %: T; R21/22-23-40 1 % ≤ C < 3 %: T; R23-40 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20	
606-037-00-4	triadimefon (ISO) 1-(4-clorfenoxi)-3,3-dimetil-1-(1,2,4-triazol-1-il)butanonă		256-103-8	43121-43-3	Xn; R22 R43 N; R51-53	Xn; N R: 22-43-51/53 S: (2-)24-37-61		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
606-048-00-4	2′-anilino-3′-metil-6′- dipentilaminospiro(izobenzofuran-1(1*H*),9′-xanten)-3-onă		406-480-1	–	R53	R: 53 S: 61		
607-004-00-7	acid tricloracetic		200-927-2	76-03-9	C; R35 N; R50-53	C; N R: 35-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: C, N; R35-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R35-51/53 5 % ≤ C < 10 %: C, N; R34-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi, N; R36/37/38-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R36/37/38-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	
607-019-00-9	cloroformiat de metil metilcloroformiat		201-187-3	79-22-1	F; R11 T+; R26 Xn; R21/22 C; R34	F; T+ R: 11-21/22-26-34 S: (1/2-)26-14-28-36/37-39-36/37/39-45-46-63		
607-049-00-2	mecoprop (ISO) şi sărurile sale acid 2-(4-clor-*o*-toliloxi) propionic acid (*RS*)-2-(4-cloro-*o*-toliloxi) propionic [1] acid 2-(4-cloro-2-metilfenoxi) propionic [2]		230-386-8 [1] 202-264-4 [2]	7085-19-0 [1] 93-65-2 [2]	Xn; R22 Xi; R38-41 N; R50-53	Xn; N R: 22-38-41-50/53 S: (2-)13-26-37/39-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-38-41-50-53 20 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R38-41-50-53 10 % ≤ C < 20 %: Xi, N; R41-50-53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36-50-53 0,25 % ≤ C < 5 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
607-053-00-4	MCPB (ISO) acid 4-(4-clor-*o*-toliloxi) butiric		202-365-3	94-81-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-061-00-8	acid acrilic	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	cloroformiat de benzil		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; 36/37/38-51/53	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
							2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53	
607-072-00-8	acrilat de 2-hidroxietil 2-hidroxietil acrilat	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	ftalat de dialil		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	acid trifluoracetic … %	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	acid peracetic … %		201-186-8	79-21-0	R10 O; R7 Xn; R20/21/22 C; R35 N; R50	O; C; N R: 7-10-20/21/22-35-50 S: (1/2-)3/7-14-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: C, N; R20/21/22-35-50 10 % ≤ C < 25 %: C; R20/21/22-35 5 % ≤ C < 10 %: C; R34 1 % ≤ C < 5 %: Xi, R36/37/38	
607-107-00-7	acrilat de 2-etilhexil 2-etilhexil acrilat	D	203-080-7	103-11-7	Xi; R37/38 R43	Xi R: 37/38-43 S: (2-)36/37-46		
607-113-00-X	metacrilat de izobutil	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	acrilat de ciclohexil	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	monoalchil, monoaril sau monoalchilaril esteri ai acidului acrilic, cu excepția celor menționați în prezenta anexă	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	propargit (ISO) sulfit de 2-(4-*terț*-butilfenoxi)		219-006-1	2312-35-8	Carc. Cat.3; R40 T; R23	T; N R: 23-38-40-41-50/53	C ≥ 25 %: T, N; R23-38-40-41-50-53	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
	ciclohexil şi de prop-2-inil				Xi; R38-41 N; R50-53	S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20-38-40-41-50-53 10 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R20-40-41-50-53 5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20-40-36-50-53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R20-40-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: Xn, N; R40-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn, N; R40-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
607-189-00-4	acid trimetilendiaminotetraacetic		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	acrilat de izooctil		249-707-8	29590-42-9	Xi; R36/37/38 N; R50-53	Xi; N R: 36/37/38-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37/38-50/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R36/37/38-51/53 2,5 % ≤ C < 10 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53	
607-245-00-8	acrilat de *terţ*-butil	D	216-768-7	1663-39-4	F; R11 Xn; R20/21/22 Xi; R37/38 R43 N; R52-53	F; Xn R: 11-20/21/22-37/38-43-52/53 S: (2-)16-25-37-61	C ≥ 25 %: Xn; R20/21/22-37/38-43-52-53 20 % ≤ C < 25 %: Xi; R37/38-43 1 % ≤ C < 20 %: Xi; R43	
607-247-00-9	metacrilat de dodecil		205-570-6	142-90-5	Xi; 36/37/38 N; R50-53	Xi; N R: 36/37/38-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37/38-50/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R36/37/38-51/53 2,5 % ≤ C < 10 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,50 %: R52/53	
607-249-00-X	diacrilat de (1-metil-1,2-etandiil)bis[oxi(metil-2,1-etandiil)]		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	acrilonitril	D E	203-466-5	107-13-1	F; R11 Carc. Cat. 2; R45	F; T; N R: 45-11-23/24/25-	C ≥ 25 %: T, N; R45-23/24/25-37/38-41-43-51/53	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
					T; R23/24/25 Xi; R37/38-41 R43 N; R51-53	37/38-41-43-51/53 S: 9-16-53-45-61	20 % ≤ C < 25 %: T; R45-23/24/25-37/ 38-41-43-52/53 10 % ≤ C < 20 %: T; R45-23/24/25-41-43-52/53 5 % ≤ C < 10 %: T; R45-23/24/25-36-43-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T; R45-23/24/25-43-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23/24/25-43 0,2 % ≤ C < 1 %: T; R45-20/21/22 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45	
608-006-00-0	bromoxinil (ISO) și sărurile sale 3,5-dibromo-4-hidroxibenzonitril		216-882-7	1689-84-5	Repr. Cat. 3; R63 T+; R26 T; R25 R43 N; R50-53	T+; N R: 25-26-43-63-50/53 S: (1/2-)27/28-36/37-45-63-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R25-26-43-63-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R22-26-43-63-50-53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R22-23-43-63-50-53 3 % ≤ C < 5 %: T, N; R22-23-43-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R23-43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: T, N; R23-43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20-51-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20-52-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: R52-53	
608-007-00-6	ioxinil (ISO) și sărurile sale 4-hidroxi-3,5-diiodobenzonitril		216-881-1	1689-83-4	Repr. Cat. 3; R63 T; R23/25 Xn; R21-48/22 Xi; R36 N; R50-53	T; N R: 21-23/25-36-48/22-63-50/53 S: (1/2-)36/37-45-60-61-63	C ≥ 25 %: T, N; R21-23/25-36-48/22-63-50-53 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20/22-36-48/22-63-50-53 10 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R20/22-48/22-63-50-53 5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/22-63-50-53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R20/22-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
608-010-00-2	metacrilonitril 2-metil-2-propen nitril	D	204-817-5	126-98-7	F; R11 T; R23/24/25 R43	F; T R: 11-23/24/25-43 S: (1/2-)9-16-18-29-45	C 1 %: T; R23/24/25-43 0,2 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22-43	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
608-014-00-4	clorotalonil (ISO) tetracloroizoftalonitril		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; 20-52-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: R52-53	
608-017-00-0	octanoat de 2,6-dibromo-4-cianofenil octanoat bromoxinil octanoat		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	ioxinil octanoat (ISO) octanoate de 4-ciano-2,6-diiodofenil		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-(diaminometilenamino)tiazol-4-il metiltio)propionitril		403-710-2	76823-93-3	Xn; R22 R43	Xn R: 22-43 S: (2-)22-24-37		
609-007-00-9	2,4-dinitrotoluen dinitrotoluen, puritate tehnică	E	204-450-0 [1]	121-14-2 [1] 25321-14-6 [2]	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68	T; N R: 45-23/24/25-48/22-		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	[1] dinitrotoluen [2]		246-836-1 [2]		Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R51-53	62-68-51/53 S: 53-45-61		
609-023-00-6	dinocap (ISO)	E	254-408-0	39300-45-3	Repr. Cat. 2; R61 Xn; R20-48/22 Xi; R38 R43 N; R50-53	T; N R: 61-20-22-38-43-48/22-50/53 S: 53-45-60-61		
609-043-00-5	quintozen (ISO) pentaclornitrobenzen		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-dinitrotoluen	E	210-106-0	606-20-2	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 R52-53	T R: 45-23/24/25-48/22-62-68-52/53 S: 53-45-61		
609-050-00-3	2,3-dinitrotoluen	E	210-013-5	602-01-7	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R50-53	T; N R: 45-23/24/25-48/22-62-68-50/53 S: 53-45-60-61		
609-051-00-9	3,4-dinitrotoluen	E	210-222-1	610-39-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R51-53	T; N R: 45-23/24/25-48/22-62-68-51/53 S: 53-45-61		
609-052-00-4	3,5-dinitrotoluen	E	210-566-2	618-85-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 R52-53	T R: 45-23/24/25-48/22-62-68-52/53 S: 53-45-61		
609-055-00-0	2,5-dinitrotoluen	E	210-581-4	619-15-8	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R51-53	T; N R: 45-23/24/25-48/22-62-68-51/53 S: 53-45-61		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
609-056-00-6	2,2-dibrom-2-nitroetanol		412-380-9	69094-18-4	E; R2 Carc. Cat. 3; R40 Xn; R22-48/22 C; R35 R43 N; R50-53	E; C; N R: 2-22-35-40-43-48/22-50/53 S: (1/2-)23-26-35-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: C, N; R22-35-40-43-48/22-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R22-35-40-43-48/22-51/53 5 % ≤ C < 10 %: C, N; 34-40-43-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R36/37/38-40-43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R36/37/38-40-43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	
610-005-00-5	1-clor-4-nitrobenzen *p*-clor nitrobenzen		202-809-6	100-00-5	Carc. Cat.3;R40 Mut. Cat.3;R68 T; R23/24/25 Xn; R48/20/21/22 N; R51-53	T; N R: 23/24/25-40-48/20/21/22-68-51/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61		
611-001-00-6	azobenzen	E	203-102-5	103-33-3	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20/22-48/22 N; R50-53	T; N R: 45-20/22-48/22-68-50/53 S: 53-45-60-61		
611-060-00-8	Amestec de: 5-[8-[4-[4-[4-[7-(3,5-dicarboxilatofenilazo)-8-hidroxi-3,6-disulfonatonaftalen-1-ilamino]-6-hidroxi-1,3,5-triazin-2-il]-2,5-dimetilpiperazin-1-il]-6-hidroxi-1,3,5-triazin-2-ilamino]-1-hidroxi-3,6-disulfonatonaftalen-2-ilazo]-izoftalat de sodiu; 5-[8-[4-[4-[4-[7-(3,5-dicarboxilatofenilazo)-8-hidroxi-3,6-disulfonatonaftalen-1-ilamino]-6-hidroxi-1,3,5-triazin-2-il]-2,5-dimetilpiperazin-1-il]-6-hidroxi-1,3,5-triazin-2-ilamino]-1-hidroxi-3,6-disulfonatonaftalen-2-ilazo]-izoftalat de amoniu; acid 5-[8-[4-[4-[4-[7-(3,5-dicarboxilatofenilazo)-8-hidroxi-3,6-disulfonatonaftalen-1-ilamino]-6-hidroxi-1,3,5-triazin-2-il]-2,5-dimetilpiperazin-1-il]-6-hidroxi-1,3,5-triazin-2-		413-180-4	–	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	ilamino-1-hidroxi-3,6-disulfonaftalen-2-ilazo]-izoftalic							
611-063-00-4	[4′-(8-acetilamino-3,6-disulfonat-2-naftilazo)-4″-(6-benzoilamino-3-sulfonato-2-naftilazo)-bifenil-1-3′-3″,1‴-tetraolat-*O*,*O*′,*O*″,*O*‴]cupru (II) de trisodiu		413-590-3	164058-22-4	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
612-008-00-7	anilină		200-539-3	62-53-3	Carc. Cat. 3; R40 Muta. Cat.3; R68 T; R23/24/25-48/23/24/25 Xi; R41 R43 N; R50	T; N R: 23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-68-50 S: (1/2-)26-27-36/37/39-45-46-61-63	C ≥ 25 %: T, N; R23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-50-68 10 % ≤ C < 25 %: T; R20/21/22-40-41-43-48/23/24/25-68 1 % ≤ C < 10 %: T; R20/21/22-40-43-48/23/24/25-68 0,2 % ≤ C < 1 %: Xn; R48/20/21/22	
612-009-00-2	săruri de anilină	A	–	–	Carc. Cat. 3; R40 Muta. Cat. 3; R68 T; R23/24/25 Xi; R41 R43 N; R50	T; N R: 23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-68-50 S: (1/2-)26-27-36/37/39-45-61-63	C ≥ 25 %: T, N; R23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-50-68 10 % ≤ C < 25 %: T; R20/21/22-40-41-43-48/23/24/25-68 1 % ≤ C < 10 %: T; R20/21/22-40-43-48/23/24/25-68 0,2 % ≤ C < 1 %: Xn; R48/20/21/22	
612-010-00-8	cloroaniline, cu excepția celor menționate în prezenta anexă	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-naftilamină β-naftilamină	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	fenilhidrazină [1] clorură de fenilhidrazină [2] clorhidrat de fenilhidrazină [3] sulfat de fenilhidrazină (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 Xi; R36/3 R438 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	nitrotoluidine, cu excepția celor menționate	C	–	–	T; R23/24/25	T; N		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
	în prezenta anexă				R33 N; R51-53	R: 23/24/25-33-51/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61		
612-035-00-4	2-metoxianilină *o*-anisidină	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	benzidină 1,1′-bifenil-4,4′-diamină 4,4′-diaminodifenil bifenil-4,4′-ilendiamină	E	202-199-1	92-87-5	Carc. Cat. 1; R45 Xn; R22 N; R50-53	T; N R: 45-22-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R45-22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R45-51/53 0,01 % ≤ C < 2,5 %: T; R45	
612-051-00-1	4,4′-metilendianilină 4,4′-diaminodifenilmetan	E	202-974-4	101-77-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 T; R39/23/24/25 Xn; R48/20/21/22 R43 N; R51-53	T; N R: 45-39/23/24/25-43-48/20/21/22-68-51/53 S: 53-45-61		
612-054-00-8	*N*,*N*-dietilanilină		202-088-8	91-66-7	T; R23/24/25 R33 N; R51-53	T; N R: 23/24/25-33-51/53 S: (1/2-)28-37-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/24/25-33-51/53 5 % ≤ C < 25 %: T; R23/24/25-33-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xn; R20/21/22-33-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/21/22-33	
612-056-00-9	*N*,*N*-dimetil-*p*-toluidină [1] *N*,*N*-dimetil-*m*-toluidină [2] *N*,*N*-dimetil-*o*-toluidină [3]	C	202-805-4 [1] 204-495-6 [2] 210-199-8 [3]	99-97-8 [1] 121-72-2 [2] 609-72-3 [3]	T; R23/24/25 R33 R52-53	T R: 23/24/25-33-52/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61	C ≥ 25 %: T; R23/24/25-33-52-53 5 % ≤ C < 25 %: T; R23/24/25-33 1 % ≤ C < 5 %: Xn; R20/21/22-33	
612-059-00-5	3,6-diazaoctan-1,8-diamină trietilen tetramină		203-950-6	112-24-3	Xn; R21 C; R34 R43 R52-53	C R: 21-34-43-52/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: C; R21-34-43-52/53 10 % ≤ C < 25 %: C; R34-43 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/38-43 1 % ≤ C < 5 %: Xi; R43	
612-060-00-0	3,6,9-triazaundecan-1,11-diamină tetraetilenpentamină		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	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
612-064-00-2	3,6,9,12-tetraazatetradecan-1,14-diamină pentaetilen hexamină		223-775-9	4067-16-7	C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: C, N; R34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R34-43-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36/38-43-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi, N; R43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	
612-065-00-8	polietilenamine, cu excepția celor menționate în prezenta anexă		–	–	Xn; R21/22 C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 21/22-34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: C, N; R21/22-34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R34-43-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36/38-43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	
612-066-00-3	diciclohexilamină		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-aminometil-3,5,5-trimetilciclohexilamină izoforon diamină		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	dimetilnitrozamină *N*-nitrozodimetilamină	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; 45-22-23-48/22-52/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T; R45-23-48/22-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23-48/22	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
							0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-20 0,001 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
612-086-00-2	amitraz (ISO) *N*,*N*-bis(2,4-xililiminometil) metilamină		251-375-4	33089-61-1	Xn; R22-48/22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-48/22-50/53 S: (2-)22-60-24-61-36/37	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-43-48/22-50-53 10 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R43-48/22-50-53 2,5 % ≤ C < 10 %: N; R43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: N; R43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
612-087-00-8	guazatină (ISO) 1,1′-iminobis(octametilen)diguanidină		236-855-3	13516-27-3	T+; R26 Xn; R21/22 Xi; R37/38-41 N; R50-53	T+; N R: 21/22-26-37/38-41-50/53 S: (1/2-)26-28-36/37/39-38-45-46-60-61-63		
612-094-00-6	clorhidrat de 4-(2-clor-4-trifluormetil)fenoxi-2-fluoroanilină		402-190-4	–	T; R48/25 Xn; R22-48/20 Xi; R41 R43 N; R50-53	T; N R: 22-41-43-48/20-48/25-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
612-121-00-1	amine, polietilenpoli -HEPA		268-626-9	68131-73-7	Xn; R21/22 C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 21/22-34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: C, N; R21/22-34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R34-43-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36/38-43-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi, N; R43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	
612-136-00-3	*N*-izopropil-*N*′-fenil-*p*-fenilendiamină		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	diaminotoluen, produs tehnic – amestec de [2] şi [3] metil-fenilen diamină [1]	E	246-910-3 [1] 202-453-1 [2]	25376-45-8 [1] 95-80-7 [2] 823-40-5 [3]	Carc. Cat. 2; R45 T; R25 Xn; R20/21 Xi; R36	T; N R: 45-20/21-25-36-43-51/53 S: 53-45-61		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	4-metil-*m*-fenilen diamină [2] 2-metil-*m*-fenilen diamină [3]		212-513-9 [3]		R43 N; R51-53			
613-009-00-5	2,4,6-triclor-1,3,5-triazină clorură cianurică		203-614-9	108-77-0	T+; R26 Xn; R22 C; R34 R43 R14	T+; C R: 14-22-26-34-43 S: (1/2-)26-28-36/37/39-45-46-63	C ≥ 25 %: T+; R22-26-34-43 10 % ≤ C < 25 %: T+; R26-34-43 7 % ≤ C < 10 %: T+; R26-36/37/38-43 5 % ≤ C < 7 %: T; R23-36/37/38-43 1 % ≤ C < 5 %: T; R23-43 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20	
613-011-00-6	amitrol (ISO) 1,2,4-triazol-3-il amină		200-521-5	61-82-5	Repr. Cat.3; R63 Xn; R48/22 N; R51-53	Xn; N R: 48/22-63-51/53 S: (2-)13-36/37-61		
613-033-00-6	2-metilaziridină propilenimină	E	200-878-7	75-55-8	F; R11 Carc. Cat. 2; R45 T+; R26/27/28 Xi; R41 N; R51-53	F; T+; N R: 45-11-26/27/28-41-51/53 S: 53-45-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-26/27/28-41-51/53 10 % ≤ C < 25 %: T+; R45-26/27/28-41-52/53 7 % ≤ C < 10 %: T+; R45-26/27/28-36-52/53 5 % ≤ C < 7 %: T; R45-23/24/25-36-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T; R45-23/24/25-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23/24/25 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-20/21/22 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
613-040-00-4	azaconazol (ISO) 1-{[2-(2,4-diclorfenil)-1,3-dioxolan-2-il]metil}-1*H*-1,2,4-triazol		262-102-3	60207-31-0	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)46		
613-043-00-0	imazalil sulfat (ISO) pudră hidrogenosulfat de 1-[2-(aliloxi)etil-2-(2,4-diclorfenil)]1H-imidazoliu [1] hidrogenosulfat de (±)-1-[2-(aliloxi)etil-2-(2,4-diclorfenil)]1 H-imidazoliu [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	carbendazină (ISO)		234-232-0	10605-21-7	Muta. Cat. 2; R46	T; N		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
	benzimidazol-2-il carbamat de metil				Repr. Cat.2; R60-61 N; R50-53	R: 46-60-61-50/53 S: 53-45-60-61		
613-049-00-3	benomil (ISO) 1-(butilcarbamoil)benzimidazol-2-il-carbamat de metil		241-775-7	17804-35-2	Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat.2; R60-61 Xi; R37/38 R43 N; R50-53	T; N R: 46-60-61-37/38-43-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 20 %: T, N; R46-60-61-37/38-43-50-53 2,5 % ≤ C < 20 %: T, N; R46-60-61-43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: T, N; R46-60-61-43-51-53 0,5 % ≤ C < 1 %: T, N; R46-60-61-51-53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T, N; R46-51-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R46-52-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: R52-53	
613-051-00-4	molinat (ISO) *S*-etil 1-perhidroazepin carbotioate		218-661-0	2212-67-1	Carc. Cat3; R40 Repr. Cat3; R62 Xn; R20/22 Xn; R48/22 R43 N; R50-53	T; N R: 20/22-40-43-48/22-63-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/22-40-43-48/22-62-50-53 10 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R40-43-48/22-62-50-53 5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R40-43-62-50-53 1 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R40-43-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
613-058-00-2	permetrină (ISO) 3-(2,2-diclorvinil)-2-dimetilciclopropanocarboxilat de 3-fenoxibenzil		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-diclor-5-etil-5-metilimidazolidin-2,4-dionă		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-benzizotiazol-3(2*H*)-onă 1,2-benzizo-3(2*H*)-tiazolonă		220-120-9	2634-33-5	Xn; R22 Xi; R38-41	Xn; N R: 22-38-41-43-50	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-38-41-43-50	

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
					R43 N; R50	S: (2-)24-26-37/39-61	20 % ≤ C < 25 %: Xi; R38-41-43 10 % ≤ C < 20 %: Xi; R41-43 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36-43 0,05 % ≤ C < 5 %: Xi; R43	
613-112-00-5	2-octil-2*H*-izotiazol-3-onă		247-761-7	26530-20-1	T; R23/24 Xn; R22 C; R34 R43 N; R50-53	T; N R: 22-23/24-34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R22-23/24-34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R20/21-34-43-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/21-36/38-43-51/53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R20/21-43-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: Xi, N; R43-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5%: Xi; R43-52/53 0,05 % ≤ C < 0,25 %: Xi; R43	
613-124-00-0	fenpropimorf *cis*-4-[3-(*p*-*terț*-butilfenil)-2-metilpropil]-2,6-dimetilmorfolină		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	metamitron 4-amino-3-metil-6-fenil-1,2,4-triazin-5-onă		255-349-3	41394-05-2	Xn; R22 N; R50	Xn; N R: 22-50 S: (2-)61		
613-167-00-5	amestec de: 5-cloro-2-metil-4-izotiazolin-3-onă [Nr. CE 247-500-7] și 2-metil-2*H*-izotiazol-3-onă [Nr. CE 220-239-6] (3:1) amestec de: 5-cloro-2-metil-4-izotiazolin-3-onă [Nr. CE 247-500-7] și 2-metil-4-izotiazolin-3-onă [Nr. CE 220-239-6] (3:1)		–	55965-84-9	T; R23/24/25 C; R34 R43 N; R50-53	T; N R: 23/24/25-34-43-50/53 S: (2-)26-28-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/24/25-34-43-50/53 3 % ≤ C < 25 %: C, N; R20/21/22-34-43-51/53 2,5% ≤ C < 3 %: C, N; R34-43-51/53 0,6 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R34-43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,6 %: Xi; R33/38-43-52/53 0,06 % ≤ C < 0,25 %: Xi; R36/38-43 0,0015 % ≤ C < 0,06 %: Xi; R43	
613-175-00-9	epoxiconazol (2*RS*,3*SR*)-3-(2-clorofenil)-2-(4-fluorofenil)-[(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)metil]oxiran		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		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
615-001-00-7	izocianat de metil metilizocianat		210-866-3	624-83-9	F+; R12 Repr. Cat.3; R63 T+; R26 T; R24/25 R42/43 Xi; R37/38-41	F+; T+ R: 12-24/25-26-37/38-41-42/43-63 S: (1/2-)26-27/28-36/37/39-45-63		
615-004-00-3	săruri ale acidului tiocianic tiocianaţi, sulfocianaţi săruri ale acidului sulfocianic	A	–	–	Xn; R20/21/22 R32 R52-53	Xn R: 20/21/22-32-52/53 S: (2-)13-61		
615-006-00-4	diizocianat de 2-metil-*m*-fenilen 2,4-diizocianat de toluen [1] diizocianat de 4-metil-*m*-fenilen 2,6-diizocianat de toluen [2] diizocianat de *m* -tolidendiizocianat de toluen [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	izocianat de 3-izocianatometil-3,5,5-trimetilciclohexil 3-izocianometil-3,5,5-trimetilciclohexilizocianat diizocianat de izoforon		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	tiocianatoacetat de *exo*-1,7,7-trimetildiciclo[2,2,1]-2-heptil		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	alaclor (ISO) 2-cloro-2′6′-dietil-*N*-(metoximetil)acetanilidă		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-dimetil-2,5-dioxooxazolidin-1-il)-2′-clor-5′-(2-(2,4-di-terţ		402-260-4	–	R53	R: 53 S: 61		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	-pentilfenoxi)butiramido)-4,4-dimetil-3-oxovaleranilidă							
617-002-00-8	hidroperoxid de α,α-dimetilbenzil hidroperoxid de cumen 80 %		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	hidroperoxid de 1,2,3,4-tetrahidro-1-naftil hidroperoxid de tetralină		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	ulei de creozot, fracția acenaftenică, fără acenaften Redistilate din uleiuri de spălare [ULei rămas după eliminarea, prin cristalizare, a acenaftenului din uleiul acenaftenic din gudronul de huilă. Se compune în principal din naftalină și alchilnaftaline.]	H	292-606-9	90640-85-0	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-080-00-1	reziduuri (gudroane de huilă), ulei de creozot distilat Redistilat de ulei de spălare [Reziduu în urma distilării fracționate a uleiului de spălare cu interval de fierbere aproximativ de la 270 °C la 330 °C (518 °F la 626 °F). Se compune în principal din hidrocarburi aromatice biciclice și hidrocarburi heterociclice.]	H	295-506-3	92061-93-3	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-098-00-X	ulei de creozot, fracția acenaftenică ULei de spălare [Amestec complex de hidrocarburi provenite prin distilarea gudronului de huilă, cu interval de fierbere aproximativ de la	H	292-605-3	90640-84-9	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
	240 °C la 280 °C (464 °F la 536 °F). Se compune în principal din acenaften, naftalină şi alchilnaftalină.]							
648-099-00-5	ulei de creozot [Amestec complex de hidrocarburi provenite prin distilarea gudronului de huilă. Se compune în principal din hidrocarburi aromatice şi poate conţine cantităţi importante de acizi şi baze din gudron. Prezintă un interval de distilare aproximativ de la 200 °C la 325 °C (392 °F la 617 °F).]	H	263-047-8	61789-28-4	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-100-00-9	ulei de creozot, distilat cu punct înalt de fierbere ULei de spălare [Fracţie de distilare cu punct înalt de fierbere, obţinută prin carbonizarea la temperatură înaltă a cărbunelui bituminos, apoi rafinată pentru separarea excesului de săruri cristaline. Se compune în principal din ulei de creozot, o parte din sărurile aromatice policiclice intrând în mod normal în compoziţia distilatelor de gudron de huilă fiind eliminate. Fracţia este lipsită de cristale de la temperatura de 5 °C (41°F).]	H	274-565-9	70321-79-8	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-101-00-4	creozot [Distilat din gudronul de huilă, obţinut prin carbonizarea la temperatură înaltă a cărbunelui bituminos. Se compune în principal din hidrocarburi aromatice, acizi şi baze din gudron.]	H	232-287-5	8001-58-9	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-102-00-X	reziduuri de extracţie acide (cărbune), ulei de creozot Reziduu de extracţie de ulei de spălare [Amestec complex de hidrocarburi provenite din fracţia lipsită de baze prin distilarea gudronului de huilă, cu interval de fierbere aproximativ de la 250 °C la 280 °C (482 °F la 536 °F). Se compune în principal din bifenil şi din	H	310-189-4	122384-77-4	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	difenilnaftaline izomerice.]							
648-138-00-6	ulei de creozot, distilat cu punct de fierbere scăzut ULei de spălare [Fracție de distilare cu punct scăzut de fierbere, obținută prin carbonizarea la temperatură înaltă a cărbunelui bituminos, rafinată apoi în scopul separării excedentului de săruri cristaline. Se compune în principal din ulei de creozot, după eliminarea unei părți a sărurilor aromatice policiclice ce intră în mod normal în compoziția distilatelor de gudron de huilă. Fracția este liberă de cristale de la temperatura de aproximativ 38 °C (100 °F).]	H	274-566-4	70321-80-1	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-001-00-3	extracte (petroliere), solvent naftenic ușor de distilare	H	265-102-1	64742-03-6	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-002-00-9	extracte (petroliere), solvent parafinic greu de distilare	H	265-103-7	64742-04-7	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-003-00-4	extracte (petroliere), solvent parafinic ușor de distilare	H	265-104-2	64742-05-8	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-004-00-X	extracte (petroliere), solvent naftenic greu de distilare	H	265-111-0	64742-11-6	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-005-00-5	extracte (petroliere), solvent din motorină în vid scăzut	H	295-341-7	91995-78-7	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-006-00-0	hidrocarburi, C_{26-55}, bogate în compuși aromatici	H	307-753-7	97722-04-8	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-062-00-6	gaze (petroliere), distilate primare din instalația de depropanare după cracare catalitică a fracțiunii nafta, bogate în C_3, dezacificate Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, produs prin fracționarea hidrocarburilor de cracare catalitică și supuse unui tratament cu scopul eliminării impurităților acide. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_2 la C_4, în special C_3.]	H K	270-755-0	68477-73-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
649-063-00-1	gaze (petroliere), de la instalaţia de cracare catalitică Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin distilarea produselor de cracare catalitică. Se compune în principal din hidrocarburi alifatice cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_6.]	H K	270-756-6	68477-74-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-064-00-7	gaze (petroliere), cracare catalitică, bogate în C_{1-5} Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut din distilarea produselor de cracare catalitică. Se compune din hidrocarburi alifatice cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_6 predominând C_1 şi C_5.]	H K	270-757-1	68477-75-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-065-00-2	gaze (petroliere), frunţi de la instalaţia de stabilizare nafta polimerizată catalitic, bogate în C_{2-4} Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, produs prin stabilizare prin fracţionare a benzinei nafta polimerizată catalitic. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_2 la C_6, în special C_{2-4}.]	H K	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	gaze (petroliere), reformare catalitică, bogate în C_{1-4} Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, rezultat prin distilarea produselor de reformare catalitică. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_6, predominând C_1 şi C_4.]	H K	270-760-8	68477-79-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-067-00-3	gaze (petroliere), fracţii de alimentare pentru alchilări olefinic-parafinice C_{3-5}	H K	270-765-5	68477-83-8	Carc. Cat. 1; R45	T		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi olefinice și parafinice cu număr de atomi de carbon de la C_3 la C_5, utilizate ca materii prime pentru procesele de alchilare. Temperatura critică a acestor combinații este mai scăzută decât temperatura mediului ambiant.]				Muta. Cat. 2; R46	R: 45-46 S: 53-45		
649-068-00-9	gaze (petroliere), bogate în C_4 Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut din distilarea produselor de fracționare catalitică. Se compune din hidrocarburi alifatice cu număr de atomi de carbon de la C_3 la C_5, cu C_4 predominant.]	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	gaze (petroliere), distilate primare din instalația de deetanare Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin distilarea fracțiilor gaz și benzină de cracarea catalitică. Conține în principal etan și etilenă.]	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	gaze (petroliere), distilate primare din coloana de deizobutanizare Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, rezultat din distilarea atmosferică a unui flux de butan-butenă. Se compune din hidrocarburi alifatice cu număr de atomi de carbon de la C_3 la C_4.]	H K	270-769-7	68477-87-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-071-00-5	gaze (petroliere), din coloana de depropanizare uscată, bogate în propenă Gaz petrolier [Amestec complex	H K	270-772-3	68477-90-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
	de hidrocarburi, obţinut prin distilarea produselor din fracţiunile gaz şi benzină de la cracarea catalitică. Se compune în principal din propilenă, cu mici cantităţi de etan şi propan.]							
649-072-00-0	gaze (petroliere), distilate primare din coloanele de depropanizare Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin distilarea produselor din fracţiunile de gaz şi gazolină ale procesului de cracare catalitică. Se compune din hidrocarburi alifatice, cu număr de atomi de carbon de la C_2 la C_4.]	H K	270-773-9	68477-91-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-073-00-6	gaze (petroliere), distilate primare din instalaţia de recuperare a gazelor de la depropanizare Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin fracţionarea diverselor amestecuri de hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_4, în special propan.]	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	gaze (petroliere), unitatea de alimentare Girbatol Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, utilizat ca încărcătură în instalaţia Girbatol, destinată eliminării hidrogenului sulfurat. Se compune din hidrocarburi alifatice, cu număr de atomi de carbon de la C_2 la C_4.]	H K	270-778-6	68477-95-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-075-00-7	gaze (petroliere), de la coloana de rectificare nafta izomerizată, bogate în C_4, lipsite de hidrogen sulfurat Gaz petrolier	H K	270-782-8	68477-99-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
649-076-00-2	gaz rezidual (petrolier), fracționarea uleiului limpezit de cracare catalitică și a reziduului de cracare termică în vid Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin fracționarea uleiului limpezit de cracare catalitică și a reziduului de vid de cracare termică. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_6.]	H K	270-802-5	68478-21-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-077-00-8	gaz rezidual (petrolier), din absorberul de stabilizare de cracare catalitică a fracțiunii nafta Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, rezultat din stabilizarea nafta de cracare catalitică. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_6.]	H K	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	gaz rezidual (petrolier), fracționarea produselor de cracare catalitică, de reformare catalitică și de hidrodesulfurare Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, produs la fracționarea produselor de cracare catalitică, de reformare catalitică și de hidrodesulfurare tratată pentru eliminarea impurităților acide. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_5.]	H K	270-804-6	68478-24-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-079-00-9	gaz rezidual (petrolier), coloana de rectificare-stabilizare a nafta reformată catalitic Gaz petrolier	H K	270-806-7	68478-26-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
	[Amestec complex de hidrocarburi, produs la stabilizarea prin fracţionarea nafta de reformare catalitică. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_4.]							
649-080-00-4	gaz rezidual (petrolier), amestec de la instalaţia de gaz saturat, bogat în C_4 Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut din stabilizarea prin fracţionarea nafta de distilare primară, din gazul rezidual de distilare şi din gazul rezidual de stabilizare a nafta reformată catalitic. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_3 la C_6, în special butan şi izobutan.]	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	gaz rezidual (petrolier), instalaţia de recuperare a gazului saturat, bogat în C_{1-2} Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut din fracţionarea gazului rezidual de distilare, a nafta de distilare primară şi a gazului rezidual de stabilizare a nafta reformată catalitic. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_5, în special metan şi etan.]	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	gaz rezidual (petrolier), cracarea termică în vid a reziduurilor Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut din cracarea termică în vid a reziduurilor. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_5.]	H K	270-815-6	68478-34-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-083-00-0	hidrocarburi, bogate în C_{3-4}, distilat petrolier Gaz petrolier	H K	270-990-9	68512-91-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	[Amestec complex de hidrocarburi, produs prin distilarea și condensarea țițeiului. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon în șirul de la C_3 la C_5, în special C_3 și C_4.]							
649-084-00-6	gaze (petroliere), coloana de dehexanizare a nafta de distilare primară, interval larg Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin fracționarea nafta de distilare primară, cu interval larg de fierbere. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_2 la C_6.]	H K	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	gaze (petroliere), de la coloana de depropanizare a produșilor de hidrocracare, bogate în hidrocarburi Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin distilarea produselor de hidrocracare. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_4. Poate conține și hidrogen și hidrogen sulfurat, în cantități mici.]	H K	271-001-3	68513-16-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-086-00-7	gaze (petroliere), stabilizarea fracțiunii nafta ușoară, de distilare primară Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin stabilizarea fracțiunii nafta ușoară, de distilare primară. Se compune din hidrocarburi alifatice saturate cu număr de atomi de carbon de la C_2 la C_6.]	H K	271-002-9	68513-17-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-087-00-2	reziduuri (petroliere), de la separatorul de alchilare, bogate în C_4 Gaz petrolier	H K	271-010-2	68513-66-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	[Reziduu complex din distilarea fluxurilor provenite din diferite operații de rafinare. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_4 la C_5, în special butan, cu interval de fierbere aproximativ de la – 11,7 °C la 27,8 °C (11 °F la 82 °F).]							
649-088-00-8	hidrocarburi, C_{1-4} Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, produs în urma operațiilor de cracare termică și absorbție și a distilării țițeiului. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_4 și interval de fierbere aproximativ de la – 164 °C la – 0,5 °C (– 263 °F la 31 °F).]	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	hidrocarburi, C_{1-4} desulfurate Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin desulfurarea hidrocarburilor gazoase, în scopul de a converti mercaptanii sau de a elimina impuritățile acide. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_4 și interval de fierbere aproximativ de la – 164 °C la – 0,5 °C (– 263 °F la 31 °F).]	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	Hidrocarburi, C_{1-3} Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_3 și interval de fierbere aproximativ de la – 164 °C la – 42 °C (– 63 °F la – 44 °F).]	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	hidrocarburi, C_{1-4},	H K	271-261-8	68527-19-5	Carc. Cat. 1; R45	T		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	fracții din coloanele de debutanizare Gaz petrolier				Muta. Cat. 2; R46	R: 45-46 S: 53-45		
649-092-00-X	gaze umede (petroliere), C_{1-5} Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, produs prin distilarea țițeiului și/sau prin cracarea motorinei de distilare. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_5.]	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	hidrocarburi, C_{2-4} Gaz petrolier	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	hidrocarburi, C_3 Gaz petrolier	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	gaze (petroliere), alimentarea instalației de alchilare Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, produs prin cracarea catalitică a motorinei. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_3 la C_4.]	H K	271-737-5	68606-27-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-096-00-1	gaze (petroliere), fracționarea reziduurilor de depropanizare Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin fracționarea reziduurilor de depropanizare. Se compune în principal din butan, izobutan și butadienă.]	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	gaze (petroliere), amestec de rafinărie Gaz petrolier [Amestec complex obținut din diverse procese de rafinare. Se compune din hidrogen, hidrogen sulfurat și hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_5.]	H K	272-183-7	68783-07-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-098-00-2	Gaze (petroliere), cracare	H K	272-203-4	68783-64-2	Carc. Cat. 1; R45	T		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
	catalitică Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin distilarea produselor rezultate din cracarea catalitică. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_3 la C_4.]				Muta. Cat. 2; R46	R: 45-46 S: 53-45		
649-099-00-8	gaze (petroliere), C_{2-4}, desulfurate Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin desulfurarea unui distilat petrolier, în scopul de a converti mercaptanii sau de a elimina impurităţile acide. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_2 la C_4 şi interval de fierbere aproximativ de la – 51 °C la – 34 °C (– 60 °F la – 30 °F).]	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	gaze (petroliere), fracţionarea ţiţeiului Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, produs din fracţionarea ţiţeiului. Se compune din hidrocarburi alifatice saturate cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_5.]	H K	272-871-7	68918-99-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-101-00-7	gaze (petroliere), instalaţia de dehexanizare Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut din fracţionarea fluxurilor de benzină nafta combinate. Se compune din hidrocarburi alifatice saturate cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_5.]	H K	272-872-2	68919-00-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
649-102-00-2	Gaze (petroliere), stabilizarea fracționării benzinei ușoare de distilare primară Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin fracționarea benzinei ușoare de distilare primară. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_5.]	H K	272-878-5	68919-05-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-103-00-8	gaze (petroliere), rectificare și desulfurare a fracțiunii nafta Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi prin desulfurarea benzinei solvent nafta și separat de fracțiunea nafta. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_4.]	H K	272-879-0	68919-06-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-104-00-3	gaze (petroliere), reformarea catalitică a fracțiunii nafta de distilare primară Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin reformarea catalitică a fracțiunii nafta de distilare primară și fracționarea întregului efluent. Se compune din metan, etan și propan.]	H K	272-882-7	68919-09-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-105-00-9	gaze (petroliere), fruntile de la instalația de separare, cracare catalitică Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, produs prin fracționarea încărcăturii separatorului C_3-C_4. Se compune în principal din hidrocarburi cu C_3.]	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	gaze (petroliere), stabilizarea fracțiilor de distilare primară	H K	272-883-2	68919-10-8	Carc. Cat. 1; R45	T		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
	Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin fracţionarea lichidului provenit de la prima coloană utilizată în distilarea ţiţeiului. Se compune din hidrocarburi alifatice saturate cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_4.]				Muta. Cat. 2; R46	R: 45 S: 53-45		
649-107-00-X	gaze (petroliere), debutanizarea nafta cracată catalitic Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut din fracţionarea benzinei nafta cracată catalitic. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_4.]	H K	273-169-3	68952-76-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-108-00-5	gaz rezidual (petrolier), stabilizarea fracţiunii nafta şi a distilatului de cracare catalitică Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin fracţionarea benzinei nafta şi a distilatului de cracare catalitică. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_4.]	H K	273-170-9	68952-77-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-109-00-0	gaz rezidual (petrolier), distilat de cracare termică, absorberul de motorină şi benzină nafta Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin separarea distilatelor de cracare termină, a benzinei nafta şi a motorinei. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_6.]	H K	273-175-6	68952-81-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-110-00-6	gaz rezidual (petrolier), stabilizatorul de fracţionare a hidrocarburilor de cracare termică, cocsificarea petrolului	H K	273-176-1	68952-82-9	Carc. Cat. 1; R45	T		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin stabilizarea fracționării a hidrocarburilor cracate termic rezultate din cocsificarea petrolului. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_6.]				Muta. Cat. 2; R46	R: 45-46 S: 53-45		
649-111-00-1	gaze ușoare de cracare cu abur (petroliere), concentrarea butadienei Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin distilarea produselor cracării termice. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon predominant C_4.]	H K	273-265-5	68955-28-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-112-00-7	gaze (petroliere), distilatul primar din stabilizatorul de reformare catalitică a fracțiunii nafta de distilare primară Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin reformarea catalitică a benzinei nafta de distilare primară și fracționarea în totalitate a efluentului. Se compune din hidrocarburi alifatice saturate cu număr de atomi de carbon de la C_2 la C_4.]	H K	273-270-2	68955-34-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-113-00-2	hidrocarburi, C_4 Gaz petrolier	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	alcani, C_{1-4}, bogați în C_3 Gaz petrolier	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	gaze (petroliere), cracare cu abur, bogate în C_3 Gaz petrolier [Amestec complex	H K	295-404-9	92045-22-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
	de hidrocarburi, obţinut prin distilarea produselor de cracare în abur. Se compune în principal din propilenă cu mici cantităţi de propan, iar intervalul de fierbere se situează de la – 70 °C la 0 °C (– 94 °F la 32 °F).]							
649-116-00-9	hidrocarburi, C_4, distilat de cracare cu abur Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin distilarea produselor de cracare în fază de vapori. Se compune în principal din hidrocarburi cu 4 atomi de carbon, în special 1-butenă şi 2-butenă, de asemenea butan şi izobutenă, cu interval de fierbere aproximativ de la – 12 °C la – 5 °C (10,4 °F la 41 °F).]	H K	295-405-4	92045-23-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-117-00-4	gaze petroliere lichefiate, desulfurate, fracţiuni de C_4 Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin desulfurarea unui amestec de gaz petrolier lichefiat, cu scopul de a oxida mercaptanii sau de a elimina impurităţile acide. Se compune în principal din hidrocarburi saturate şi nesaturate ale C_4.]	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	rafinate C_{3-5} saturate şi nesaturate (petroliere), lipsite de butadienă, extracţie cu acetat de amoniu cupros a fracţiei C_4 cracată cu abur, fără butadienă Gaz petrolier	H K	307-769-4	97722-19-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-120-00-0	gaze (petroliere), sistem de alimentare cu amine Gaz de rafinărie [Gaze de alimentare a sistemului care asigură eliminarea hidrogenului sulfurat prin tratament cu amine. Se compun în principal din hidrogen. Pot conţine monoxid şi dioxid de carbon,	H K	270-746-1	68477-65-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	hidrogen sulfurat și hidrocarburi alifatice cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_5.]							
649-121-00-6	gaze (petroliere), benzen, fără hidrodesulfare Gaz de rafinărie [Gaze reziduale de la instalația de producere a benzenului. Se compun în principal din hidrogen. Pot conține monoxid de carbon și hidrocarburi cu număr de atomi de carbon de la C_1 la C_6, în special benzen.]	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	gaze (petroliere), reciclarea benzenului, bogate în hidrogen Gaz de rafinărie [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin reciclarea gazelor de la instalația de producere a benzenului. Se compune în principal din hidrogen, cu mici cantități de monoxid de carbon și de hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_1 și C_6.]	H K	270-748-2	68477-67-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-123-00-7	gaze de ulei de amestec (petroliere), bogate în hidrogen și azot Gaz de rafinărie [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin distilarea unui ulei de amestec. Se compune în principal din hidrogen și azot, cu mici cantități de monoxid și de dioxid de carbon și de hidrocarburi alifatice cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1 și C_5.]	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	gaze (petroliere), distilate primare de la reformarea catalitică a benzinei nafta Gaz de rafinărie [Amestec complex de hidrocarburi, obținut din stabilizarea benzinei nafta reformată	H K	270-759-2	68477-77-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
	catalitic. Se compune din hidrogen şi din hidrocarburi alifatice saturate cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1 şi C_4.]							
649-125-00-8	gaze de reciclare (petroliere), reformarea catalitică a fracţiei C_6-$_8$ Gaz de rafinărie [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin distilarea produselor de reformare catalitică a încărcăturilor C_6-C_8 şi reciclat pentru recuperarea hidrogenului. Poate conţine mici cantităţi de monoxid şi de dioxid de carbon, de azot şi de hidrocarburi cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1 şi C_6.]	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	gaze (petroliere), reformarea catalitică a fracţiei C_6-$_8$ Gaz de rafinărie [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin distilarea produselor provenite din reformarea catalitică a compuşilor C_6-C_8. Se compune din hidrogen şi din hidrocarburi cu numărul de atomi de carbon între C_1-C_5.]	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	gaze (petroliere), reciclare de reformare catalitică a fracţiei C_{6-8}, bogate în hidrogen Gaz de rafinărie	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	gaze (petroliere), flux returnat C_2 Gaz de rafinărie [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin extracţia hidrogenului într-un flux gazos compus în principal din hidrogen şi din mici cantităţi de azot, monoxid de carbon, metan, etan şi etilenă.	H K	270-766-0	68477-84-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	Conține în principal hidrocarburi ca metanul, etanul și etilena, cu mici cantități de hidrogen, azot și monoxid de carbon.]							
649-129-00-X	gaze acide uscate (petroliere), concentrarea gazelor Gaz de rafinărie [Amestec complex de gaze uscate, provenit dintr-o instalație de concentrare a gazelor. Se compune din hidrogen, hidrogen sulfurat și hidrocarburi cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_3.]	H K	270-774-4	68477-92-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-130-00-5	gaze (petroliere), distilarea gazelor în reabsorberul de concentrare de concentrare Gaz de rafinărie [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin distilarea produselor din diferite fluxuri gazoase într-un reabsorber de concentrare a gazului. Se compune în principal din hidrogen, monoxid și dioxid de carbon, azot, hidrogen sulfurat și din hidrocarburi cu numărul atomilor de carbon între C_1-C_3.]	H K	270-776-5	68477-93-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-131-00-0	gaze (petroliere), absorbție de hidrogen Gaz de rafinărie [Amestec complex obținut prin absorbția hidrogenului într-un amestec bogat în hidrogen. Se compune din hidrogen, monoxid de carbon, azot și metan, cu mici cantități de hidrocarburi cu C_2.]	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	gaze (petroliere), bogate în hidrogen Gaz de rafinărie [Amestec complex separat, prin răcire, ca formă gazoasă, de hidrocarburile gazoase. Se compune în principal din hidrogen, cu mici cantități	H K	270-780-7	68477-97-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	de monoxid de carbon, azot, metan și hidrocarburi cu C_2.]							
649-133-00-1	gaze (petroliere), reciclarea uleiului de amestec hidrotratat, bogate în hidrogen și azot Gaz de rafinărie [Amestec complex obținut prin reciclarea uleiului de amestec hidrotratat. Se compune în principal din hidrogen și azot, cu mici cantități de monoxid și dioxid de carbon și din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_5.]	H K	270-781-2	68477-98-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-134-00-7	gaze (petroliere), reciclare, bogate în hidrogen Gaz de rafinărie [Amestec complex obținut prin reciclarea gazelor de reactor. Se compune în principal din hidrogen, cu mici cantități de monoxid și dioxid de carbon, de azot și hidrogen sulfurat și din hidrocarburi alifatice saturate cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_5.]	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	gaze (petroliere), de la instalația de reformare, bogate în hidrogen Gaz de rafinărie [Amestec complex rezultat din instalația de reformare. Se compune în principal din hidrogen, cu mici cantități de monoxid de carbon și din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_5.]	H K	270-784-9	68478-01-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-136-00-8	gaze (petroliere), de hidrotratare-reformare Gaz de rafinărie [Amestec complex obținut din hidrotratarea din timpul reformării. Se compune în principal din hidrogen,	H K	270-785-4	68478-02-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	metan și etan, cu mici cantități de hidrogen sulfurat și din hidrocarburi alifatice cu număr de atomi de carbon preponderent între C_3-C_5.]							
649-137-00-3	gaze (petroliere), de hidrotratare-reformare, bogate în hidrogen și metan Gaz de rafinărie [Amestec complex obținut din hidrotratarea din timpul reformării. Se compune în principal din hidrogen și din metan, cu mici cantități de monoxid și dioxid de carbon, de azot și din hidrocarburi alifatice saturate cu număr de atomi de carbon preponderent între C_2-C_5.]	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	gaze (petroliere), de la instalația de hidrotratare reformare compensare, bogate în hidrogen Gaz de rafinărie [Amestec complex obținut din hidrotratarea din timpul reformării. Se compune în principal din hidrogen, cu mici cantități de monoxid de carbon și din hidrocarburi alifatice cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_5.]	H K	270-788-0	68478-04-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-139-00-4	gaze (petroliere), distilare la cracarea termică Gaz de rafinărie [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin distilarea produselor de cracare termică. Se compune din hidrogen, hidrogen sulfurat, monoxid și dioxid de carbon și din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_6.]	H K	270-789-6	68478-05-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-140-00-X	gaze reziduale (petroliere), rezultate din coloana de absorbție a instalației de rectificare de cracare catalitică Gaz de rafinărie [Amestec complex de hidrocarburi,	H K	270-805-1	68478-25-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
	obţinut din refracţionarea produselor de cracare catalitică. Se compune din hidrogen şi din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_3.]							
649-141-00-5	gaze reziduale (petroliere) de la separatorul de fracţiuni nafta reformate catalitic Gaz de rafinărie [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut din reformarea catalitică a produsului fracţiuni nafta de distilare primară. Se compune din hidrogen şi din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_6.]	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	gaze reziduale (petroliere), de la stabilizatorul de fracţiuni fracţiuni nafta reformate catalitic Gaz de rafinărie [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin stabilizarea fracţiunilor nafta reformate catalitic. Se compune din hidrogen şi din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_6.]	H K	270-808-8	68478-28-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-143-00-6	gaze reziduale (petroliere), separatorul instalaţiei de hidrotratare a distilatului cracat Gaz de rafinărie [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin tratarea distilatelor de cracare cu hidrogen, în prezenţa unui catalizator. Se compune din hidrogen şi din hidrocarburi alifatice saturate cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_5.]	H K	270-809-3	68478-29-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-144-00-1	gaze (petroliere), de la separatorul de fracţiuni nafta hidrodesulfurată de la distilarea primară Gaz de rafinărie [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin	H K	270-810-9	68478-30-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	hidrodesulfurarea fracțiunilor nafta de distilare primară. Se compune din hidrogen și din hidrocarburi alifatice saturate cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_6.]							
649-145-00-7	gaze (petroliere), frunțile de la stabilizatorul de fracțiuni nafta reformată catalitic de distilarea primară Gaz de rafinărie [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin reformare catalitică a fracțiunilor nafta de distilare primară, apoi fracționarea în totalitate a efluentului. Se compune din hidrogen, metan, etan și propan.]	H K	270-999-8	68513-14-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-146-00-2	gaze (petroliere), instalația de reformare, efluent expandat în camera de înaltă presiune Gaz de rafinărie [Amestec complex produs prin detenta la presiune înaltă a efluentului de la reactorul de reformare. Se compune în principal din hidrogen, cu mici cantități de metan, etan și propan.]	H K	271-003-4	68513-18-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-147-00-8	gaze (petroliere), instalația de reformare, efluent expandat în camera de joasă presiune Gaz de rafinărie [Amestec complex produs prin detentă la joasă presiune a efluentului de la reactorul de reformare. Se compune în principal din hidrogen, cu mici cantități de metan, etan și propan.]	H K	271-005-5	68513-19-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-148-00-3	gaze (petroliere), distilare gazelor de rafinare a uleiului Gaz de rafinărie [Amestec complex separat prin distilarea unui amestec gazos conținând hidrogen, monoxid și dioxid de carbon	H K	271-258-1	68527-15-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	și hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_1-C_6, sau obținut prin cracarea etanului și a propanului. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_1-C_2, din hidrogen, azot și monoxid de carbon.]							
649-149-00-9	gaze (petroliere), primul distilat de la instalația de depentanizare, hidrotratarea benzenului Gaz de rafinărie [Amestec complex obținut prin hidrogenarea, în prezența unui catalizator, a încărcăturii din instalația de producere a benzenului, urmată de depentanizare. Se compune în principal din hidrogen, etan și propan, cu mici cantități de azot, monoxid și dioxid de carbon și din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_1-C_6. Poate conține urme de benzen.]	H K	271-623-5	68602-82-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-150-00-4	gaze (petroliere), absorberul secundar, fracționarea fracțiilor de cracare catalitică în pat fluidizat Gaz de rafinărie [Amestec complex produs prin fracționarea primului distilat de cracare catalitică în reactorul de cracare catalitică în pat fluidizat. Se compune din hidrogen, azot și hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_1-C_3.]	H K	271-625-6	68602-84-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-151-00-X	produse petroliere, gaze de rafinărie Gaz de rafinărie [Amestec complex compus în principal din hidrogen, cu mici cantități de metan, etan și propan.]	H K	271-750-6	68607-11-4	Car. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
649-152-00-5	gaze (petroliere), separatorul de joasă presiune de hidrocracare Gaz de rafinărie [Amestec complex produs prin separarea lichid-vapor a efluentului din reactorul de hidrocracare. Se compune în principal din hidrogen și din hidrocarburi saturate cu număr de atomi de carbon între C_1-C_3.]	H K	272-182-1	68783-06-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-153-00-0	gaze (petroliere) de rafinărie Gaz de rafinărie [Amestec complex obținut din diverse operații de rafinare a petrolului. Se compune din hidrogen și hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_1-C_3.]	H K	272-338-9	68814-67-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-154-00-6	gaze (petroliere), separatorul produselor de la instalația de platformare Gaz de rafinărie [Amestec complex obținut din reformarea chimică a naftenelor în aromatice. Se compune din hidrogen și hidrocarburi alifatice saturate cu număr de atomi de carbon între C_2-C_4.]	H K	272-343-6	68814-90-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-155-00-1	gaze (petroliere), stabilizatorul de depentenizare a kerosenului acid hidratat Gaz de rafinărie [Amestec complex obținut din stabilizarea produselor de depentanizare a kerosenului hidrotratat. Se compune în principal din hidrogen, metan, etan și propan, cu mici cantități de azot, hidrogen sulfurat, monoxid de carbon și din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_4-C_5.]	H K	272-775-5	68911-58-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
649-156-00-7	gaze (petroliere), kerosen acid hidratat în camera de expandare Gaz de rafinărie [Amestec complex obţinut din instalaţia de hidrogenare catalitică a kerosenului acid. Se compune în principal din hidrogen şi din metan, cu mici cantităţi de azot, monoxid de carbon şi din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_2-C_5.]	H K	272-776-0	68911-59-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-157-00-2	gaze (petroliere), striperul de desulfurare a distilatelor Gaz de rafinărie [Amestec complex separat prin rectificare de produsul lichid al desulfurării. Se compune din hidrogen sulfurat, metan, etan şi propan.]	H K	272-873-8	68919-01-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-158-00-8	gaze (petroliere), fracţionarea produselor de cracare catalitică fluidizată Gaz de rafinărie [Amestec complex produs prin fracţionarea frunţilor de cracare catalitică în pat fluidizat. Se compune din hidrogen, hidrogen sulfurat, azot şi hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_1-C_5.]	H K	272-874-3	68919-02-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-159-00-3	gaze (petroliere), de la absorberul secundar al scruberului (spălătorului) instalaţiei de cracare fluidizată Gaz de rafinărie [Amestec complex produs prin spălarea primului distilat de gaz din reactorul de cracare catalitică în pat fluid. Se compune din hidrogen, azot, metan, etan şi propan.]	H K	272-875-9	68919-03-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
649-160-00-9	gaze (petroliere), de la striperul de desulfurare și hidrotratare a fracțiunii grele distilate Gaz de rafinărie [Amestec complex separat prin rectificarea produsului lichid obținut din desulfurarea prin hidrotratarea unui distilat greu. Se compune din hidrogen, hidrogen sulfurat și din hidrocarburi alifatice saturate cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_5.]	H K	272-876-4	68919-04-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-161-00-4	gaze (petroliere), de la stabilizatorul instalației de platformare, rectificare fracții ușoare de capăt Gaz de rafinărie [Amestec complex obținut prin fracționarea fracțiilor ușoare de capăt din reactorul cu platină al instalației de platformare. Se compune din hidrogen, metan, etan și propan.]	H K	272-880-6	68919-07-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-162-00-X	gaze (petroliere), de la coloana de detenta distilat brut Gaz de rafinărie [Amestec complex produs în prima coloană utilizată în distilarea țițeiului. Se compune din azot și din hidrocarburi alifatice saturate cu numărul atomilor de carbon preponderent între C_1-C_5.]	H K	272-881-1	68919-08-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-163-00-5	gaze (petroliere), de la striperul de gudroane Gaz de rafinărie [Amestec complex obținut prin fracționarea țițeiului redus. Se compune din hidrogen și din hidrocarburi cu numărul atomilor de carbon între C_1-C_4.]	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	gaze (petroliere), de la striperul de uniformizare Gaz de rafinărie [Amestec de hidrogen și de metan	H K	272-885-3	68919-12-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
	obţinut prin fracţionarea produselor din unitatea de uniformizare.]							
649-165-00-6	Gaze reziduale (petroliere), de la separatorul de fracţiuni nafta hidrodesulfurată catalitic Gaz de rafinărie [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin hidrodesulfurarea catalitică a nafta. Se compune din hidrogen, metan, etan şi propan.]	H K	273-173-5	68952-79-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-166-00-1	gaze reziduale (petroliere), hidrodesulfurarea fracţiuni nafta de distilare primară Gaz de rafinărie [Amestec complex obţinut prin hidrodesulfurarea fracţiuni nafta de distilare primară. Se compune din hidrogen şi din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_1-C_5.]	H K	273-174-0	68952-80-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-167-00-7	gaze (petroliere) de la absorberul cu material spongios, rectificarea frunţilor de la desulfurarea motorinei şi cracare catalitică fluidizată Gaz de rafinărie [Amestec complex obţinut prin fracţionarea produselor de cracare catalitică în pat fluid şi de desulfurare a motorinei. Se compune din hidrogen şi din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_1-C_4.]	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	gaze (petroliere), de distilare brută şi cracare catalitică Gaz de rafinărie [Amestec complex produs prin distilarea ţiţeiului şi cracare catalitică. Se compune în principal din hidrogen, hidrogen sulfurat, azot, monoxid de carbon şi din hidrocarburi parafinice	H K	273-563-5	68989-88-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	și oleofinice cu numărul atomilor de carbon între C_1-C_6.]							
649-169-00-8	gaze (petroliere), de la scruberul (spălătorul) de reținere a dietanolaminei din motorină Gaz de rafinărie [Amestec complex produs prin desulfurarea motorinei cu dietanolamină. Se compune în principal din hidrogen sulfurat, hidrogen și hidrocarburi alifatice cu număr de atomi de carbon între C_1-C_5.]	H K	295-397-2	92045-15-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-170-00-3	gaze (petroliere), efluentul de la hidrodesulfurarea motorinei Gaz de rafinărie [Amestec complex obținut prin separarea fazei lichide din efluentul din reacția de hidrogenare. Se compune în principal din hidrogen, hidrogen sulfurat și hidrocarburi alifatice cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_3.]	H K	295-398-8	92045-16-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-171-00-9	gaze (petroliere), purja de la hidrodesulfurarea motorinei Gaz de rafinărie [Amestec complex de gaze obținute din instalația de reformare și din purjele reactorului de hidrogenare. Se compune în principal din hidrogen și hidrocarburi alifatice cu număr de atomi de carbon între C_1-C_4.]	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	gaze (petroliere), efluent din reactorul de hidrogenare, expandare Gaz de rafinărie [Amestec complex de gaze obținute prin detenta efluenților după reacția de hidrogenare. Se compune în principal din hidrogen și hidrocarburi alifatice cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_6.]	H K	295-400-7	92045-18-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
649-173-00-X	gaze (petroliere), reziduurile de presiune înaltă de la cracarea cu abur a naftei Gaz de rafinărie [Amestec complex, amestecul părţilor necondensabile ale produsului obţinut din cracarea cu abur a fracţiuni nafta şi a gazelor reziduale degajate din prepararea substanţelor subsecvente. Se compune în principal din hidrogen şi din hidrocarburi parafinice şi olefinice cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_5, cu care se poate găsi în amestec gazul natural.]	H K	295-401-2	92045-19-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-174-00-5	gaze (petroliere), de la instalaţia de reducere a vâscozităţii reziduului Gaz de rafinărie [Amestec complex obţinut prin reducerea vâscozităţii reziduurilor din cuptor. Se compune în principal din hidrogen sulfurat şi hidrocarburi parafinice şi olefinice cu număr de atomi de carbon între C_1-C_5.]	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	gaze (petroliere), C_{3-4} Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin distilarea produselor de cracare a ţiţeiului. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon predominant de la C_3 până la C_4, în special propan şi propenă şi interval de fierbere aproximativ de la – 51 °C la – 1 °C(– 60 °F la 30 °F).]	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	gaze reziduale (petroliere), cracare catalitică a distilatului şi a nafta, de la absorberul coloanei de rectificare	H K	269-617-2	68307-98-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut din distilarea produselor de cracare catalitică a distilaților și a fracțiunilor nafta. Se compune în principal din hidrocarburi cu numărul de atomi de carbon între C_1-C_4.]							
649-179-00-2	gaze reziduale (petroliere), de la stabilizatorul instalației de rectificare a fracțiunilor nafta polimerizate catalitic Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut din stabilizarea produselor din coloana de fracționare în procesul de polimerizare a fracțiunilor nafta. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_1-C_4.]	H K	269-618-8	68307-99-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-180-00-8	gaze reziduale (petroliere), fără hidrogen sulfurat, reformare catalitică a nafta, de la stabilizatorul instalației de rectificare Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut din stabilizarea produselor din coloana de fracționare în procesul de reformare catalitică a fracțiunilor nafta și din care s-a eliminat hidrogenul sulfurat prin tratarea aminelor. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_4.]	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	gaze reziduale (petroliere), hidrotratarea distilatelor de cracare Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin tratarea cu hidrogen, în prezența unui catalizator, a distilatelor de cracare termică. Se compune în principal din hidrocarburi saturate cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_6.]	H K	269-620-9	68308-01-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
649-182-00-9	gaze reziduale (petroliere), fără hidrogen sulfurat, hidrodesulfurarea distilatului primar Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin hidrodesulfurare catalitică a distilatelor primare şi din care s-a eliminat hidrogenul sulfurat prin tratarea aminelor. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_4.]	H K	269-630-3	68308-10-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-183-00-4	gaze reziduale (petroliere), absorberul instalaţiei de cracare catalitică a motorinei Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut prin distilarea produselor de cracare catalitică a motorinei. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon preponderent între C_1-C_5.]	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	gaze reziduale (petroliere), din instalaţiile de recuperare a gazului Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut din distilarea produselor diverselor fluxuri de hidrocarburi. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon predominant de la C_1 la C_5.]	H K	269-624-0	68308-04-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-185-00-5	gaze reziduale (petroliere), din instalaţiile de recuperare a gazului, deetanizare Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi din distilarea produşilor diverselor fluxuri de hidrocarburi. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon predominant de la C_1 la C_4.]	H K	269-625-6	68308-05-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
649-186-00-0	gaze reziduale (petroliere) deacidifiate, coloana de fracționare de la hidrodesulfurarea distilatului și nafta, acid Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin fracționarea nafta și de distilate hidrodesulfurate, tratat pentru eliminarea impurităților acide. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon predominant între C_1 și C_5.]	H K	269-626-1	68308-06-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-187-00-6	gaze reziduale (petroliere), fără hidrogen sulfurat, de la striperul pentru motorină de vid hidrodesulfurată Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut din stabilizarea prin rectificare a motorinei sub vid, hidrodesulfurată catalitic, din care s-a eliminat hidrogenul sulfurat printr-o tratare cu amine. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_1 și C_6.]	H K	269-627-7	68308-07-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-188-00-1	gaze reziduale (petroliere), fără hidrogen sulfurat, de la stabilizatorul de fracțiuni nafta ușoare de la distilarea primară Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut din stabilizarea fracțiunii nafta ușoare, de distilare primară, din care s-a eliminat hidrogenul sulfurat printr-o tratare cu amine. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_1 și C_4.]	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	gaze reziduale (petroliere), de la deetanizatorul instalației de alimentare cu propan-propilenă pentru alchilare	H K	269-631-9	68308-11-2	Carc. Cat. 1; R45	T		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
	Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin distilare produselor reacției propanului cu propilena. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_1 și C_6.]				Muta. Cat. 2; R46	R: 45-46 S: 53-45		
649-190-00-2	gaze reziduale (petroliere), fără hidrogen sulfurat, hidrodesulfurarea motorinei de vid Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin hidrodesulfurare catalitică a motorinei sub vid și din care s-a eliminat hidrogenul sulfurat printr-o tratare cu amine. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_1 și C_5.]	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	gaze (petroliere), frunți de distilare cracate catalitic (emanații din procesele de cracare catalitică) Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut din distilarea produșilor de cracare catalitică. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon predominant de la C_3 până la C_5 și interval de fierbere aproximativ de la – 48 °C la 32 °C (– 54 °F la 90 °F).]	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	alcani, C_{1-2} Gaz petrolier	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	alcani, C_{2-3} Gaz petrolier	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	alcani, C_{3-4} Gaz petrolier	H K	270-653-6	68475-59-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
						S: 53-45		
649-196-00-5	alcani, C_{4-5} Gaz petrolier	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	gaze combustibile Gaz petrolier [Amestec de gaze ușoare. Se compune în special din hidrogen și/sau hidrocarburi cu masă moleculară mică.]	H K	270-667-2	68476-26-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-198-00-6	gaze combustibile, distilate de țiței Gaz petrolier [Amestec complex de gaze ușoare, rezultat din distilarea țițeiului și din reformarea catalitică a fracțiunilor nafta. Se compune în principal din hidrogen și hidrocarburi cu număr de atomi de carbon predominant de la C_1 la C_4 și intervalul de fierbere aproximativ de la – 217 °C la – 12 °C (– 423 °F la 10 °F).]	H K	270-670-9	68476-29-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-199-00-1	hidrocarburi, C_{3-4} Gaz petrolier	H K	270-681-9	68476-40-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-200-00-5	hidrocarburi, C_{4-5} Gaz petrolier	H K	270-682-4	68476-42-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-201-00-0	hidrocarburi, C_{2-4}, bogate în C_3 Gaz petrolier	H K	270-689-2	68476-49-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-202-00-6	gaze petroliere, lichefiate Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, rezultat din distilarea țițeiului. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon predominant de la C_3 la C_7 și intervalul de fierbere aproximativ de la – 40 °C la 80 °C (– 40 °F la 176 °F).]	HKS	270-704-2	68476-85-7	F+; R12 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	F+; T R: 12-45-46 S: 53-45		
649-203-00-1	gaze petroliere, lichefiate, desulfurate Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi,	HKS	270-705-8	68476-86-8	F+; R12 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	F+; T R: 12-45-46 S: 45-53		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
	obţinut prin desulfurarea unui amestec de gaze petroliere lichefiate, pentru a converti mercaptanii sau a elimina impurităţile acide. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon predominant de la C_1 la C_7 şi interval de fierbere aproximativ de la – 40 °C la 80 °C (– 40 °F la 176 °F).]							
649-204-00-7	gaze (petroliere), C_{3-4}, bogate în izobutan Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi rezultate din distilarea de hidrocarburi saturate şi nesaturate având număr de atomi de carbon predominant de la C_3 la C_6, în special butan şi izobutan. Se compune din hidrocarburi saturate şi nesaturate cu număr de atomi de carbon predominant de la C_3 la C_4 cu izobutan predominant.]	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	distilate (petroliere), C_{3-6}, bogate în piperilenă Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut din distilarea hidrocarburilor alifatice saturate şi nesaturate, cu număr de atomi de carbon predominant de la C_3 la C_6. Se compune în principal din hidrocarburi alifatice saturate şi nesaturate, cu număr de atomi de carbon predominant de la C_3 la C_6, predominând piperilene.]	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	gaze (petroliere), frunţi de la coloana de separare butan Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut din distilarea fluxului de butan. Se compune din hidrocarburi alifatice cu număr de atomi de carbon între C_3 şi C_4.]	H K	270-750-3	68477-69-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
649-207-00-3	gaze (petroliere), C_2 Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin distilarea produselor de fracționare catalitică. Conține în principal etan, etilenă, propan și propilenă.]	H K	270-751-9	68477-70-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-208-00-9	gaze (petroliere), sedimente din coloanele de depropanizare la cracarea catalitică a motorinei, bogate în C_4, deacidificate Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin fracționarea unui flux de motorină de cracare catalitică, tratată pentru eliminarea hidrogenului sulfurat și a altor componente acide. Se compune din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon între C_3 și C_5, în special C_4.]	H K	270-752-4	68477-71-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-209-00-4	gaze (petroliere), sedimente din coloanele de debutanizare la cracarea catalitică a benzinei, bogate în C_{3-5} Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut prin stabilizarea fracțiunilor nafta cracate catalitic. Se compune din hidrocarburi alifatice cu număr de atomi de carbon predominant de la C_3 la C_5.]	H K	270-754-5	68477-72-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-210-00-X	gaze reziduale (petroliere), din coloana de stabilizare a fracțiunilor nafta izomerizate Gaz petrolier [Amestec complex de hidrocarburi, obținut din produsele de fracționare și stabilizare a fracțiunii nafta izomerizate. Se compune în principal din hidrocarburi	H K	269-628-2	68308-08-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note privind preparatele
	alifatice cu număr de atomi de carbon predominant de la C_1 la C_4.]							
649-224-00-6	combustibili diesel Motorină nespecificată [Amestec complex de hidrocarburi, obţinut din distilarea ţiţeiului. Se compune în principal din hidrocarburi cu număr de atomi de carbon predominant de la C_9 la C_{20} şi interval de fierbere aproximativ de la 163 °C la 357 °C (325 °F la 675 °F).]	H N	269-822-7	68334-30-5	Carc. Cat. 3; R40	Xn R: 40 S: (2-)36/37”		

ANEXA 1C

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
„005-009-00-3	butil trifenil borat de tetrabutil amoniu		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	tetrakis (pentafluorfenil) borat de *N*,*N*-dimetilaniliniu		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	butiltrifenilborat(1-)de dietil {4-[1,5,5-tris(4-dietilaminofenil)penta-2,4-dieniliden]ciclohexa-2,5-dieniliden}amoniu		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	propoxicarbazonă de sodiu		–	–	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	((n-butil)x(etil)i-1,5-dihidro)aluminat) de sodiu x = 0,5 y = 1,5		418-720-2	–	F; R11 R14/15 R 17 Xn; R20 C; R35	F; C R: 11-14/15-17-20-35 S: (1/2-)6-16-26-30-36/37/39-43-45		
014-026-00-5	dicloro-(3-(3-cloro-4-fluorofenil)propil)metilsilan		407-180-3	–	C; R35	C R: 35 S: (1/2-)26-36/37/39-45		
014-027-00-0	cloro(3-(3-cloro-4-fluorofenil)propil)dimetilsilan		410-270-5	–	C; R35	C R: 35 S: (1/2-)8-26-28-36/37/39-45		
014-028-00-6	α-[3-(1-oxoprop-2-enil)-1-oxipropil]dimetoxisilililoxi-ω-[3-(1-oxoprop-2-enil)-1-oxipropil]dimetoxisililpoli (dimetilsiloxan)		415-290-8	–	R 43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
014-029-00-1	O,O′-etenilmetilslilen)di[4-metilpentan-2-onă)oxim]		421-870-1	–	Repr. Cat.3; R62 Xn; R22-48/22	Xn R: 22-48/22-62 S: (2-)36/37		
014-030-00-7	[(dimetilsililen)bis((1,2,3,3a,7a-η)-1H-inden-1-iliden)dimetil]hafniu		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-metiletil)-dimetoxisilan		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		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
014-032-00-8	diciclopentildimetoxisilan		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	acid [R-(R*,S*)]-[[2-metil-1-(1-oxopropoxi)propoxi]-(4-fenilbutil)fosfinil] acetic, (-)-cinconidină (1:1) sare		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	fosfină		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	săruri de glifosat, cu excepţia celor menţionate în prezenta anexă		–	–	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
015-186-00-9	metilclorpirifos		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	Amestec de: N-oxid de (((2-hidroxietil)imino)bis(metilen))bis fosfonat de tetrasodiu; trisodiu ((tetra-hidro-2-hidroxi-4H-1,4,2-oxazafosforin-4-il)-metil) fosfonat, N-oxid, P-oxid		417-540-1	–	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
015-189-00-5	oxid de fenil bis(2,4,6-trimetilbenzoil)-fosfină		423-340-5	162881-26-7	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)22-24-37-61		
016-086-00-8	10-amino-6,13-dicloro-3-(3-(4-(2,5-disulfonatoanilino)-6-fluoro-1,3,5-triazin-2-ilamino)prop-3-ilaino)-5,12-dioxa-7,14-diazapentacen-4,11-disulfonat de tetrasodiu		402-590-9	109125-56-6	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
016-087-00-3	Amestec de: bishexafluorofosfat de tiobis (4,1-fenilen)-*S*,*S*,*S'*,*S''*-tetrafenildisulfoniu şi hexafluorfosfat de		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		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
	difenil (4-feniltiofenil) sulfoniu carbonat de propilenă							
016-088-00-9	acid 4-(bis(4-(dietilamino)fenil)metil)benzen-1,2-dimetano-sulfonic		407-280-7	71297-11-5	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
016-089-00-4	Amestec de esteri de 5,5′,6,6′,7,7′-hexahidroxi-3,3,3′,3′-tetrametil-1,1′-spirobiindan și de 2-diazo-1,2-dihidro-1-oxo-5-sulfonaftalină		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-metil-N-(metilsulfonil)benzeno sulfonamidă		415-040-8	14653-91-9	Xn; R22 Xi; R37-41	Xn R: 22-37-41 S: (2-)26-39		
016-091-00-5	1-amino-9,10-di-hidro-9,10-dioxo-4-(2,4,6-trimetilanilino)antracen-2-sulfonat de *terț* alchil (C_{12}-C_{14}) amoniu		414-110-5	–	Xi; R41 N; R50-53	Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
016-093-00-6	Amestec (2:1) de: tris(6-diazo-5,6-dihidro-5-oxonaftalen-1-sulfonat) de 4-(7-hidroxi-2,4,4-trimetil-2-cromanil)rezorcinol-4-ilși bis(6-iazo-5,6-dihidro-5-oxonaftalen-1-sulfonat) de 4-(7-hidroxi-2,4,4-trimetil-2-cromanil)rezorcinol		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	Amestec de: produsul de reacție al 4,4′-metilenobis[2-(4-hidroxibenzil)-3,6-dimetilfenol] și 6-diazo-5,6-dihidro-5-oxo-naftalinsulfonat (1:2) cu produsul de reacție al 4,4′-metilenobis [2-(4-hidroxibenzil)-3,6-dimetilfenol] și 6-diazo-5,6-dihidro-5-oxo-naftalinsulfonat (1:3)		417-980-4	–	F; R11 Carc. Cat.3; R40	F; Xn R: 11-40 S: (2-)7-36/37		
016-096-00-2	tifensulfuron metil		–	79277-27-3	N; R50-53	N		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
						R: 50/53 S: 60-61		
017-015-00-3	clorhidrat de (2-(aminometil)fenil)acetilclorură		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	clorură de metiltrifenilfosfoniu		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	clorură de (Z)-13-docosenil-*N*,*N*-bis(2-hidroxietil)-*N*-metil amoniu		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	clorură de *N*,*N*,*N*-trimetil-2,3-bis(stearoiloxi)propilamoniu		405-660-7	–	N;R51-53	N R: 51/53 S: 61		
017-019-00-5	clorhidrat de (R)-1,2,3,4-tetrahidro-6,7-dimetoxi-1-veratrilizo-chinolină		415-110-8	54417-53-7	Xn; R22 R52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		
017-020-00-0	clorură de etilpropoxialuminiu		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	clorură de behenamidopropil-dimetil(di-hidroxipropil)amoniu		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	Amestec de: (bis(2-hidroxi-5-tetrapropenilfenilmetil)metilamină) dihidroxid de dicalciu, (tris(2-hidroxi-5-tetrapropenilfenil metil) metilamină)trihidroxid de tricalciu, poli[calciu ((2-hidroxi-5-tetrapropenilfenilmetil)metilamină) hidroxid]		420-470-4	–	Xi; R36/38 R43	Xi R: 36/38-43 S: (2-)24-26-37		
024-019-00-9	Componentă principală: anilida acidului acetoacetic/3-amino-hidroxibenzen (ATAN-MAP):{6′′-[(2 sau 3 sau 4)-amino-(4 sau 5 sau 6)-hidroxifenilazo]-5′-		419-230-1	–	R 43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
	(fenilsulfamoil)-3-sulfonatonaftalen-2-azobenzen-1,2′-diolato}-{6′′-[1-(fenilcarbamoil)etilazo]-5′′′-(fenilsulfamoil)-3′′-sulfonatonaftalen-2′′-azobenzen-1′′,2′′′-diolato}cromat(III) de trisodiu produs secundar 1: anilida acidului acetoacetic / anilida acid acetoacetic (ATAN-ATAN): bis{6-[1-(fenilcarbamoil)etilazo]-5′-(fenilsulfonil)-3-sulfonatonaftalen-2-azobenzen-1,2′-diolato}cromate (III) de trisodiu produs secundar 2: 3-amino-1-hidroxibenzen/3-amino-1-hidroxibenzen (MAP-MAP): bis{6-[(2 sau 3 sau 4)-amino-(4 sau 5 sau 6)-hidroxifenilazo]-5′-(fenilsulfamoil)-3-sulfonatonaftalen-2-azobenzen-1,2′-diolato)cromat (III) de trisodiu							
024-020-00-4	bis[(3′-nitro-5′-sulfonato-(6-amino-2-[4-(2-hidroxi-1-naftilazo) fenilsulfonilamino] pirimidin-5-azo)benzen-2′,4-diolato)] cromat (III) de trisodiu		418-220-4	–	R43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		
025-005-00-5	Amestec de: [29H,31H-ftalocianin-C,C,C-trisulfonato (6-)-N29,N30,N31,N32]manganat(3-) de trisodiu; [29H,31H-ftalocianin-C,C,C,C-tetrasulfonato (6-)-N29,N30,N31,N32] manganat (3-) de tetrasodiu; [29H, 31H-ftalocianin-C,C,C,C,C-pentasulfonato (6-)-N29,N30,N31,N32] manganat (3-) de pentasodiu		417-660-4	–	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
029-012-00-4	((N-(3-trimetilamoniopropil)sulfamoil) metilsulfonatoftalocianinat)cupru (II) de sodiu		407-340-2	124719-24-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
029-013-00-X	(2-(α-(3-(4-cloro-6-(2-(2-(vinilsulfonil)etoxi)etilamino)-1,3,5-triazin-2-ilamino)-2-oxido-5-sulfonatofenilazo) benzilidenhidrazino)-4-sulfonatobenzoat)cupru (II) de trisodiu		407-580-8	130201-51-3	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)24-37-61		
030-011-00-6	bis(ortofosfat) de trizinc		231-944-3	7779-90-0	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
030-013-00-7	oxid de zinc		215-222-5	1314-13-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
034-003-00-3	selenit de sodiu		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	tetrakis (pentafluorofenil)borat (1-)de(4-(1-metiletil)fenil)(4-metilfenil)iodoniu		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	Amestec de izomeri de: metildifenilmetan şi dimetildifenilmetan		405-470-4	–	Xi; R38 N; R50-53	Xi; N R: 38-50/53 S: (2-)37-60-61		
601-057-00-X	tosilat de N-dodecil-[3-(4-dimetilamino)benzainido)-propil]dimetilamoniu		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-1-para-menten		417-870-6	–	Xi; R38 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 38-43-50/53 S: (2-)23-24-37-60-61		
601-059-00-0	2-benziliden-3-oxobutirat de metil		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	săruri de x-sodiu şi de y-potasiu de 1,2-bis-[4-fluoro-6-{4-sulfo-5-(2-(4-sulfonaftalen-3-ilazo)-1-		417-610-1	155522-09-1	R 43	Xi R: 43		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
	hidroxi-3,6-disulfo-8-aminonaftalen-7-ilazo)fenilamino}-1,3,5-triazin-2-ilamino]etan; x = 7,755 y = 0,245					S: (2-)22-24-37		
601-061-00-1	(etil-1,2-etanediil)[-2[[[(2-hidroxietil)metilamino]acetil] propil]ω-(nonilfenoxi)poli]oxi(metil-1,2-etanediil)		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	Amestec de: triacontan ramificat, dotriacontan ramificat, tetratriacontan ramificat și hexatriacontan ramificat		417-030-9	151006-59-6	R 53	R: 53 S: 61		
601-063-00-2	Amestec de izomeri de tetracosan ramificat		417-060-2	151006-61-0	Xn; R20 R53	Xn R: 20-53 S: (2-)61		
601-064-00-8	hexatriacontan ramificat		417-070-7	151006-62-1	R53	R: 53 S: 61		
601-065-00-3	Amestec de: (r-α,3′-α,6′-α-2,2,3′,7′,7′-pentametilspiro(1,3-dioxan-5,2′-norcaran) (1′α,3′β,6′α)-2)2,3′,7′,7′-pentametilspiro(1,3-dioxane-5,2′-norcaran)		416-930-9	—	Xn; R48/22 Xi; R41 N; R51-53	Xn; N R: 41-48/22-51/53 S: (2-)22-26-37/39-61		
601-066-00-9	1-(4-(*trans*-4-heptilciclohexil)fenil)etan		426-820-2	78531-60-9	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
601-067-00-4	arseniat de trietil		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-diacetoxibut-3-enă		421-720-5	18085-02-4	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)		
601-069-00-5	bromură de 2-etil-1-(2-(1,3-dioxanil)etil)-piridiniu		422-680-1	–	R52-53	R: 52/53 S: 61		
601-071-00-6	1-dimetoxi metil-2-nitrobenzen		423-830-9	20627-73-0	R43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		
601-073-00-7	1-bromo-3,5-difluorobenzen		416-710-2	461-96-1	R10	Xn; N		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
					Xn; R22-48/22 Xi; R38 R43 N; R50-53	R: 10-22-38-43-48/22-50/53 S: (2-)24-36/37-60-61		
601-074-00-2	Amestec de: 4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-en-1-il)-1-metil-2-oxabiciclo[2.2.2]octan; 1-(2,2,3-trimetilciclopent-3-en-1-il)-5-metil-6-oxabiciclo[3.2.1]octan; spiro[ciclohex-3-en-1-il-[(4,5,6,6a-tetrahidro-3,6′,6′,6′a-tetrametil)-1,3′(3′aH)-[2H]ciclopenta[b]furan]; spiro[ciclohex-3-en-1-il-[4,5,6,6a-tetrahidro-4,6′,6′,6′a-tetrametil)-1,3′(3′aH)-[2H]ciclopenta[b]]furan]		422-040-1	–	Xi; R36/38 N; R51-53	Xi; N R: 36/38-51/53 S: (2-)26-37-61		
602-093-00-9	α,α,α,4-tetraclorotoluen *p*-clorobenzotriclorură	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	difenil eter, derivat octabromurat		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	clorhidrat de verde malachit; C.I. Basic Green 4 [1] oxalat de verde malachit [2]		209-322-8 [1] 219-441-7 [2]	569-64-2 [1] 18015-76-4 [2]	Xn; R22 Xi; R41 Repr. Cat. 3; R63 N; R50-53	Xn; N R: 22-41-63-50/53 S: (2-)26-36/37-39-46-60-61		
602-097-00-0	1-bromo-9-(4,4,5,5,5-pentafluoropentiltio)nonan		422-850-5	148757-89-5	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		
603-167-00-3	3,3′,5,5′-tetra-terţ-butilbifenil-2,2′-diol		407-920-5	6390-69-8	R 53	R: 53 S: 61		
603-168-00-9	3-(2-etilhexiloxi)propan-1,2-diol		408-080-2	70445-33-9	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
603-169-00-4	(+/-)-trans-4-(4-fluorofenil)-3-hidroximetil-N-metilpiperidină		415-550-0	109887-53-8	Xn; R22 Xi; R41 N; R51-53	Xn; N R: 22-41-51/53 S: (2-)22-26-39-61		
603-170-00-X	Amestec de: 2-metil-1-(6-metilbiciclo[2.2.1]hept-5-en-2-		415-990-3	67739-11-1	Xi; R36 N; R51-53	Xi; N R: 36-51/53		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
	il)pent-1-en-3-ol 2-metil-1-(1-metilbiciclo[2.2.1]hept-5-en-2-il)-pent-1-en-3-ol 2-metil-1-(5-metilbiciclo[2.2.1]hept-5-en-2-il)pent-1-en-3-ol					S: (2-)26-61		
603-171-00-5	5-tiazolilmetanol		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	trans-butendioat de mono-2-[2-(4-dibenzo[b,f][1,4]tiazepin-1]-il)piperaziniu-1-il]etoxi)etanol		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-dimetil-3,5,8-trioxabiciclo[5.1.0]octan		421-750-9	57280-22-5	Xi; R36 R 43	Xi R: 36-43 S: (2-)26-36/37		
603-174-00-1	4-ciclohexil-2-metil-2-butanol		420-630-3	83926-73-2	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
603-175-00-7	2-(2-hexiloxietoxi)etano DEGHE eter monohexilic a dietilen glicolului 3,6-dioxa-1-dodecanol hexil carbitol 3,6-dioxa-1-dodecanol		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-metoxietoxi)etan TEGDME eter metilic a trietilen glicolului triglim		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-etoxipropan-2-ol 2PG1EE 1-etoxi-2-propanol eter monoetilic al propilen glicolului [1] acetat de 2-etoxi-1-metiletil 2PG1EEA [2]		216-374-5 [1] 259-370-9 [2]	1569-02-4 [1] 54839-24-6 [2]	R10 R67	R: 10-67 S: (2-)24		
603-178-00-3	2-hexiloxietanol eter monohexilic al etilen glicolulu n-hexilglicol		203-951-1	112-25-4	Xn R21/22 C; R34	C R: 21/22-34 S: (1/2-)26-36/37/39-45		
603-179-00-9	ergocalciferol		200-014-9	50-14-6	T+; R26	T+		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
	vitamina D2				T; R24/25-48/25	R: 24/25-26-48/25 S: (1/2-)28-36/37-45		
603-180-00-4	colecalciferol vitamina D3		200-673-2	67-97-0	T+; R26 T; R24/25-48/25	T+ R: 24/25-26-48/25 S: (1/2-)28-36/37-45		
603-181-00-X	*terţ*-butil metil eter MTBE 2-metoxi-2-metilpropan		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-butoxietoxi)etoxi]etanol TEGBE eter monobutilic al trietilen glicolului butoxitrietilen glicol		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-(hidroximetil)-2-[[2-hidroxi-3-(izooctadeciloxi)propoxi]metil]-1,3-propandiol		416-380-1	146925-83-9	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
603-185-00-1	2,4-dicloro-3-etil-6-nitrofenol		420-740-1	99817-36-4	T; R25 Xi; R41 R43 N; R50-53	T; N R: 25-41-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
603-186-00-7	trans-(5RS,6SR)-6-amino-2,2-dimetil-1,3-dioxepan-5-ol		419-050-3	79944-37-9	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24/25-26-37		
603-187-00-2	diclorură de 2-((4,6-bis(4-(2-(1-metilpiridiniu-4-il)vinil)fenilamino)-1,3,5-triazin-2-il)(2-hidroxietil)amino)etanol		419-360-9	163661-77-6	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
603-189-00-3	Amestec de complecşi de: titan, 2,2′-oxidietanol, lactat de amoniu, nitrilotris(2-propanol) şi de etilenglicol		405-250-8	–	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
603-191-00-4	2-(4,6-bis(2,4-dimetilfenil)-1,3,5-triazin-2-il)-5-(3-((2-etilhexil)oxi)2-hidroxipropoxi)fenol		419-740-4	137658-79-8	R53	R: 53 S: 61		
603-195-00-6	2-[4-(4-metoxifenil)-6-fenil-1,3,5-triazin-2-il]fenol		430-810-3	154825-62-4	R52-53	R: 52/53 S: 61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
603-196-00-1	2-(7-etil-1H-indol-3-il)etanol		431-020-1	41340-36-7	Xn; 22-48/22 N; R51-53	Xn; N R: 22-48/22-51/53 S: (2-)36/37/39-61		
603-197-00-7	1-(4-clorofenil)-4,4-dimetil-3-(1,2,4-triazol-1-ilmetil)pentan-3-ol		403-640-2	107534-96-3	Repr. Cat.3; R63 Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53-63 S: (2-)22-36/37-61		
603-199-00-8	etoxazol		–	153233-91-1	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61	C ≥ 0,25 %: N; R50/53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51/53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52/53	
604-065-00-1	4,4′,4′′-(1-metilpropan-1-il-3-iliden)tris(2-ciclohexil-5-metilfenol)		407-460-5	111850-25-0	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
604-066-00-7	Amestec de: 6-(1,1-dimetiletil)-4-tetrapropil-2-[(2-hidroxi-5-tetrapropilfenil)metil (C_{41}) și 2,2′-bis[6-(1,1-dimetil-etil)-1-hidroxi-4-tetrapropil fenil)] metan (C_{45}) 2,6-bis(1,1-dimetil-etil)-4-tetra propilfenol și 2-(1,1-dimetil-etil)-4-tetrapropilfenol 2,6-bis[(6-(1,1-dimetiletil)-1-hidroxi-4-tetrapropilfenil)metil]-4-(tetrapropil)fenol și 2-[(6-(1,1-dimetil etil)-1-hidroxi-4-tetrapropilfenilmetil]-6-[1-hidroxi-4-tetrapropilfenil)metil]-4-(tetrapropil)fenol		414-550-8	–	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
604-067-00-2	Amestec de: 2,2′[[(2-hidroxietil)imino]bis(metilen)bis[4-dodecilfenol] formaldehidă, oligomer cu 4-dodecilfenol și 2-aminoetanol(n = 2) formaldehidă, oligomer cu 4-dodecilfenol și 2-aminoetanol(n = 3, 4 sau mai mare)		414-520-4	–	Xi; R38-41 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-50/53 S: (2-)26-37/39-60-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
604-068-00-8	clorhidrat de (+/-)-4-[2-[[3-(4-hidroxifenil)-1-metilpropil]amino]-1-hidroxietil]fenol		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	2-(1-metilpropil)-4-terț-butilfenol		421-740-4	51390-14-8	C; R34 N; R51-53	C; N R: 34-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		
604-070-00-9	triclosan eter de 2,4,4′-tricloro-2′-hidroxi-difenil 5-cloro-2-2(2,4-diclorofenoxi)fenol		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	Amestec de: 2,2-dimetoxietanal (această componentă se consideră anhidră din punctul de vedere al identității, al structurii și al compoziției. Totuși, 2,2-dimetoxietanal poate exista sub formă hidratată. La 60 % din forma anhidră corespunde 70,4 % din forma hidratată) și apă (compusă din apă liberă și apa de hidratare din 2,2-dimetoxietanal)		421-890-0	–	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
606-062-00-0	tetrahidrotiopiran-3-carboxaldehidă		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-clorofenil)-2-(4-fluorofenil)propenal		410-980-5	112704-51-5	Xi; R36 R 43	Xi R: 36-43 S: (2-)24-26-37		
606-064-00-1	pregn-5-enă-3,20-dionă bis(etilen ketal)		407-450-0	7093-55-2	R 53	R: 53 S: 61		
606-065-00-7	1-(4-morfolinofenil)butan-1-onă		413-790-0	–	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
606-066-00-2	(E)-5-[(4-clorofenil)metilen]-2,2-dimetilciclopentanonă		410-440-9	131984-21-9	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
606-067-00-8	Amestec de: 1-(2,3,6,7,8,9-hexahidro-1,1-dimetil-1H-benz(g)inden-4-il)etanonă;		414-870-8	96792-67-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
	1-(2,3,5,6,7,8-hexahidro-1,1-dimetil-1H-benz(f)inden-4-il)etanonă; 1-(2,3,6,7,8,9-hexahidro-1,1-dimetil-1H-benz(g)inden-5-il)etanonă; 1-(2,3,6,7,8,9-hexahidro-3,3-dimetil-1H-benz(g)inden-5-il)etanonă							
606-068-00-3	2,7,11-trimetil-13-(2,6,6-trimetilciclohex-1-en-1-il)tridecahexaen-2,4,6,8,10,12-al		415-770-7	1638-05-7	Xn; R48/22 R 43 R 52-53	Xn R: 43-48/22-52/53 S: (2-)22-36/37-61		
606-069-00-9	spiro[1,3-dioxolane-2,5′-(4′,4′,8′,8′-tetrametil-hexahidro-3′,9′-metanonaftilenă)]		415-460-1	154171-77-4	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24-61		
606-070-00-4	5-(3-butiril-2,4,6-trimetilfenil)-2-[1-(etoxiimino)propil]-3-hidroxiciclohex-2-en-1-onă		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-dimetil-1,3-dioxan-2-il)androsta-1,4-dien-3-onă		421-050-3	13258-43-0	N; R50-53	N R: 50/53 S: 22-60-61		
606-072-00-5	3-acetil-1-fenil-pirolidin-2,4-dionă		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(dimetilamino)benzofenonă cetona lui Michler		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-benzil-5-etoxiimidazolin-2,4-dionă		417-340-4	65855-02-9	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)22		
606-076-00-7	1-((2-chinolinil-carbonil)oxi)-2,5-pirolidin dionă		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-hexil-4-[(R)-2-hidroxitridecil]-2-oxetanonă		418-650-2	104872-06-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-078-00-8	1-octilazepin-2-onă		420-040-6	59227-88-2	C; R34 R 43 N; R51-53	C; N R: 34-43-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		
606-079-00-3	2-n-butil-benzo[d]izotiazol-3-onă		420-590-7	–	C; R34 R43	C; N R: 34-43-50/53		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
					N; R50-53	S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
606-080-00-9	Produs de reacţie: 3-hidroxi-5,7-diterţ-butilbenzofuran-2-onă cu o-xilen		417-100-9	–	R 53	R: 53 S: 61		
606-081-00-4	(3β, 5α, 6β)3-(acetiloxi)-5-bromo-6-hidroxi-androstan-17-onă		419-790-7	4229-69-0	R43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-36/37-61		
606-082-00-X	Amestec de: butan-2-on oximă, sin-O,O′-di(butan-2-on oximă)dietoxisilan		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-cloro-5-sec-hexadecilhidrochinonă		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-metoxi-5-benzofuranil)-3-fenil-1,3-propandionă		414-540-3	484-33-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-085-00-6	(1R,4S)-2-azabiciclo[2.2.1]hept-5-en-3-onă		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-dimetilciclohexil)pent-4-en-1-onă		422-330-8	56973-87-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
606-087-00-7	6-etil-5-fluoro-4(3H)-pirimidonă		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-tetrametil-6-octen-3-onă		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	Amestec de: 1,4-diamino-2-cloro-3-fenoxiantrachinonă şi 1,4-diamino-2,3-bis-fenoxiantrachinonă		423-220-2	12223-77-7	R53	R: 53 S: 61		
606-091-00-9	6-cloro-5-(2-cloroetil)-1,3-dihidroindol-2-onă		421-320-0	118289-55-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-092-00-4	Amestec de: (E)-oxaciclohexadec-12-en-2-onă (E)-oxaciclohexadec-13-en-2-onă a) (Z)-oxaciclohexadec-(12)-en-2-onă şi b) (Z)-oxaciclohexadec-(13)-en-2-onă		422-320-3	111879-80-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
607-379-00-7	Amestec de: stearat de 2-[N-(2-hidroxietil)stearamido]etil [bis[2-(stearoiloxi)etil]amino]metil sulfonat de sodiu [bis(2-hidroxietil) amino]metilsulfonat de sodiu N,N-bis(2-hidroxietil)stearamidă		401-230-8	55349-70-7	R52-53	R: 52/53 S: 61		
607-380-00-2	Amestec de: 1,2-bis(hexiloxicarbonil)etansulfonat de amoniu 1-hexiloxicarbonil-2-octiloxicarboniletanesulfonat de amoniu 2-hexiloxicarbonil-1-octiloxicarboniletanesulfonat de amoniu		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	Amestec de triesteri din 2,2-bis(hidroximetil)butanol cu acizii C_7-alcanoic şi 2-etilhexanoic		413-710-4	–	R 53	R: 53 S: 61		
607-382-00-3	acid 2-((4-amino-2-nitrofenil)amino)benzoic		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	Amestec de: hexadecanoat de 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-4-il octadecanoat de 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-4-il		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	Amestec de: esteri de alcooli ramificaţi C_{14}-C_{15} cu acid 3,5-di-t-butil-4-hidroxifenilpropionic 3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-hidroxi benzenpropanoat de alchil linear şi ramificat C_{15} 3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-hidroxibenzenpropanoat de alchil linear şi ramificat C_{13}		413-750-2	171090-93-0	R 53	R: 53 S: 61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
607-385-00-X	Copolimer de alcool vinilic şi de acetat de vinil parţial acetalizat cu metilsulfat de 4-(2-(4-formilfenil)etenil)-1-metilpiridiniu		414-590-6	125229-74-5	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-386-00-5	Amestec de: acid tetradecanoic (42,5-47,5 %) esteri de poli(1-7) lactat ai acidului tetradecanoic (52,5-57,5 %)		412-580-6	174591-51-6	Xi; R38-41 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-387-00-0	Amestec de: acid dodecanoic (35-40 %) esteri de poli(1-7)lactat ai acidului dodecanoic (60-65 %)		412-590-0	58856-63-6	Xi; R38-41 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-388-00-6	acid 4-etilamino-3-nitrobenzoic		412-090-2	2788-74-1	Xn; R22 R 43 R 52-53	Xn R: 22-43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		
607-389-00-1	N,N-bis(carboximetil)-3-amino-2-hidroxipropionat de trisodiu		414-130-4	119710-96-2	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)22		
607-390-00-7	1,2,3,4-tetrahidro-6-nitrochinoxalină		414-270-6	41959-35-7	Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)22-61		
607-391-00-2	ciclopropan-1,1-dicarboxilat de dimetil		414-240-2	6914-71-2	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-392-00-8	4-((5-ciano-1,6-dihidro-2-hidroxi-1,4-dimetil-6-oxo-3-piridinil) azo)benzoat de 2-fenoxietil		414-260-1	88938-37-8	R 53	R: 53 S: 61		
607-393-00-3	acid 3-(cis-1-propenil)-7-amino-8-oxo-5-tia-1-azabiciclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxilic		415-750-8	106447-44-3	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-394-00-9	acid 5-metilpirazin-2-carboxilic		413-260-9	5521-55-1	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-395-00-4	Amestec de: 1-tridecil-4-alil-(2 sau 3)-sulfobutandioat de sodiu şi 1-dodecil-4-alil-(2 sau 3)-sulfobutandioat de sodiu		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	2-(4-metoxibenziliden)malonat de bis(1,2,2,6,6-pentametil-4-		414-840-4	147783-69-5	N; R50-53	N R: 50/53		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
	piperidinil)					S: 22-60-61		
607-397-00-5	Amestec de: salicilați de calciu (alchili ramificați C10-14 și C18-30) fenați de calciu (alchili ramificați C10-14 și C18-30) fenați de calciu sulfurați (alchili ramificați C10-14 și C18-30)		415-930-6	–	R 43	Xi R: 43 S: (2-)36/37		
607-398-00-0	N-(5-cloro-3-(4-(dietilamino)-2-metilfenilimino)-4-metil-6-oxo-1,4-ciclohexadienil)carbamat de etil		414-820-5	125630-94-6	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-399-00-6	2,2-dimetil propanoat de 3-metil-3-butenil		415-610-6	104468-21-5	Xi; R38 R52-53	Xi R: 38-52/53 S: (2-)37-61		
607-400-00-X	3-[[(dibutilamino)tioxometil] tio]propanoat de metil		414-400-1	32750-89-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-401-00-5	3-hidroxi-5-oxo-3-ciclohexen-1-carboxilat de etil		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	N-(feniloxicarbonil)-1-valinat de metil		414-500-5	153441-77-1	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-403-00-6	Amestec de: succinat de bis(1S,2S,4S)-(1-benzil-4-terț-butoxicarboxamido-2-hidroxi-5-fenil)pentilamoniu alcool izopropilic		414-810-0	–	Xn; R48/22 Xi; R41 N; R50-53	Xn; N R: 41-48/22-50/53 S: (2-)22-26-36/39-60-61		
607-404-00-1	Amestec de: acid ((Z)-3,7-dimetil-2,6-octadienil)oxicarbonil propanoic butanedioat de di-((E)-3,7-dimetil-2,6-octadienil) butanedioat de di-((Z)-3,7-dimetil-2,6-octadienil) butanedioat de (Z)-3,7-dimetil-2,6-octadienil acid ((E)-3,7-dimetil-2,6-octadienil)oxicarbonilpropanoic		415-190-4	–	R 43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
607-405-00-7	p-hidroxibenzoat de 2-hexildecil		415-380-7	148348-12-3	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-406-00-2	2,5-diclorobenzoat de potasiu		415-700-5	–	Xn; R22 Xi; R41	Xn R: 22-41 S: (2-)26-39		
607-407-00-8	2-carboxi-3-(2-tienil)propionat de etil		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	N-(4-fluorofenil)glicinat de potasiu		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	Amestec de: acid (3R)-[1S-(1α, 2α, 6ß-((2S)-2-metil-1-oxo-butoxi)-8a.gamma.)hexahidro-2,6-dimetil-1-naftalen]-3,5-dihidroxiheptanoic; biomasă inertă de *Aspergillus terreus*		415-840-7	–	R 43 R 52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)36/37-61		
607-410-00-4	2-(hexadec-2-enil)butandioat de mono[2-(dimetilamino)etil] monohidrogen şi/sau 3-(hexadec-2-enil)butandioat de mono[2-(dimetilamino)etil]monohidrogen		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-metilbenzensulfonat de (S)-oxiranemetanol		417-210-7	70987-78-9	Carc. Cat.2; R45 Muta. Cat.3; R68 Xi; R41 R43 N; R51-53	T; N R: 45-41-43-51/53 S: 53-45-61		
607-412-00-5	2-(1-cianociclohexil)acetat de etil		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-fenil-L-prolină		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	4,4′,4′′-(1,3,5-triazin-2,4,6-triiltriimino)tris(benzoat de 2-etilhexil)		402-070-1	88122-99-0	R53	R: 53 S: 61		
607-415-00-1	poli-(metacrilat de metil)-co-(metacrilat de butil)-co-(4-		419-590-1	–	F; R11 R 43	F; Xi R: 11-43		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
	acriloxibutil-izopropenil-.alfa.,.alfa.-dimetilbenzil carbamat)-co-(anhidridă maleică)					S: (2-)24-37-43		
607-416-00-7	4-(2-carboximetiltio)etoxi-1-hidroxi-5-izobutiloxicarbonilamino-N-(3-dodeciloxipropil)-2-naftamidă		420-730-7	–	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-418-00-8	4-aminobenzoat de 2-etilhexil		420-170-3	26218-04-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-419-00-3	acid (3′-carboximetil-5-(2-(3-etil-3H-benzotiazol-2-iliden)-1-metil-etiliden)-4,4′-dioxo-2′-tioxo-(2,5′)bitiazolidiniliden-3-il)-acetic		422-240-9	166596-68-5	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)26-36/37/39		
607-420-00-9	acid 2,2-bis(hidroximetil)butanoic		424-090-1	10097-02-6	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
607-421-00-4	cipermetrină *cis*/*trans* +/-40/60 (RS)-α-ciano-3-fenoxibenzil(1*RS*,3*RS*;1*RS*,3*SR*)-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetil ciclopropan carboxilat		257-842-9	52315-07-8	Xn; R20/22 Xi; R37 N; R50-53	Xn; N R: 20/22-37-50/53 S: (2-)24-36/37/39-60-61		
607-422-00-X	α-cipermetrină		257-842-9	67375-30-8	T; R25 Xn; R48/22 Xi; R37 N; R50-53	T; N R: 25-37-48/22-50/53 S: (2-)36/37/39-45-60-61		
607-423-00-5	esteri de mecoprop și de mecoprop-P		–	–	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)13-36/37-60-61		
607-424-00-0	trifloxistrobină (ISO) ester metilic al acidului (R)-2-[(2,6-dimetilfenil)-metoxiacetilamină] propionic		–	141517-21-7	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-46-60-61		
607-425-00-6	metalaxil (ISO) *N*-(2,6-dimetilfenil)-*N*-(metoxiacetil)-D1-alaninat de metil		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	ester dipentilic (ramificat și linear) al acidului		284-032-2	84777-06-0	Repr. Cat. 2; R60-61	T; N		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
	1,2-benzendicarboxilic [1]; ftalat de n-pentil izopentil [2]; ftalat de di-n-pentil [3] ftalat de diizopentil [4]		[1] - [2] 205-017-9 [3] 210-088-4 [4]	[1] - [2] 131-18-0 [3] 605-50-5 [4]	N; R50	R: 60-61-50 S: 53-45-61		
607-427-00-7	heptanoat de bromoxinil (ISO) heptanoat de 2,6-dibromo-4-cianofenil		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 ftalat de butil benzil		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	praletrină ETOC 2,2-dimetil-3-(2-metilprop-1-enil) ciclopropan carboxilat de 2-metil-4-oxo-3-(prop-2-inil)ciclopent-2-en-1-il		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-metolaclor amestec de (*S*)-2-cloro-*N*-(2-etil-6-metil-fenil)-*N*-(2-metoxi-1-metil-etil)-acetamidă (80-100 %) [1] S-metolaclor (*R*)-2-cloro-*N*-(2-etil-6-metil-fenil)-*N*-(2-metoxi-1-metil-etil)-acetamidă (0-20 %) [2]		- [1] - [2]	87392-12-9 [1] 178961-20-1 [2]	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		
607-433-00-X	cipermetrină *cis*/*trans* +/-80/20 (*RS*); α-ciano-3-fenoxibenzil (1*RS*, 3*RS*; 1*RS*,3*SR*)-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropan carboxilat		257-842-9	52315-07-8	Xn; R22 Xi; R37/38 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-37/38-43-50/53 S: (2-)36/37/39-60-61		
607-434-00-5	mecoprop-P [1] şi sărurile sale acid (*R*)-2-(4-cloro-2-metilfenoxi)propionic		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	2,2-dihidroxiacetat de 2S-izopropil-5R-metil-1R-ciclohexil		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		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
607-436-00-6	neodecanoat de 2-hidroxi-3-(2-etil-4-metilimidazoil)propil		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	acid 3-(4-aminofenil)-2-ciano-2-propenoic		417-480-6	–	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-438-00-7	2-[(aminosulfonil)metil]benzoat de metil		419-010-5	–	Xn; R22 Xi; R36	Xn R: 22-36 S: (2-)22-26		
607-439-00-2	tetrahidro-2-furanocarboxilat de metil		420-670-1	37443-42-8	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-440-00-8	2-aminosulfonil-6-(trifluorometil)piridină-3-carboxilat de metil		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	acid 3-[3-(2-dodeciloxi-5-metilfenilcarbamoil)-4-hidroxi-1-naftiltio]propionic		421-490-6	167684-63-1	R53	R: 53 S: 57-61		
607-442-00-9	acetat de benzil [hidroxi(4-fenilbutil)fosfinil]		416-050-5	87460-09-1	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-36/39		
607-443-00-4	bis(2,4-di-terţ-butil-6-metilfenil)etilfosfat		416-140-4	145650-60-8	R 53	R: 53 S: 61		
607-444-00-X	Amestec de: dibenzoat de cis-1,4-dimetilciclohexil dibenzoat de trans-1,4-dimetilciclohexil		416-230-3	35541-81-2	R 53	R: 53 S: 61		
607-445-00-5	tris(4-metilbenzensulfonat) de fier (III)		420-960-8	77214-82-5	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)24-26-39		
607-446-00-0	2-[4-(2-cloro-4-nitrofenilazo) 3-(1-oxopropil)amino]fenilamino propionat de metil		416-240-8	155522-12-6	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)22-24-37-61		
607-447-00-6	4-[4-(4-hidroxifenilazo)fenilamino]-3-nitrobenzensulfonat de sodiu		416-370-5	156738-27-1	R 43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		
607-448-00-1	acid 2,3,5,6-tetrafluorobenzoic		416-800-1	652-18-6	Xi; R38-41	Xi R: 38-41 S: (2-)22-26-37/39		
607-449-00-7	Amestec de: tri[bis(2-metilpropil)naftalensulfonat] de 4,4′,4′′-[(2,4,6-		417-080-1	–	E; R2	E; Xi; N		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
	trioxo-1,3,5(2H,4H,6H)-triazin-1,3,5-triil)tris[metilen(3,5,5-trimetil-3,1-ciclohexandiil)iminocarboniloxi-2,1-etanediil(etil)amino]]trisbenzen diazoniu tri[bis(2-metilpropil)]; naftalensulfonat de 4,4′,4′′,4′′′-[[5,5′-[carbonilbis[imino(1,5,5-trimetil-3,1-ciclohexandiil)metilen]]-2,4,6-trioxo-1,3,5(2H,4H,6H)triazin-1,1′,3,3′-tetrail]tetrakis[metilen(3,5,5-trimetil-3,1-ciclohexandiil)iminocarboniloxi-2,1-etandiil(etil)-amino]](tetrakis benzendiazoniu tetra)[bis(2-metilpropil)]				R43 N; R50-53	R: 2-43-50/53 S: (2-)24-35-37-60-61		
607-450-00-2	izopropoxiiminoacetat de 2-mercaptobenzotiazolil (Z)-(2-aminotiazol-4-il)-2-(terţ-butilcarbonil)		419-040-9	89604-92-2	R 53	R: 53 S: 61		
607-451-00-8	acid 4-[4-amino-5-hidroxi-3-(4-(2-sulfoxietilsulfonil)fenilazo)-2,7-disulfonaft-6-ilazo]-6-[3-(4-amino-5-hidroxi-3-(4-(2-sulfoxietilsulfonil)fenilazo)-2,7-disulfonaft-6-ilazo]fenilcarbonil amino]benzen sulfonic, sare de sodiu		417-640-5	161935-19-9	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
607-453-00-9	bis(2,2′-dimetiloctanoat) de 4 benzil-2,6-di-hidroxi-4-aza-heptilen		418-100-1	172964-15-7	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
607-454-00-4	Amestec de: acid trans-2-(1-metiletil)-1,3-dioxane-5-carboxilic acid cis-2-(1-metiletil)-1,3-dioxan-5-carboxilic		418-170-3	–	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)25-26-39-61		
607-455-00-X	acid 1-amino-4-(3-[4-cloro-6-(2,5-di		419-520-8	172890-93-6	R 43	Xi		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
	-sulfofenilamino)-1,3,5-triazin-2-ilamino]-2,2-dimetil-propilamino)antrachinon-2-sulfonic, sare de sodiu/litiu					R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-456-00-5	ester hexadecilic al acidului 3-amino-4-clorobenzoic		419-700-6	143269-74-3	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-457-00-0	dihidrogen-1,1′′-dihidroxi-8,8′′-[p-fenilbis(imino{6-[4-(2-aminoetil)piperazin-1-il]}-1,3,5-triazin-4,2-diilimino)]bis(2,2′-azonaftalen-1′,3,6-trisulfonat) de tetrasodiu		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	Amestec de: propenoat de 2-etil[2,6-dibromo-4-[1-[3,5-dibromo-4-(2-hidroxietoxi)fenil]-1-metiletil]fenoxi] dipropenoat de 2,2′-dietil-[4,4′-bis(2,6-dibromofenoxi)-1-metiletiliden] 2,2′-[(1-metiltiliden)bis[[2,6-dibromo-4,1-fenilen)oxi]etanol]]		420-850-1	–	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-459-00-1	4-{2-[5-ciano-1,2,3,6-tetrahidro-1-(2-izopropoxietoxicarbonilmetil)-4-metil-2,6-dioxo-3-piridilideno]hidrazino} benzoat de izopentil		418-930-4	–	R53	R: 53 S: 61		
607-460-00-7	9-octadecenoat de 3-trideciloxipropilamoniu		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	Amestec de: 2-{4-{3-metil-4-[6-sulfonato-4-(2-sulfonato-fenilazo)naftalen-1-ilazo]fenilamino}-6-[3-(2-sulfatoetan sulfonil)fenilamino]-1,3,5-triazin-2-ilamino}benzen-1,4-disulfonat de pentasodiu; 2-{4-{3-metil-4-[7-sulfonato-4-(2-sulfonato-		421-160-1	–	R 52-53	R: 52/53 S: 61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
	fenilazo)naftalen-1-ilazo]fenilamino}-6-[3-(2-sulfatoetansulfonil)fenilamino]-1,3,5-triazin-2-ilamino}-benzen-1,4-disulfonat de pentasodiu							
607-462-00-8	Amestec de: acetat de 1-hexil acetat de 2-metil-1-pentil acetat de 3-metil-1-pentilacetat de 4-metil-1-pentil alte amestecuri de acetaţi de alchili C_6 lineari şi ramificaţi		421-230-1	88230-35-7	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-463-00-3	acid 3-(fenotiazin-10-il)propionic		421-260-5	362-03-8	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24/25-61		
607-464-00-9	Amestec de: acid 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-chinolein-3-carboxilic acid 5-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-chinolein-3-carboxilic		421-280-4	68077-26-9	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-465-00-4	7-{4-[4-(2-cianamino-4-hidroxi-6-oxidopirimidin-5-ilazo)benzamido]-2-etoxi-fenilazo} naftalen-1,3-disulfonat de tris(2-hidroxietil)amoniu		421-440-3	–	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-466-00-X	Amestec de: 1-(1-[2-cloro-5-(hexadeciloxicarbonil)fenil-carbamoil]-3,3-dimetil-2-oxobutil)-1H-2,3,3a,7a-tetra-hidrobenzotriazol-5-carboxilat de fenil 2-(1-(2-cloro-5-(hexadeciloxicarbonil)fenilcarbamoil)-3,3-dimetil-2-oxobutil)-1H-2,3,3a,7a-tetrahidrobenzotriazol-5-carboxilat de fenil 3-(1-(2-cloro-5-(hexadeciloxicarbonil)fenilcarbamoil)-3,3-dimetil-2-oxobutil)-1H-2,3,3a,7a-tetrahidrobenzotriazol-5-carboxilat de fenil		421-480-1	–	N; R51-53	N R: 51/53 S: 37/39-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
607-467-00-5	1,3-distaniu oxi dicaprilat de 1,1,3,3-tetrabutil		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	Amestec de: 4-((4-(5-sulfonato-2-metoxifenilamino)-6-cloro-1,3,5-triazin-2-il)amino)-2-((1,4-dimetil-6-oxido-2-oxo-5-sulfonatometil-1,2-dihidropiridin-3-il)azo) benzensulfonat de monosodiu 4-((4-(5-sulfonato-2-metoxifenilamino)-6-cloro-1,3,5-triazin-2-il)amino)-2-((1,4-dimetil-6-oxido-2-oxo-5-sulfonatometil-1,2-dihidropiridin-3-il)azo) benzensulfonat de disodiu 4-((4-(5-sulfonato-2-metoxifenilamino)-6-cloro-1,3,5-triazin-2-il)amino)-2-((1,4-dimetil-6-oxido-2-oxo-5-sulfonatometil-1,2-dihidropiridin-3-il)azo) benzensulfonat de trisodiu 4-((4-(5-sulfonato-2-metoxifenilamino)-6-cloro-1,3,5-triazin-2-il)amino)-2-((1,4-dimetil-6-oxido-2-oxo-5-sulfonatometil-1,2-dihidropiridin-3-il)azo) benzensulfonat de tetrasodiu		419-450-8	–	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-469-00-6	7-((4,6-bis(3-dietilaminopropilamino)-1,3,5-triazin-2-il)amino)-4-hidroxi-3-(4-(4-sulfonatofenilazo)fenilazo)-2-naftalensulfonat de disodiu		419-460-2	120029-06-3	R52-53	R: 52/53 S: 61		
607-470-00-1	6,13-dicloro-3,10-bis{2-[4-[3-(2-hidroxisulfoniloxietanesulfonil) fenilamino]-6-(2,5-disulfonatofenilamino)-1,3,5-triazin-2-ilamino]etilamino}benzo[5,6]		414-100-0	–	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)39-22-26-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
	[1,4]oxazino[2,3-b]fenoxazin-4,11-disulfonat de potasiu şi de sodiu							
607-472-00-2	trimetilen diamin tetraacetat de amoniu şi de fier(III), hemihidrat		400-660-3	111687-36-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-474-00-3	acid 4(-4-(4-dimetilaminobenziliden-1-il)-3-metil-5-oxo-2-pirazolin-1-il)benzoic		410-430-4	117573-89-4	R53	R: 53 S: 61		
607-475-00-9	Amestec (50/50) de: 7-(4-[4-cloro-6-[metil-(3-sulfonatofenil)amino]-1,3,5-triazin-2-ilamino]-2-ureidofenilazo)naftaleno-1,3,6-trisulfonat de tetrasodiu 7-(4-[4-cloro-6-[metil-(4-sulfonatofenil)amino]-1,3,5-triazin-2-ilamino]-2-ureidofenilazo)naftaleno-1,3,6-trisulfonat de tetrasodiu		412-940-2	148878-18-6	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-476-00-4	trisodiu N,N-bis(carboximetil)-ß-alanină		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	hidrogenoftalat de tetrametilamoniu		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	4-cloro-3-[2-(5,5-dimetil-2,4-dioxo-1,3-oxazolidin-3-il)-4,4-dimetil-3-oxopentamido]benzoat de hexadecil		418-550-9	168689-49-4	R53	R: 53 S: 61		
607-480-00-6	diesteri alchilici C_{7-11} ramificaţi şi lineari ai acidului 1,2-benzendicarboxilic		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	Amestec de: 4-(3-etoxicarbonil-4-(5-(3-etoxicarbonil-5-hidroxi-1-(4-sulfonatofenil)pirazol-4-il)penta-2,4-dieniliden)-4,5-dihidro-5-oxopirazol-1-il)benzensulfonat de disodiu		402-660-9	–	Repr. Cat.2; R61 R52-53	T R: 61-52/53 S: 53-45-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
	4-(3-etoxicarbonil-4-(5-(3-etoxicarbonil-5-oxido-1-(4-sulfonatofenil)pirazol-4-il)penta-2,4-dieniliden)-4,5-dihidro-5-oxopirazol-1-il)benzensulfonat de trisodiu							
607-488-00-X	(2-acetilamino-5-fluoro-4-izotiocianatofenoxi)acetat de etil		414-210-9	147379-38-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-489-00-5	Amestec de: linolenat, linoleat şi oleat de 2-etilhexil epoxioleat de 2-etilhexil diepoxilinoleat de 2-etilhexil triepoxilinolenat de 2-etilhexil		414-890-7	71302-79-9	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
607-490-00-0	glicinat de N-[2-hidroxi-3-(C_{12-16}-alchiloxi)propil]-N-metil		415-060-7	–	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-492-00-1	propanoat de 2-(1-(3′,3′-dimetil-1′-ciclohexil)etoxi)-2-metilpropil		415-490-5	141773-73-1	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-493-00-7	(3aR,4R,7aR)-2-metil-4-(1S,2R,3-triacetoxipropil)-3a,7a-dihidro-4H-pirano[3,4-d]oxazol-6-carboxilat de metil		415-670-3	78850-37-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-494-00-2	octilfosfonat de bis(2-etilhexil)		417-170-0	52894-02-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-495-00-8	4-sulfofenil-6-((1-oxononil)amino) hexanoat de sodiu		417-550-6	168151-92-6	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
607-496-00-3	fosfit de 2,2′-metilenbis(4,6-di-terţ-butilfenil) şi de 2-etilhexil		418-310-3	126050-54-2	R53	R: 53 S: 61		
607-497-00-9	izostearat de oxid de ceriu		419-760-3	–	R53	R: 53 S: 61		
607-498-00-4	hexadecanoat de (E)-3,7-dimetil-2,6-octadienil		421-370-3	3681-73-0	Xi; R38 R53	Xi R: 38-53 S: (2-)37-61		
607-499-00-X	1,2-etanediil-bis(2-hexadecenilsuccinat) de bis(dimetil(2-hidroxietil)amoniu)		421-660-1	–	Xi; R41 R43 N; R51-53	Xi; N R: 41-43-51/53 S: (2-)24-26-37/39-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
607-500-00-3	2,2,bis[(5-tetrapropilen-2-hidroxi)fenil]etanoat de calciu		421-670-4	–	Xi; R38 N; R50-53	Xi; N R: 38-50/53 S: (2-)37-60-61		
607-501-00-9	Amestec de: trifeniltiofosfat şi derivaţi butilaţi terţiari ai fenilului		421-820-9	–	R53	R: 53 S: 61		
607-502-00-4	4-dodecilbenzensulfonat de (N-benzil-N,N,N-tributil)amoniu		422-200-0	–	C; R34 Xn; R22 N; R51-53	C; N R: 22-34-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		
607-503-00-X	2,4,6-tri-n-propil-2,4,6-trioxo-1,3,5,2,4,6-trioxatrifosforinan		422-210-5	68957-94-8	C; R34	C R: 34 S: (1/2-)26-36/37/39-45		
607-505-00-0	7-(4-(4-(5-amino-4-sulfonato-2-(4-((2-(sulfonatoetoxi)sulfonil) fenilazo)fenilamino)-6-cloro-1,3,5-triazin-2-il)amino-2-ureidofenilazo)naftalen-1,3,6-trisulfonat de pentasodiu		422-930-1	171599-84-1	R52-53	R: 52/53 S: 22-61		
607-506-00-6	Amestec de: (4-cloro-2-((4,5-dihidro-3-metil-5-oxo-1-(3-sulfonatofenil)-1H-pirazol-4-il)azo)-5-metil)benzensulfonat de stronţiu (4-cloro-2-((4,5-dihidro-3-metil-5-oxo-1-(3-sulfonatofenil)-1 *H*-pirazol-4-il)azo)-5-metil)benzensulfonat de disodiu		422-970-8	136248-04-9	N; R51-53	N R: 51/53 S: 22-61		
607-507-00-1	2,4-diamino-3-[4-(2-sulfonatoetoxisulfonil)fenilazo]-5-[4-(2-sulfonatoetoxisulfonil)-2-sulfonatofenilazo]benzensulfonat de potasiu/sodiu		422-980-2	187026-95-5	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
607-508-00-7	3,3′-[iminobis[sulfonil-4,1-fenilen-(5-hidroxi-3-metilpirazol-1,4-diil)azo-4,1-fenilensulfonilimino-(4-amino-6-hidroxipirimidină-2,5-		423-110-4	–	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
	diil)azo-4,1-fenilensulfonilimino(4-amino-6-hidroxipirimidină-2,5-diil)azo]bis(benzensulfonat)] de disodiu							
607-512-00-9	2,4-diamino-3,5-bis-[4-(2-sulfonatoetoxi)sulfonil)fenilazo] benzensulfonat de trisodiu		423-970-0	182926-43-8	R52-53	R: 52/53 S: 22-61		
607-513-00-4	Amestec de: 4-benzoilamino-6-(6-etensulfonil-1-sulfato-naftalen-2-ilazo)-5-hidroxinaftaleno-2,7-disulfonat de trisodiu sare de sodiu a acidului 5-(benzoilamino)-4-hidroxi-3-((1-sulfo-6-((2-(sulfooxi)etil)sulfonil)-2-naftil)azo)naftaleno-2,7-disulfonic acid 5-(benzoilamino)-4-hidroxi-3-((1-sulfo-6-((2-(sulfooxi)etil)sulfonil)-2-naftil)azo)naftalen-2,7-disulfonic		423-200-3	–	Xi; R41 R43 R52-53	Xi R: 41-43-52/53 S: 22-26-36/37/39-61		
607-515-00-5	Amestec de: disulfonat disodic de eter hexildifenilic, disulfonat disodic de eter dihexildifenilic		429-650-7	147732-60-3	Xi; R36 N; R51-53	Xi; N R: 36-51/53 S: (2-)26-61		
607-516-00-0	N,N′-bis(trifluoroacetil)-S,S′-bis-L-homocisteină		429-670-6	105996-54-1	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-517-00-6	(acid (S)-α-(acetiltio)benzen-propanoic		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	cartap 1,3-bis(carbamoiltio)-2-(dimetilamino)propan		–	15263-53-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-527-00-0	Amestec de: dodecanodioat de 1-(1′H,1′H,2′H,2′H-tridecafluorooctil)-12-(1′′H,1′′H,2′′H,2′′H-tridecafluorooctil)dodecanodioat de 1-(1′H,1′H,2′H,2′H-		423-180-6	–	Xn; R48/22	Xn R: 48/22 S: (2-)36		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
	tridecafluorooctil)-12-(1''H,1''H,2''H,2''H-heptdecafluorodecil) dodecanodioat de 1-(1'H,1'H,2'H,2'H-tridecafluorooctil)-12-(1''H,1''H,2''H,2''H-heneicosafluorododecil) dodecanodioat de 1-(1'H,1'H,2'H,2'H-tridecafluorooctil)-12-(1''H,1''H,2''H,2''H-pentacosafluorotetradecil) dodecanodioat de 1-(1'H,1'H,2'H,2'H-heptadecafluorodecil)-12-(1''H,1''H,2''H,2''H-heptadecafluorodecil) dodecanodioat de 1-(1'H,1'H,2'H,2'H-heptadecafluorodecil)-12-(1''H,1''H,2''H,2''H-heneicosafluorododecil)							
608-031-00-7	2-benzil-2-metil-3-butenitril		407-870-4	97384-48-0	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)61		
608-033-00-8	N-butil-3-(2-cloro-4-nitrofenilhidrazono)-1-ciano-2-metilprop-1-en-1,3-dicarboximidă		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	clorfenapir 4-bromo-2-(4-clorofenil)-1-etoximetil-5-trifluorometilpirol-3-carbonitril		–	122453-73-0	T; R23 Xn; R22 N; R50-53	T; N R: 22-23-50/53 S: (1/2-)13-36/37-45-60-61		
608-035-00-9	(+/-)-α-[(2-acetil-5-metilfenil)amino]-2,6-diclorobenzen-acetonitril		419-290-9	–	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
608-036-00-4	3-(2-{4-[2-(4-cianofenil)vinil]fenil}vinil)benzonitril		419-060-8	79026-02-1	R 53	R: 53 S: 61		
608-037-00-X	Amestec de: (E)-2,12-tridecadienonitril		422-190-8	124071-40-5	N; R50-53	N R: 50/53		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
	(E)-3,12-tridecadieno-nitril (Z)-3,12-tridecadieno-nitril					S: 60-61		
608-038-00-5	2,2,4-trimetil-4-fenilbutanonitril		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-fenilhexanonitril		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′-ditiobis(5-amino-1-(2,6-dicloro-4-(trifluorometil)fenil)-1H-pirazole-3-carbonitril)		423-490-1	130755-46-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
608-041-00-1	4′-((2-butil-4-oxo-1,3-diazaspiro[4.4]non-1-en-3-il)metil)(1,1′-bifenil)-2-carbonitril		423-500-4	138401-24-8	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
608-043-00-2	3-(cis-3-hexeniloxi)propano-nitril		415-220-6	142653-61-0	T; R23 Xn; R22 N; R50-53	T; N R: 22-23-50/53 S: (1/2-)13-36/37-45-60-61		
609-064-00-X	mesotrion 2-[4-(metilsulfonil)-2-nitrobenzoil]-1,3-ciclohexanedionă		–	104206-82-8	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
609-066-00-0	3-amino-10-{4-(10-amino-6,13-dicloro-4,11-disulfonatobenzo[5,6][1,4]oxazino[2,3-b]fenoxazin-3-ilamino)-6-[metil-(2-sulfonatoetil)amino]-1,3,5-triazin-2-ilamino}-6,13-diclorobenzo[5,6][1,4]oxazino[2,3-b]fenoxazină-4,11-disulfonat de litiu și de sodiu		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	săruri de sodiu și potasiu de 4-(3-aminopropilamino)-2,6-bis[3-(4-metoxi-2-sulfofenilazo)-4-hidroxi-2-sulfo-7-naftilamino]-1,3,5-triazină		416-280-6	156769-97-0	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
609-068-00-1	mosc-xilen 5-*terț*-butil-2,4,6-trinitro-*m*-xilen		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		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
609-070-00-2	1,4-dicloro-2-(1,1,2,3,3,3-hexafluoropropoxi)-5-nitrobenzen		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	Amestec de: 2-metilsulfanil-4,6-bis-(2-hidroxi-4-metoxi-fenil)-1,3;5-triazină 2-(4,6-bis-metilsulfanil-1,3,5-triazin-2-il)-5-metoxifenol		423-520-3	156137-33-6	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-099-00-0	diclorhidrat de diclorură de (metilenbis(4,1-fenilenazo(1-(3-(dimetilamino)propil)-1,2-dihidro-6-hidroxi-4-metil-2-oxopiridin-5,3-diil)))-1,1′-dipiridiniu		401-500-5	–	Carc. Cat.2; R45 N; R51-53	T; N R: 45-51/53 S: 53-45-61		
611-100-00-4	3,3′-(3(sau 4)-metil-1,2-fenilenbis(imino(6-cloro)-1,3,5-triazin-4,2-diilimino(2-acetamido-5-metoxi)-4,1-fenilenazo)dinaftalen-1,5-disulfonat de potasiu şi de sodiu		403-810-6	140876-13-7	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
611-101-00-X	2′-(4-cloro-3-ciano-5-formil-2-tienil)azo-5′-dietilaminoacetanilidă		405-200-5	104366-25-8	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-103-00-0	(1-(3-carboxilato-2-oxido-5-sulfonatofenilazo)-5-hidroxi-7-sulfonatonaftalen-2-amido)nichel(II) de trisodiu		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	Amestec de: (2,4(sau 2,6 sau 4,6)-bis(3,5-dinitro-2-oxidofenilazo)-5-hidroxifenolato)(2(sau 4 sau 6)-(3,5-dinitro-2-oxidofenilazo)-5-hidroxi-4(sau 2 sau 6)-(4-(4-nitro-2-sulfonatoanilino)fenilazo)fenolato) ferat (1-) de trisodiu bis(2,4(sau 2,6 sau 4,6)-bis(3,5-dinitro-2-oxidofenilazo)-5-hidroxifenolato)ferat(1-) de trisodiu; (2,4(sau 2,6 sau 4,6)-		406-870-1	–	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
	bis(3,5-dinitro-2-oxidofenilazo)-5-hidroxifenolato)(2(sau 4 sau 6)-(3,5-dinitro-2-oxidofenilazo)-5-hidroxi-4(sau 2 sau 6)-(4-nitro-2-sulfonatofenilazo)fenolato)ferat(1-) de trisodiu (2,4(sau 2,6 sau 4,6) bis(3,5-dinitro-2-oxidofenilazo)-5-hidroxifenolato)(2(sau 4 sau 6)-(3,5-dinitro-2-oxidofenilazo)-5-hidroxi-4(sau 2 sau 6)-(3-sulfonatofenilazo)fenolato)ferat(1-) de trisodiu 3,3′-(2,4-dihidroxi-1,3(sau 1,5 sau 3,5)fenilendiazo)dibenzensulfonat de disodiu							
611-105-00-1	4-(4-cloro-6-(N-etilanilino)-1,3,5-triazine-2-ilamino)-2-(1-(2-clorofenil)-5-hidroxi-3-metil-1H-pirazol-4-ilazo)benzensulfonat de sodiu		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	4,4′-dihidroxi-3,3′-bis[2-sulfonato-4-(4-sulfonatofenilazo) fenilazo]-7,7′[p-fenilenobis[imino(6-cloro-1,3,5-triazin-4,2-diil)imino]]dinaftalen-2-sulfonat de hexasodiu		410-180-6	–	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
611-107-00-2	4-(4-cloro-6-(3,6-disulfonato-7-(5,8-disulfonato-naftalen-2-ilazo)-8-hidroxi-naftalen-1-ilamino)-1,3,5-triazin-2-ilamino)-5-hidroxi-6-(4-(2-sulfatoetanosulfonil)fenilazo)-naftalen-1,7-disulfonat de potasiu și de sodiu		412-490-7	–	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-108-00-8	5-((4-((4-cloro-3-sulfonatofenil)azo)-1-naftil)azo)-8-(fenilamino)-1-naftalensulfonat de disodiu		413-600-6	6527-62-4	R 52-53	R: 52/53 S: 61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
611-109-00-3	Produse de reacţie: sulfat de cupru(II) şi 2,4-bis[6-(2-metoxi-5-sulfonatofenilazo)-5-hidroxi-7-sulfonato-2-naftilamino]-6-(2-hidroxietilamino)-1,3,5-triazină de tetrasodiu (2:1)		407-710-3	–	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
611-110-00-9	4,4′-bis-(8-amino-3,6-disulfonato-1-naftol-2-ilazo)-3-metilazobenzen de tetrasodiu/litiu		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	2-[[4-(2-cloroetilsulfonil)fenil]-[[2-hidroxi-5-sulfo-3-]3-]2-(2-(sulfooxi)etilsulfonil)etilazo]-4-sulfobenzoato(3-)cuprat(1-) de disodiu		414-230-8	–	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-112-00-X	4-hidroxi-5-[4-[3-(2-sulfato-etanosulfonil)fenilamino]-6-morfolin-4-il-1,3,5-triazin-2-ilamino]-3-(1-sulfonatonaftalen-2-ilazo)naftalen-2,7-disulfonat de tetrasodiu		413-070-6	–	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-113-00-5	(2-(((5-((2,5-diclorofenil)azo)-2-hidroxifenil)metilen)amino) benzoato(2-))(2-((4,5-dihidro-3-metil-5-oxo-1-fenil-1H-pirazol-4-il)azo)-5-sulfobenzoato(3-))cromat(2-) de litiu şi de sodiu		414-280-0	149626-00-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24/25-61		
611-114-00-0	(4-((5-cloro-2-hidroxifenil)azo)-2,4-dihidro-5-metil-3H-pirazol-3-onato(2-))(3-((4,5-dihidro-3-metil-1-(4-metilfenil)-5-oxo-1H-pirazol-4-il)azo)-4-hidroxi-5-nitrobenzensulfonato(3-))cromat(2-) de litiu și de sodiu		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	bis(4-((4-(dietilamino)-2-hidroxifenil)azo)-3-hidroxi-1-naftalensulfonato(3-))cromat(3-) de trilitiu		414-290-5	149564-65-8	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
611-116-00-1	Amestec de: 5-{4-cloro-6-[2-(2,6-dicloro-5-cianopirimidin-4-ilamino)propilamino]-1,3,5-triazin-2-ilamino}-4-hidroxi-3-(1-sulfonato-naftalen-2-ilazo)-naftaleno-2,7-disulfonat de trisodiu 5-{4-cloro-6-[2-(2,6-dicloro-5-cianopirimidin-4-ilamino)-1-metil-etilamino]-1,3,5-triazin-2-ilamino}-4-hidroxi-3-(1-sulfonato-naftalen-2-ilazo)-naftaleno-2,7-disulfonat de trisodiu 5-{4-cloro-6-[2-(4,6-dicloro-5-cianopirimidin-2-ilamino)-propilamino]-1,3,5-triazin-2-ilamino}-4-hidroxi-3-(1-sulfonato-naftalen-2-ilazo)-naftalen-2,7-disulfonat de trisodiu 5-{4-cloro-6-[2-(4,6-dicloro-5-cianopirimidin-2-ilamino)-1-metil-etilamino]-1,3,5-triazin-2-ilamino}-4-hidroxi-3-(1-sulfonato-naftalen-2-ilazo)-naftalen-2,7-disulfonat de trisodiu		414-620-8	–	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-117-00-7	sare de sodiu și de litiu a 1,3-bis-{6-fluoro-4-[1,5-disulfo-4-(3-aminocarbonil-1-etil-6-hidroxi-4-metil-pirid-2-onă-5-ilazo)-fenil-2-ilamino]-1,3,5-triazin-2-ilamino} propan		415-100-3	149850-29-3	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-118-00-2	sare de sodiu a 1,2-bis-[4-[4-{4-(4-sulfofenilazo)-2-sulfofenilazo}-2-ureido-fenilamino]-6-fluoro-1,3,5-triazin-2-ilamino] propan		413-990-8	149850-31-7	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-119-00-8	4-[4-cloro-6-(4-metil-2-sulfofenilamino)-1,3,5-triazin-2-ilamino]-6-(4,5-dimetil-2-sulfofenilazo)-5-hidroxinaftalen-2,7-disulfonat de tetrasodiu		415-400-4	148878-22-2	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
611-120-00-3	sare de sodiu a acidului 5-{4-[5-amino-2-[4-(2-sulfoxietil-sulfonil)fenilazo]-4-sulfo-fenilamino]-6-cloro-1,3,5-triazin-2-ilamino}-4-hidroxi-3-(1-sulfonaftalen-2-ilazo)-naftalen-2,7-disulfonic		418-340-7	157707-94-3	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)22-26-39-61		
611-121-00-9	Component principal 6 (izomer): complex asim. 1:2 Cr(III) de: A: 3-hidroxi-4-(2-hidroxinaftalen-1-ilazo)naftalen-1-sulfonat de sodiu şi B: 1-[2-hidroxi-5-(4-metoxifenilazo)fenilazo]naftalen-2-ol Component principal 8 (izomer): complex asim. 1:2 Cr de: A: 3-hidroxi-4-(2-hidroxi-naftalen-1-ilazo)naftalen-1-sulfonat de sodiu şi B: 1-[2-hidroxi-5-(4-metoxifenilazo)fenilazo]naftalen-2-ol		417-280-9	30785-74-1	Xi; R41 N; R50-53	Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
611-122-00-4	(di-[N-(3-(4-[5-(5-amino-3-metil-1-fenilpirazol-4-il-azo)-2,4-disulfo-anilino]-6-cloro-1,3,5-triazin-2-ilamino)fenil)sulfamoil](di-sulfo)-ftalocianinato)nichel de hexasodiu		417-250-5	151436-99-6	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-123-00-X	lactat de 3-(2,4-bis(4-((5-(4,6-bis(2-aminopropilamino)-1,3,5-triazin-2-ilamino)-4-hidroxi-2,7-disulfonaftalen-3-il)azo)-fenilamino)-1,3,5-triazin-6-ilamino)propil dietil amoniu		424-310-4	178452-66-9	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
611-124-00-5	Amestec de: 5-amino-3-(5-{4-cloro-6-[4-(2-sulfoxietoxisulfonato)fenilamino]-1,3,5-triazin-2-ilamino}-2-sulfonatofenilazo)-6-[5-(2,3-dibromopropionilamino)-2-sulfonatofenilazo]-4-hidroxinaftalen-2,7-disulfonat de pentasodiu		424-320-9	180778-23-8	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
	5-amino-6-[5-(2-bromoacriloilamino)-2-sulfonatofenilazo]-3-(5-{4-cloro-6-[4-(2-sulfoxietoxisulfonato) fenilamino]-1,3,5-triazin-2-ilamino}-2-sulfonatofenilazo)-4-hidroxinaftalen-2,7-disulfonat de pentasodiu 5-amino-3-[5-{4-cloro-6-[4-(vinilsulfonil)fenilamino]-1,3,5-triazin-2-ilamino}-2-sulfonatofenilazo]-6-[5-(2,3-dibromo-propionilamino)-2-sulfonatofenilazo]-4-hidroxinaftalen-2,7-disulfonat de tetrasodiu							
611-125-00-0	Amestec de: sare disodică a complexului 6-[3-carboxi-4,5-dihidro-5-oxo-4-sulfonatofenil)pirazolin-4-ilazo]-3-[2-oxido-4-(etensulfonil)-5-metoxifenilazo]-4-oxidonaftalen-2-sulfonat de cupru (II) sare disodică a complexului 6-[3-carboxi-4,5-dihidro-5-oxo-4-sulfonatofenil)pirazolin-4-ilazo]-3-[2-oxido-4-(2-hidroxietilsulfonil)-5-metoxifenilazo]-4-oxidonaftaien-2-sulfonat de cupru(II)		423-940-7	–	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
611-126-00-6	diclorură de 2,6-bis-(2-(4-(4-amino-fenilamino)-fenilazo)-1,3-dimetil-3H-imidazol)-4-dimetilamino-1,3,5-triazină		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	4-amino-6-(5-(4-(2-etil-fenilamino)-6-(2-sulfatoetanesulfonil)-1,3,5-triazin-2-ilamino)-2-sulfonatofenilazo)-5-hidroxi-3-(4-(2-sulfatoetanesulfonil)fenilazo) naftalen-2,7-disulfonat de pentasodiu		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		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
611-128-00-7	sare de sodiu a acidului N,N′-bis{6-cloro-4-[6-(4-vinilsulfonilfenilazo)-2,7-disulfonic-5-hidroxi-nafto-4-ilamino]-1,3,5-triazin-2-il}-N-(2-hidroxietil)etan-1,2-diamină		419-500-9	171599-85-2	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-129-00-2	Amestec de: acid 5-[(4-[(7-amino-1-hidroxi-3-sulfo-2-naftil)azo]-2,5-dietoxifenil)azo]-2-[(3-fosfonofenil)azo]benzoic acid 5-[(4-[(7-amino-1-hidroxi-3-sulfo-2-naftil)azo]-2,5-dietoxifenil)azo]-3-[(3-fosfonofenil)azo]benzoic		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	2-[6-[7-(2-carboxilatofenilazo)-8-hidroxi-3,6-disulfonato-1-naftilamino]-4-hidroxi-1,3,5-triazin-2-ilamino]benzoat de tetraamoniu		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-hidroxi-3-(2-clorofenil)carbamoil-1-naftilazo]-7-[2-hidroxi-3-(3-metilfenil)carbamoil-1-naftilazo]fluoren-9-onă		420-580-2	–	Repr. Cat.2; R61 R 53	T R: 61-53 S: 53-45-61		
611-132-00-9	bis{7-[4-(1-butil-5-ciano-1,2-dihidro-2-hidroxi-4-metil-6-oxo-3-piridilazo)fenilsulfonilamino]-5′-nitro-3,3′-disulfonatonaftalen-2-azobenzen-1,2′-diolato)}cromat (III) de pentasodiu		419-210-2	–	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
611-133-00-4	Complex de fier produs la fabricarea coloranților azo obținuți prin cuplarea unui amestec de 2-amino-1-hidroxibenzen-4-sulfanilide diazote și 2-amino-1-hidroxibenzen-4-sulfonamide cu resorcinol, amestecul obținut fiind apoi supus unei a doua		419-260-5	–	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
	reacții de cuplare cu un amestec de acid 3-aminobenzen-1-sulfonic (acid metanilic)diazot și de acid 4′-amino-4-nitro-1,1′-difenilamino-2-sulfonic și metalizare cu clorură ferică, sare sodică							
611-134-00-X	2-{α[2-hidroxi-3-[4-cloro-6-[4-(2,3-dibromopropionilamino)-2-sulfonatofenilamino]-1,3,5-triazin-2-ilamino]-5-sulfonato-fenilazo]-benzilidenhidrazino}-4-sulfonatobenzoat de trisodiu, complexe de cupru		423-770-3	–	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)22-26-39-61		
611-135-00-5	Produs de reacție: acid 2-[[4-amino-2-ureidofenilazo]-5-[(2-(sulfooxi)etil)sulfonil]]benzen sulfonic cu 2,4,6-trifluoro-pirimidina, urmată de o hidroliză parțială și obținerea de săruri double de potasiu/sodiu		424-250-9	–	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
611-136-00-0	formiat de2-{4-(2-amoniopropilamino)-6-[4-hidroxi-3-(5-metil-2-metoxi-4-sulfamoilfenilazo)-2-sulfonatonaft-7-il amino]-1,3,5-triazin-2-ilamino}-2-aminopropil		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-terț-butil-7-cloro-3-tridecil-7,7a-dihidro-1H-pirazol[5,1-c]-1,2,4-triazol		419-870-1	159038-16-1	R 53	R: 53 S: 61		
611-138-00-1	2-(4-aminofenil)-6-terț-butil-1H-pirazol[1,5-b][1,2,4]triazol		415-910-7	152828-25-6	R43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)22-24-37-61		
611-140-00-2	azafenidină		–	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′-(dibutilamino)-3′-metil-2′-(fenilamino)spiro [izobenzofuran		403-830-5	89331-94-2	R 52-53	R: 52/53		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
	-1(3H),9-(9H)-xanten]-3-onă					S: 61		
612-185-00-0	iodură de 1-[3-[4-((heptadecafluorononil)oxi) benzamido]propil]-N,N,N-trimetilamoniu		407-400-8	59493-72-0	Xi; R41 N; R50-53	Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
612-186-00-6	sulfat de bis(N-(7-hidroxi-8-metil-5-fenilfenazin-3-iliden)dimetilamoniu)		406-770-8	149057-64-7	Xn; R48/22 Xi; R41 R 43 N; R50-53	Xn; N R: 41-43-48/22-50/53 S: (2-)22-26-36/37/39-60-61		
612-187-00-1	2,3,4-trifluoroanilină		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-iliden)bis(2-cloroanilină)		407-560-9	107934-68-9	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
612-189-00-2	diclorhidrat de 4-amino-2-(aminometil)fenol		412-510-4	135043-64-0	Xn; R22 R 43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)22-24-37-60-61		
612-190-00-8	4,4′-metilenbis(2-izopropil-6-metilanilină)		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	Polimer al hidroclorurii de alilamină		415-050-2	71550-12-4	Xn; R22 R 43	Xn R: 22-43 S: (2-)36/37		
612-192-00-9	2-izopropil-4-(N-metil)aminometiltiazol		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-metilaminometilfenilamină		414-570-7	18759-96-1	Xn; R21/22 C; R34 R 43 N; R50-53	C; N R: 21/22-34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
612-194-00-X	clorură de 2-hidroxi-3-[(2-hidroxietil)-[2-(1-oxotetradecil) amino]etil]amino]-N,N,N-trimetil-1-propanamoniu		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	1,5-naftalen disulfonat de bis[tributil(4-metilbenzil)amoniu]		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		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
612-196-00-0	4-cloro-*o*-toluidină [1] hidroclorură de 4-cloro-*o*-toluidină [2]	E	202-441-6 [1] 221-627-8 [2]	95-69-2 [1] 3165-93-3 [2]	Carc. Cat.2; R45 Muta. Cat.3; R68 T; R23/24/25 N; R50-53	T; N R: 45-23/24/25-68-50/53 S: 53-45-60-61		
612-197-00-6	2,4,5-trimetilanilină [1] hidroclorură de 2,4,5-trimetilanilină [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′-tiodianiline [1] și sărurile sale	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′-oxidianiline [1] și sărurile sale *p*-aminofenil eter	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-diaminoanizol 4-metoxi-*m*-fenilendiamină [1] sulfat de 2,4-diaminoanizol [2]		210-406-1 [1] 254-323-9 [2]	615-05-4 [1] 39156-41-7 [2]	Carc. Cat.2; R45 Muta. Cat.3; R68 Xn; R22 N; R51-53	T; N R: 45-22-68-51/53 S: 53-45-61		
612-201-00-6	*N*,*N*,*N*′,*N*′-tetrametil-4,4′-metilen dianilină		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-dicloroanilină		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. Violet Base 3 clorură de 4-[4,4′-bis(dimetilamino)benzhidriliden] ciclohexa-2,5-dien-1-iliden]dimetilamoniu		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. Violet Base 3 cu ≥ 0,1 % cetona lui Michler (nr. CE 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	famoxadonă 3-anilino-5-metil-5-(4-fenoxifenil)-1,3-oxazolidin-2,4-dionă		–	131807-57-3	Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-50/53 S: (2-)46-60-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
612-209-00-X	6-metoxi-*m*-toluidină *p*-cresidină	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*-toluidină [1] hidroclorură de 5-nitro-*o*-toluidină [2]		202-765-8 [1] 256-960-8 [2]	99-55-8 [1] 51085-52-0 [2]	Carc. Cat.3; R40 T; R23/24/25 R52-53	T R: 23/24/25-40-52/53 S: (1/2-)36/37-45-61		
612-211-00-0	N-[(benzotriazol-1-il)metil)]-4-carboxibenzensulfonamidă		416-470-9	–	Xi; R36 N; R51-53	Xi; N R: 36-51/53 S: (2-)26-61		
612-212-00-6	2,6-dicloro-4-trifluorometilanilină		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	izobutiliden-(2-(2-izopropil-4,4-dimetiloxazolidin-3-il)-1,1-dimetiletil)amină		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-difeniletenil)-N,N-difenilbenzenamină		421-390-2	89114-90-9	R 53	R: 53 S: 61		
612-215-00-2	3-cloro-2-(izopropiltio)anilină		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-metoxi-2-propilamină		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-dimetil-perhidro-pirimidin-2-onă α-(4-trifluorometilstiril)-α-(4-trifluorometil)cinamiliden hidrazonă		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	clorură de 1-(1-naftil metil)chinolină		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	Amestec de: 5-(N-metil-perfluoro octilsulfonamido)metil-3-octadecil-1,3-oxazolidin-2-onă; 5-(N-		413-640-4	–	Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-50/53 S: (2-)36-60-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
	metilperfluoro heptilsulfonamido)metil-3-octadecil-1,3-oxazolidin-2-onă							
613-184-00-8	2-etilhexanoat de nitrilotrietilen amoniopropan-2-ol		413-670-8	–	Xi; R36 R 43	Xi R: 36-43 S: (2-)24-26-37		
613-185-00-3	2,3,5,6-tetrahidro-2-metil-2H-ciclopenta[d]-1,2-tiazol-3-onă		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	acetat de (2R,3R)-3-((R)-1-terţ-butil dimetilsiloxi)etil)-4-oxoazetidin-2-il		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-fluorofenoxi)propil)-3-metoxi-4-piperidinonă		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-toluensulfonil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan		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	1-amino-4-(2-(5-cloro-6-fluoro-pirimidin-4-ilamino-metil)-4-metil-6-sulfofenilamino)-9,10-dioxo-9,10-dihidro antracen-2-sulfonat de disodiu		414-040-5	149530-93-8	Xn; R22 R 43	Xn R: 22-43 S: (2-)22-24-37		
613-191-00-6	3-etil-2-metil-2-(3-metilbutil)-1,3-oxazolidină		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	heptalactat de pentakis[3-(dimetilamonio)propilsulfamoil][(6-hidroxi-4,4,8,8-tetrametil-4,8-diazoniaundecan-1,11-diildisulfamoil)di[ftalocianină cupru(II)]]		414-930-3	–	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
613-194-00-2	sare de sodiu/litiu a acidului 6,13-dicloro-3,10-bis-{2-[4-fluoro-6-(2-sulfofenilamino)-1,3,5-triazin-2-ilamino]propilamino}benzo[5,6][1,4]oxazino[2,3-b]fenoxazină-4,1]		418-000-8	163062-28-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
	-disulfonic							
613-195-00-8	2,2-(1,4-fenilen)bis(4H-3,1-benzoxazin-4-onă)		418-280-1	18600-59-4	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
613-196-00-3	sare de sodiu a acidului 5-[[4-cloro-6-[[2-[[4-fluoro-6-[[5-hidroxi-6-[(4-metoxi-2-sulfofenil)azo]-7-sulfo-2-naftalenil]amino]-1,3,5-triazin-2-il]amino]-1-metiletil]amino]-1,3,5-triazin-2-il]amino]-3-[[4-(etenilsulfonil)fenil]azo]-4-hidroxi-naftalen-2,7-disulfonic		418-380-5	168113-78-8	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
613-197-00-9	Amestec de: 2,4,6-tri(butilcarbamoil)-1,3,5-triazină; 2,4,6-tri(metilcarbamoil)-1,3,5-triazină; [(2-butil-4,6-dimetil)tricarbamoil]-1,3,5-triazină; [(2,4-dibutil-6-metil)tricarbamoil]-1,3,5-triazină		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	Amestec de: 1,3,5-tris(3-aminometilfenil)-1,3,5-(1 H,3H,5H)-triazină-2,4,6-trionă; Amestec de oligomeri ai 3,5-bis(3-aminometilfenil)-1-poli[3,5-bis(3-aminometilfenil)-2,4,6-trioxo-1,3,5-(1H,3H,5H)-triazin-1-il]-1,3,5-(1H,3H,5H)-triazină-2,4,6-trionă		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	Produs de reacţie: cupru, (29H,31H-ftalocianinat(2-)-N29,N30,N31,N32)-, acid clorosulfuric şi 3-(2-sulfooxietilsulfonil)anilină, săruri de sodiu		420-980-7	–	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
613-201-00-9	(R)-5-bromo-3-(1-metil-2-pirolidinil metil)-1H-indol		422-390-5	143322-57-0	Repr. Cat.3; R62 T; R39-48/25 Xn; R20/22 Xi; R41	T; N R: 20/22-39-41-43-48/25-62-50/53 S: (1/2-)53-45-60-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
					R 43 N; R50-53			
613-202-00-4	pimetrozină (ISO) (E)-4,5-dihidro-6-metil-4-(piridin-3-ilmetileno)amino-1,2,4-triazină-3(2*H*)-onă		–	123312-89-0	Carc. Cat.3; R40 R52-53	Xn R: 40-52/53 S: (2-)36/37-61		
613-203-00-X	piraflufen de etil [1] piraflufen [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	oxadiargil (ISO) 3-[2,4-dicloro-5-(2-propiniloxi)fenil]-5-(1,1-dimetiletil)-1,3,4-oxadiazol-2(3*H*)-onă 5-*terț*-butil-3-[2,4-dicloro-5-(prop-2-iniloxi)fenil]-1,3,4-oxadiazol-2(3*H*)-onă		254-637-6	39807-15-3	Repr. Cat.3; R63 Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-63-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
613-205-00-0	propiconazol (+)-1-[2-(2,4-diclorofenil)-4-propil-1,3-dioxolan-2-ilmetil]-1*H*-1,2,4-triazol		262-104-4	60207-90-1	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
613-206-00-6	fenamidonă (ISO) (*S*)-5-metil-2-metiltio-5-fenil-3-fenilamino-3,5-dihidroimidazol-4-onă		–	161326-34-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-207-00-1	sulfat de imazalil , soluție apoasă hidrogensulfat de 1-[2-(aliloxi)etil-2-(2,4-diclorofenil)]-1*H*-imidazol hidrogenosulfat de (±)-1-[2-(aliloxi)etil-2-(2,4-diclorofenil)]-1*H*-imidazol		261-351-5 281-291-3	58594-72-2 83918-57-4	Xn; R22 C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 22-34-43-50/53 S: (2-)26-36/37/39-45-60-61	C > 50 %: C, Xn, N; R22-34-43-50-53 30 % < C ≤ 50 %: Xn, N; R22-38-41-43-50-53 25 % ≤ C ≤ 30 %: Xn, N; R22-41-43-50-53 15 % < C < 25 %: Xi, N; R41-43-51-53 5 % ≤ C ≤ 15 %: Xi, N; R36-43-51-53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi, N; R43-51-53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52-53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52-53	
613-208-00-7	imazamox		–	114311-32-9	N; R50-53	N		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
						R: 50/53 S: 60-61		
613-209-00-2	clorhidrat de cis-1-(3-cloropropil)-2,6-dimetilpiperidină		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-cloropropil)-2,5,5-trimetil-1,3-dioxan		417-650-1	88128-57-8	Xn; R48/22 R52-53	Xn R: 48/22-52/53 S: (2-)23-25-36-61		
613-211-00-3	metilsulfat de N-metil-4-(p-formilstiril)piridin		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-etil-hexiloxi)fenil](1,4-tiazinan-1,1-dioxid)		418-320-8	133467-41-1	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)22-60-61		
613-213-00-4	cis-1-benzoil-4-[(4-metilsulfonil)oxi]-1-prolină		416-040-0	120807-02-5	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
613-214-00-X	N,N-di-n-butil-2-(1,2-dihidro-3-hidroxi-6-izopropil-2-chinoliliden)-1,3-dioxoindan-5-carboxamidă		416-260-7	147613-95-4	R 53	R: 53 S: 61		
613-215-00-5	clorură de 2-clorometil-3,4-dimetoxipiridin		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-terţ-butil-7-(6-dietilamino-2-metil-3-piridilimin)-3-(3-metilfenil)pirazol[3,2-c][1,2,4]triazol		416-490-8	–	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-217-00-6	4-[3-(3,5-di-*terţ*-butil-4-hidroxifenil)propioniloxi]-1-[2-[3-(3,5-di-terţ-butil-4-hidrofenil)propioniloxi]etil]-2,2,6,6-tetrametil piperidină		416-770-1	73754-27-5	R 53	R: 53 S: 61		
613-218-00-1	6-hidroxi-indol		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-etil-3,5-bis(1-metiletil)-2,3,4,5-tetrahidro-oxazol[3,4-c]-		417-140-7	79185-77-6	Xi; R38 N; R51-53	Xi; N R: 38-51/53		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
	2,3,4,5-tetrahidro-oxazol					S: (2-)37-61		
613-220-00-2	7,7-dioxid de trans-(4S,6S)-5,6-dihidro-6-metil-4H-tien[2,3-b]tiopiran-4-ol		417-290-3	147086-81-5	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)36		
613-221-00-8	2-cloro-5-metilpiridină		418-050-0	18368-64-4	Xn; R21/22 Xi; R38 R52-53	Xn R: 21/22-38-52/53 S: (2-)23-25-36/37-61		
613-222-00-3	4-(1-oxo-2-propenil)-morfolină		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-izopropil-3-(4-fluorofenil)-1H-indol		418-790-4	93957-49-4	R 53	R: 53 S: 61		
613-224-00-4	2,5-dimercaptometil-1,4-ditian		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	Amestec de: [2-(antrachinonă-1-ilamino)-6-[(5-benzoilamino)-antrachinonă non-1-ilamino]-4-fenil1-1,3,5-triazină; 2,6-bis-[(5-benzoilamino)-antrachinonă-1-ilamino]-4-fenil-1,3,5-triazină		421-290-9	–	Xn; R48/22 R53	Xn R: 48/22-53 S: (2-)22-36-61		
613-226-00-5	diclorură de 1-(2-(etil(4-(4-(4-(4-(etil(2-piridinoetil)amino)-2-metilfenilazo)benzoilamino) fenilazo)-3-metilfenil)amino)etil-piridină		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*) și (R*,S*)]-6-fluoro-3,4-dihidro-2-oxiranil-2H-1-benzopiran		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-fluoro-3,4-dihidro-2-oxiranil-2H-1-benzopiran		419-630-6	–	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24-61		
613-230-00-7	florasulam (ISO) 2′,6′,8-trifluoro-5-metoxi-5-triazol[1,5-c]pirimidin-2-sulfonanilidă		–	145701-23-1	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
613-233-00-3	4,4′-(oxi-(bismetilen))-bis-1,3-dioxolan		423-230-7	56552-15-9	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
614-028-00-1	Amestec de: mono-D-glucopiranozidă de 2-etilhexil di-D-glucopiranozidă de 2-etilhexil		414-420-0	–	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
614-029-00-7	izomeri constitutivi ai penta-O-alil-ß-D-fructofurannosil-α-D-glucopiranozidă izomeri constitutivi ai hexa-O-alil-ß-D-fructofurannosil-α-D-glucopiranozidă izomeri constitutivi ai hepta-O-alil-ß-D-fructofuransoil-α-D-glucopiranozidă		419-640-0	68784-14-5	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)		
615-030-00-5	alcali, săruri de sol alcalin şi alte săruri ale acidului tiocianic, cu excepţia celor menţionate în prezenta anexă	A	–	–	Xn; R20/21/22 R32 R52-53	Xn R: 20/21/22-32-52/53 S: (2-)13-61		
615-031-00-0	săruri de taliu ale acidului tiocianic	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	săruri metalice ale acidului tiocianic, cu excepţia celor menţionate în prezenta anexă	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	Polimeri obţinuţi prin reacţia: biciclo[2.2.1]hepta-2,5-dien, eten, 1,4-hexadien, 1-propen cu N,N-di-2-propenilformamidă		404-035-6	–	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
616-093-00-1	Produs de reacţie: condensat de anilină, de tereftalaldehidă şi de o-toluidină cu anhidrida maleică		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′-diciclohexil-1,1′-metilenbis(4,1-fenilen)diuree		406-370-3	58890-25-8	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
616-095-00-2	3,3′-dioctadecil-1,1′-metilenbis(4,1-fenilen)diuree		406-690-3	43136-14-7	R 53	R: 53 S: 61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
616-096-00-8	N-(3-hexadeciloxi-2-hidroxiprop-1-il)-N-(2-hidroxietil)palmitamidă		408-110-4	110483-07-3	R 53	R: 53 S: 61		
616-097-00-3	N,N′-1,4-fenilenbis(2-((2-metoxi-4-nitrofenil)azo)-3-oxobutanamidă		411-840-6	83372-55-8	R 53	R: 53 S: 61		
616-098-00-9	1-[4-cloro-3-((2,2,3,3,3-pentafluoropropoxi)metil)fenil]-5-fenil-1H-1,2,4-triazol-3-carboxamidă		411-750-7	119126-15-7	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
616-099-00-4	2-[4-[(4-hidroxifenil)sulfonil]fenoxi]-4,4-dimetil-N-[5-[(metil-sulfonil)amino]-2-[4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenoxi]fenil]-3-oxopentanamidă		414-170-2	135937-20-1	R 53	R: 53 S: 61		
616-100-00-8	1,3-dimetil-1,3-bis(trimetilsilil)uree		414-180-7	10218-17-4	Xn; R22 Xi; R38	Xn R: 22-38 S: (2-)36/37		
616-101-00-3	(S)-N-terț-butil-1,2,3,4-tetrahidro-3-izochinolină-carboxamidă		414-600-9	149182-72-9	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)61		
616-102-00-9	Amestec de: α-[3-(3-mercaptopropanoxicarbonilamino) metilfenilamino carbonil]-ω-[3-(3-mercaptopropanoxicarbonilamino) metilfenilaminocarboniloxi] poli(oxietilen-co-oxipropilen) 1,2-(sau 1,3-)bis[α-(3-mercaptopropanoxicarbonilamino) metilfenilaminocarbonil)-ω-oxi-poli(oxietilen-co-oxipropilen)]-3-(sau 2-)propanol 1,2,3-tris[α-(3-mercaptopropanoxicarbonilamino) metilfenil aminocarbonil)-ω-oxi-poli-(oxietilen-co-oxipropilen)]propan]		415-870-0	–	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)36/37-61		
616-103-00-4	(S,S)-trans-4-(acetilamino)-5,6-		415-030-3	120298-38-6	R43	Xi; N		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
	dihidro-6-metil-7,7-dioxo-4H-tieno[2,3-b]tiopiran-2-sulfonamidă				N; R50-53	R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		
616-104-00-X	benalaxil metil *N*-(2,6-dimetilfenil)-*N*-(fenilacetil)-D1-alaninat		275-728-7	71626-11-4	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-105-00-5	clorotoluron 3-(3-cloro-*p*-tolil)-1,1-dimetil uree		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	fenmedifam (ISO) metil 3-(3-metilcarbaniloiloxi)carbanilat		237-199-0	13684-63-4	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-108-00-1	iodosulfuron-metil-sodiu		–	144550-36-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-109-00-7	sulfosulfuron 1-(4,6-dimetoxipirimidin-2-il)-3-(2-etilsulfonilimidazol[1,2-a]piridin-3-il)sulfoniluree		–	141776-32-1	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-110-00-2	ciclanilidăacid 1-(2,4-dicloroanilinocarbonil)ciclopropanecarboxilic		419-150-7	113136-77-9	Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)61		
616-111-00-8	fenhexamidă *N*-(2,3-dicloro4-hidroxifenil)-1-metilciclohexanecarboxamidă		422-530-5	126833-17-8	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
616-112-00-3	oxasulfuron oxetan-3-il 2-[(4,6-dimetilpirimidine-2-il(-carbamoil sulfamoil]benzoat		–	144651-06-9	Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-50/53 S: (2-)46-60-61		
616-113-00-9	desmedifam 3-fenilcarbamoiloxifenilcarbamat de etil		237-198-5	13684-56-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61	C ≥ 2,5 %: N; R50/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: N; R51/53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52/53	
616-114-00-4	N,N′-(9,9′,10, 10′-tetrahidro-9,9′,10,10′-tetraoxo(1,1′-biantracen)-4,4′-diil)bis-dodecanamidă		418-010-2	136897-58-0	R53	R: 53 S: 22-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
616-115-00-X	N-(3-acetil-2-hidroxifenil)-4-(4-fenilbutoxi)benzamidă		416-150-9	136450-06-1	R 53	R: 53 S: 61		
616-116-00-5	N-(4-dimetilaminopiridin)-3-metoxi-4-(1-metil-5-nitroindol-3-ilmetil)-N-(o-tolilsulfonil)benzamidat		416-790-9	–	R 53	R: 53 S: 61		
616-117-00-0	N-[2-(3-acetil-5-nitrotiofen-2-ilazo)-5-dietilaminofenil]acetamidă		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	clorhidrat de N-(2′,6′-dimetilfenil)piperidin-2-carboxamidă		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-butil-3,5-dioxo-2-fenil-(1,2,4)-triazolidin-4-il)-4,4-dimetil-3-oxo-N-(2-metoxi-5-(2-(dodecil-1-sulfonil))propionilamino)-fenil)pentanamidă		418-060-5	118020-93-2	R 53	R: 53 S: 61		
616-120-00-7	Amestec de: N-(3-dimetilamino-4-metil-fenil)benzamidă N-(3-dimetilamino-2-metil-fenil)benzamidă N-(3-dimetilamino-3-metil-fenil)benzamidă		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-dihidroxi-N-(2-metoxifenil)benzamidă		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-(dietilamino)-2-metilfenil]imino]-6-oxo-1,4-ciclohexadienil]acetamidă		414-740-0	96141-86-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-124-00-9	bis(trifluorometilsulfonil)imidă de litiu		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-ciano-N-(1,1-dimetiletil)androsta-3,5-dien-17-ß-carboxamidă		415-730-9	151338-11-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-127-00-5	Amestec de: N,N′-etan-1,2-diilbis(decanamidă) 12-hidroxi-N-[2-[1-		430-050-2	–	R43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanţele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentraţie	Note explicative privind preparatele
	oxidecil)amino]etil]octadecanamidă N,N′-etan-1,2-diilbis(12-hidroxioctadecanamidă)							
616-128-00-0	N-(2-(1-alil-4,5-dicianoimidazol-2-ilazo)-5-(dipropilamino)fenil)acetamidă		417-530-7	123590-00-1	R53	R: 53 S: 61		
616-129-00-6	N,N′-bis(2,2,6,6-tetrametil-4-piperidil)izoftalamidă		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-dimetil-2,5-dioxo-imidazolin-1-il)-4,4-dimetil-3-oxo-pentanoilamino)-4-metoxi-fenil)octadecanamidă		421-780-2	150919-56-5	R53	R: 53 S: 61		
616-132-00-2	N-[4-(4-ciano-2-furfuriliden-2,5-dihidro-5-oxo-3-furil)fenil]butan-1-sulfonamidă		423-250-6	130016-98-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-133-00-8	N-ciclohexil-S,S-dioxobenzo[b]tiofen-2-carboxamidă		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(dioctiloxifosfinotioiltio)-N,N′-oxibis(metilen)dipropionamidă		401-820-5	–	R52-53	R: 52/53 S: 61		
616-135-00-9	(3S,4aS,8aS)-2-[(2R,3S)-3-amino-2-hidroxi-4-fenilbutil]-N-(terţ-butil)decahidroizochinoleină-3-carboxamidă		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(vinilsulfonilacetamido)propan		428-350-3	93629-90-4	Muta. Cat.3; R68 Xi; R41 R 43 R 52-53	Xn R: 41-43-68-52/53 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
616-143-00-2	N,N′-dihexadecil-N,N′-bis(2-hidroxietil)propandiamidă		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	Amestec de: peroxid de 1-metil-1-		410-840-3	71566-50-2	O; R7	O; N		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
	(3-(1-metiletil)fenil)etil-1-metil-1-feniletil, 63 % în masă peroxid de 1-metil-1-(4-(1-metiletil)fenil)etil-1-metil-1-feniletil, 31 % în masă				N; R51-53	R: 7-51/53 S: (2-)3/7-14-36/37/39-61		
617-019-00-0	acid 6-(ftalimido)peroxihexanoic		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	bis(neodecanoilperoxid) de 1,3-di(prop-2,2-diil)benzen		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	produs de reacție: polietilen-poliamină-alchilamide în (C16-C18) cu fosfonați de monotio-(C2)-alchil		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	produs de reacție: acid 3,5-bis-terț-butil salicilic și sulfat de aluminiu		420-310-3	–	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)22-56-60-61		
650-044-00-5	Amestec de alcooli etoxilați, lineari și ramificați cu C14-15, produs de reacție cu epiclorohidrina		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	Produs de reacție: ester dietilic al acidului 2-hidroxipropan-1,2,3-tricarboxilic, 1-propanol și tetra-n-propanolat de zirconiu		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	disulfonat de di(tetrametilamoniu)(29H,31H-ftalocianin-N29,N30,N31,N32) disulfonamidă, complex de cupru (II), derivați		416-180-2	–	Xn; R22-48/22 N; R51-53	Xn; N R: 22-48/22-51/53 S: (2-)22-36-61		
650-047-00-1	hexafluoroantimoniat de dibenzil fenil sulfoniu		417-760-8	134164-24-2	T; R48/25 Xn; R22 Xi; R41 R43 N; R51-53	T; N R: 22-41-43-48/25-51/53 S: (1/2-)22-26-36/37/39-45-61		
650-048-00-7	Produs de reacție: borax, peroxid de hidrogen, acid peracetic și acid acetic		420-070-1	–	O; R7 Xn; R20/21/22 C; R35	O; C; N R: 7-20/21/22-35-50 S: (1/2-)3/7-14-26-		

Nr. Index	Denumire chimică	Note explicative privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note explicative privind preparatele
					N; R50	36/37/39-45-61		
650-049-00-2	hidrogenomaleat de 2-alcoiloxietil, unde grupul alcoil reprezintă (în masă) 70-85 % octadecil nesaturat, 0,5-10 % octadecil saturat, și 2-18 % hexadecil saturat		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	Amestec de: 3,5-[1,1-dimetiletil]-4-hidroxi dihidrocinamat de 1-metil-3-hidroxipropil și/sau 3,5-[1,1-dimetiletil]-4-hidroxidi-hidrocinamat 3-hidroxibutil izomeri de 1,3-butandiol bis[3-(3′-(1,1-dimetiletil)-4′-hidroxi-fenil)propionat]; izomeri de 1,3-butandiol bis[3-(3′,5′-(1,1-dimetiletil)-4′-hidroxifenil)propionat]		423-600-8	–	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
650-055-00-5	fosfat acid de argint, sodiu și zirconiu		422-570-3	–	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61”		

ANEXA 1D

Nr. de index	Denumirea chimică	Note privind substanțele	Nr. CE	Nr. CAS	Clasificare	Etichetare	Limite de concentrație	Note privind preparatele
„048-002-00-0	cadmiu (nepiroforic) [1]; oxid de cadmiu (nepiroforic) [2]	E	231-152-8 [1] 215-146-2 [2]	7440-43-9 [1] 1306-19-0 [2]	Carc. Cat.2; R45 Muta. Cat.3; R68 Repr. Cat.3; R62-63 T; R48/23/25 T+; R26 N; R50-53	T+; N R: 45-26-48/23/25-62-63-68-50/53 S: 53-45-60-61		
048-011-00-X	cadmiu (piroforic)	E	231-152-8	7440-43-9	Carc. Cat.2; R45 Muta. Cat.3; R68 Repr. Cat.3; R62-63 T; R48/23/25 T+; R26 F; R17 N; R50-53	F; T+; N R: 45-17-26-48/23/25-62-63-68-50/53 S: 53-45-7/8-43-60-61		
609-006-00-3	4-nitrotoluen	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-nitrotoluen	E	201-853-3	88-72-2	Carc. Cat.2; R45 Muta. Cat.2; R46 Repr. Cat.3; R62 Xn; R22 N; R51-53	T; N R: 45-46-22-62-51/53 S: 53-45-61		
612-039-00-6	2-etoxianilină *o*-fenetidină	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-etoxianilină *p*-fenetidină		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”		

ANEXA 2A

A.21. PROPRIETĂȚI OXIDANTE (LICHIDE)

1. **METODA**

1.1. INTRODUCERE

Această metodă de testare este concepută pentru a măsura potențialul unei substanțe lichide de a crește rata sau intensitatea arderii unei substanțe combustibile sau de a forma cu o substanță combustibilă un amestec care se aprinde spontan când cele două se amestecă omogen. Se bazează pe testul ONU pentru lichide oxidante (1) și este echivalent cu acesta. Cu toate acestea, întrucât această metodă A.21 este concepută în special pentru a îndeplini cerințele Directivei 67/548, este necesară comparația cu o singură substanță de referință. Testarea și comparația cu alte substanțe de referință pot fi necesare în cazul în care se estimează utilizarea rezultatelor în alte scopuri (1).

Nu este necesar să se efectueze acest test în cazul în care examinarea formulei structurale stabilește indubitabil că substanța este incapabilă să reacționeze exotermic cu un material combustibil.

Înainte de efectuarea testului este util să se cunoască informații privind orice potențiale proprietăți explozive ale substanței.

Acest test nu se aplică substanțelor solide, gazoase, explozive sau foarte inflamabile sau peroxizilor organici.

Nu este necesar să se efectueze acest test în cazul în care sunt disponibile rezultatele pentru substanța de testat în cadrul testului ONU pentru lichide oxidante (1).

1.2. DEFINIȚII ȘI UNITĂȚI

Timpul mediu de creștere a presiunii reprezintă media timpilor măsurați în care un amestec testat produce o creștere de presiune de la 690 kPa la 2 070 kPa peste presiunea atmosferică.

1.3. SUBSTANȚA DE REFERINȚĂ

Ca substanță de referință se utilizează o soluție apoasă de acid azotic (calitate analitică) la 65 % (g/g) (2).

Opțional, dacă experimentatorul prevede că rezultatele acestui test ar putea fi utilizate în alte scopuri (1), ar putea fi oportună testarea altor substanțe de referință (3).

1.4. PRINCIPIUL METODEI DE TESTARE

lichidul care urmează a fi testat se amestecă, în proporție masică de 1 la 1 cu celuloză fibroasă și se introduce într-un vas de presiune. Dacă în timpul amestecării sau umplerii are loc combustia spontană, nu mai sunt necesare alte teste.

Dacă nu intervine combustia spontană, se efectuează testul complet. Amestecul se încălzește într-un vas de presiune și se măsoară timpul mediu de creștere a presiunii de la 690 kPa la 2 070 kPa peste presiunea atmosferică. Acesta este comparat cu timpul mediu de creștere a presiunii pentru amestecul de substanță sau substanțe de referință și celuloză în proporție de 1:1.

1.5. CRITERII CA1ITATIVE

Dintr-o serie de cinci teste asupra unei singure substanțe, rezultatele nu trebuie să prezinte diferențe de peste 30 % față de media aritmetică. Rezultatele care se abat cu peste 30 % de la medie se ignoră, se îmbunătățește procedura de amestecare și umplere și se repetă testele.

(1) Ca, de exemplu, în cadrul reglementărilor privind transportul.
(2) Înainte de testare, acidul trebuie titrat pentru a i se confirma concentrația.
(3) De exemplu: acid percloric 50 % (g/g) și clorat de sodiu 40 % (g/g) se utilizează în referința 1.

1.6. DESCRIEREA METODEI

1.6.1. **Pregătire**

1.6.1.1. *Substanța combustibilă*

Ca material combustibil se utilizează celuloză fibroasă uscată, cu fibre de o lungime între 50 și 250 μm și un diametru mediu de 25 μm ([1]). Celuloza se usucă până la obținerea unei greutăți constante în straturi de maximum 25 mm grosime, la 105 °C timp de patru ore, după care se păstrează într-un exsicator, în prezența unui deshidratant, până la răcire și utilizare. Conținutul de apă al celulozei uscate trebuie să fie sub 0,5 % din masa uscată ([2]). Dacă este necesar, timpul de uscare se prelungește pentru îndeplinirea acestei condiții ([3]). Pe întreg parcursul testului se utilizează același lot de celuloză.

1.6.1.2. *Aparatură*

1.6.1.2.1. *Vas de presiune*

Este necesar un vas de presiune. Vasul este format dintr-un vas de presiune cilindric, din oțel, cu o lungime de 89 mm și un diametru exterior de 60 mm (a se vedea figura 1). În două puncte diametral opuse se formează două suprafețe plane (care reduc secțiunea transversală a vasului la 50 mm) care permit fixarea sa în momentul instalării dopului de aprindere și a dopului de aerisire. Vasul, care are un alezaj cu un diametru de 20 mm, este fălțuit intern la ambele capete pe o adâncime de 19 mm și filetat pentru fileturi de 1 „conform British Standard Pipe (BSP) sau echivalent metric. O priză de presiune, sub forma unui braț lateral, este înfiletată pe fața curbată a vasului de presiune la 35 de mm de unul dintre capete și la 90 ° față de suprafețele plane. Orificiul pentru priză este alezat la o adâncime de 12 mm și filetat pentru fileturi de 1/2" BSP (sau echivalent metric) la extremitatea brațului lateral. Dacă este necesar, pentru a asigura etanșeitatea la gaz, se folosește o garnitură inertă. Brațul lateral se extinde 55 mm de la corpul vasului de presiune și are un alezaj de 6 mm. Extremitatea brațului lateral este fălțuită și filetată pentru un traductor de presiune de tip diafragmă. Se poate utiliza orice dispozitiv de măsurare a presiunii care nu este afectat de gazele calde sau de produsele de descompunere și care poate reacționa la o creștere de presiune de la 690 la 2 070 kPa în cel mult 5 ms.

Extremitatea vasului de presiune cea mai îndepărtată de brațul lateral este închisă cu un dop de aprindere prevăzut cu doi electrozi, unul izolat de corpul dopului, iar celălalt pus la masă. Cealaltă extremitate a vasului de presiune este închisă cu un disc de rupere (presiunea de rupere aproximativ 2 200 kPa), fixat cu un dop de fixare având un orificiu de 20 mm. Dacă este necesar, dopul de aprindere se montează cu o garnitură inertă pentru a asigura etanșeitatea la gaz. În timpul utilizării, ansamblul este menținut în poziția corectă de un stand de sprijin (figura 2). Acesta cuprinde, de obicei, o placă de bază din oțel moale de 235 mm × 184 mm × 6 mm și un tub cu secțiune pătrată de 70 mm × 70 mm × 4 mm de 185 mm lungime.

la una dintre extremitățile tubului cu secțiune pătrată, se taie câte o secțiune de fiecare parte, astfel încât să se obțină o structură cu secțiune pătrată de 86 mm lungime cu două picioare plate. Capetele acestor picioare pătrate se taie într-un unghi de 60° față de orizontală și sudate pe placa de bază. Pe o parte a capătului superior al secțiunii de bază se decupează o fantă de 22 mm 1ățime și 46 mm adâncime, astfel încât, atunci când ansamblul vasului de presiune este pus pe suport, cu dopul de aprindere în jos, brațul lateral să intre în fantă. O piesă de oțel de 30 mm 1ățime și 6 mm grosime se sudează pe fața interioară a părții inferioare a tubului cu secțiune pătrată, pentru a acționa ca distanțier. Două șuruburi cu cap fluture de 7 mm, fixate pe partea opusă, mențin vasul de presiune într-o poziție fixă. Două benzi de 12 mm 1ățime din tab1ă de oțel de 6 mm grosime, sudate pe părțile laterale de la baza tubului cu secțiune pătrată, sprijină vasul de presiune de dedesubt.

([1]) De exemplu, pudră de celuloză Whatman pentru cromatografie pe coloană CF 11, nr. de catalog 4021 050.

([2]) Confirmat prin (de exemplu) titrare Karl-Fisher.

([3]) Alternativ, acest conținut de apă poate fi realizat prin (de exemplu) încălzire la 105 °C sub vid, timp de 24 h.

1.6.1.2.2. *Sistemul de aprindere*

Sistemul de aprindere este format dintr-o sârmă de Ni/Cr cu o lungime de 25 cm, un diametru de 0,6 mm și o rezistență de 3,85 ohm/m. Sârma se înfășoară, pe o tijă cu un diametru de 5 mm, sub forma unei bobine, și se leagă la electrozii dopului de aprindere. Bobina trebuie să aibă una dintre configurațiile prezentate în figura 3. Distanța dintre fundul vasului și partea inferioară a bobinei de aprindere trebuie să fie de 20 mm. Dacă electrozii nu pot fi reglați, secțiunile sârmei de aprindere dintre bobină și fundul vasului se izolează cu o manta ceramică. Sârma este încălzită de o sursă de alimentare constantă care poate asigura cel puțin 10 A.

1.6.2. **Efectuarea testului** ([1])

Aparatul, echipat complet cu traductor de presiune și sistem de încălzire, dar fără discul de rupere, se sprijină vertical, cu dopul de aprindere în jos. Se amestecă 2,5 g din lichidul de testat cu 2,5 g de celuloză uscată într-un pahar de laborator cu un agitator de sticlă ([2]). Pentru siguranță, în timpul amestecării între operator și amestec se amplasează un ecran de protecție. Dacă amestecul se aprinde în timpul amestecării sau umplerii, nu mai sunt necesare teste suplimentare. Amestecul se adaugă, în cantități mici, lovindu-l încet de container, în vasul de presiune, asigurându-se că nu există spații goale în jurul bobinei de aprindere și că amestecul este în contact perfect cu aceasta. Este important ca bobina să nu fie deformată în procesul de umplere, întrucât acest lucru ar putea conduce la rezultate eronate ([3]). Discul de rupere se pune pe poziție și dopul de fixare se înșurubează strâns. Vasul umplut se pune, cu discul de rupere în sus, pe suportul de sprijin pentru încălzire care se amplasează într-o hotă sau o cameră de tiraj adecvată. Se conectează sursa de alimentare la bornele externe ale dopului de aprindere și se aplică un curent de 10 A. De la începerea amestecării și până la punerea sub tensiune nu trebuie să treacă mai mult de 10 minute.

Semnalul produs de traductorul de presiune se înregistrează într-un sistem adecvat care permite atât evaluarea, cât și generarea unei înregistrări permanente a graficului presiune/timp obținut (de exemplu un înregistrator de semnale tranzitorii legat la un înregistrator cu bandă). Amestecul se încălzește până când se rupe discul de rupere sau cel puțin 60 s. Dacă discul de rupere nu se rupe, amestecul se lasă să se răcească, după care se dezmembrează cu atenție aparatul, luând măsurile necesare pentru a ține seama de eventuala presurizare. Se fac cinci teste cu substanța de testat și substanța sau substanțele de referință. Se notează timpul necesar pentru creșterea presiunii de la 690 kPa la 2 070 kPa peste presiunea atmosferică. Se calculează timpul mediu de creștere a presiunii.

În unele cazuri, substanțele pot genera o creștere de presiune (prea mare sau prea mică), cauzată de reacții chimice care nu caracterizează proprietățile oxidante ale substanței. În aceste cazuri, este posibil să fie necesară repetarea testului cu o substanță inertă, de exemplu diatomit (kieselguhr), în loc de celuloză, pentru a se clarifica natura reacției.

([1]) Amestecurile de oxidanți cu celuloză trebuie tratate ca fiind potențial explozive și manipulate cu atenția cuvenită.

([2]) În practică, aceste lucru se poate realiza prin prepararea unui amestec 1:1 din lichidul de testat și celuloză, într-o cantitate mai mare decât cea necesară pentru test și mutând 5 ± 0,1 g în vasul de presiune. Amestecul trebuie să fie proaspăt preparat pentru fiecare testare.

([3]) Trebuie să se evite, în special, contactul dintre spirele adiacente ale bobinei.

2. **DATE**

Timpii de creștere a presiunii atât pentru substanța de testat, cât și pentru substanța(ele) de referință.

Timpii de creștere a presiunii pentru testele cu o substanță inertă, dacă se efectuează astfel de teste.

2.1. PRELUCRAREA REZULTATELOR

Se calculează timpii medii de creștere a presiunii atât pentru substanța de testat, cât și pentru substanța sau substanțele de referință.

Se calculează timpul mediu de creștere a presiunii pentru testele cu o substanță inertă (dacă se efectuează).

Tabelul 1 prezintă câteva exemple de rezultate.

Tabelul 1

Exemple de rezultate [a]

Substanța [b]	Timpul mediu de creștere a presiunii pentru un amestec 1:1 cu celuloză (ms)
Dicromat de amoniu, soluție apoasă saturată	20800
Nitrat de calciu, soluție apoasă saturată	6700
Nitrat feric, soluție apoasă saturată	4133
Perclorat de litiu, soluție apoasă saturată	1686
Perclorat de magneziu, soluție apoasă saturată	777
Nitrat de nichel, soluție apoasă saturată	6250
Acid azotic, 65 %	4767 [c]
Acid percloric, 50 %	121 [c]
Acid percloric, 55 %	59
Nitrat de potasiu, soluție apoasă 30 %	26690
Nitrat de argint, soluție apoasă saturată	- [d]
Clorat de sodiu, soluție apoasă 40 %	2555 [c]
Nitrat de sodiu, soluție apoasă 45 %	4133
Substanță inertă	
Apă:celuloză	- [d]

[a] A se vedea referința (1) pentru clasificarea conform regimului de transport ONU.

[b] Soluțiile saturate se prepară la 20 °C.

[c] Valoarea medie obținută la teste comparative interlaboratoare.

[d] Presiunea maximă de 2 070 kPa nu a fost atinsă.

3. **RAPORTARE**

3.1 RAPORTUL TESTULUI

Raportul testului include următoarele informații:

— identitatea, compoziția, puritatea etc. substanței de testat;

— concentrația substanței de testat;

— procedura de uscare a celulozei utilizate;

— conținutul de apă al celulozei utilizate;

— rezultatele măsurătorilor;

— rezultatele testelor cu o substanță inertă, dacă este cazul;

— timpii medii de creștere a presiunii calculați;

— orice abatere de la această metodă și motivele acesteia;

— orice informații sau observații suplimentare relevante pentru interpretarea rezultatelor.

3.2 INTERPRETAREA REZULTATELOR ([1])

Rezultatele testelor se evaluează în funcție de:

(a) eventuala combustie spontană a amestecului de substanță de testat și celuloză și

(b) compararea timpului mediu necesar pentru creșterea presiunii de la 690 kPa la 2 070 kPa cu cel al substanței (substanțelor) de referință.

O substanță lichidă este considerată oxidant dacă:

(a) un amestec de substanță de testat și celuloză în proporție masică de 1:1 se aprinde spontan sau

(b) un amestec de substanță de testat și celuloză în proporție masică de 1:1 are un timp mediu de creștere a presiunii mai mic sau egal cu cel al unui amestec de acid azotic în soluție apoasă de 65 % (g/g) și celuloză în proporție masică de 1:1.

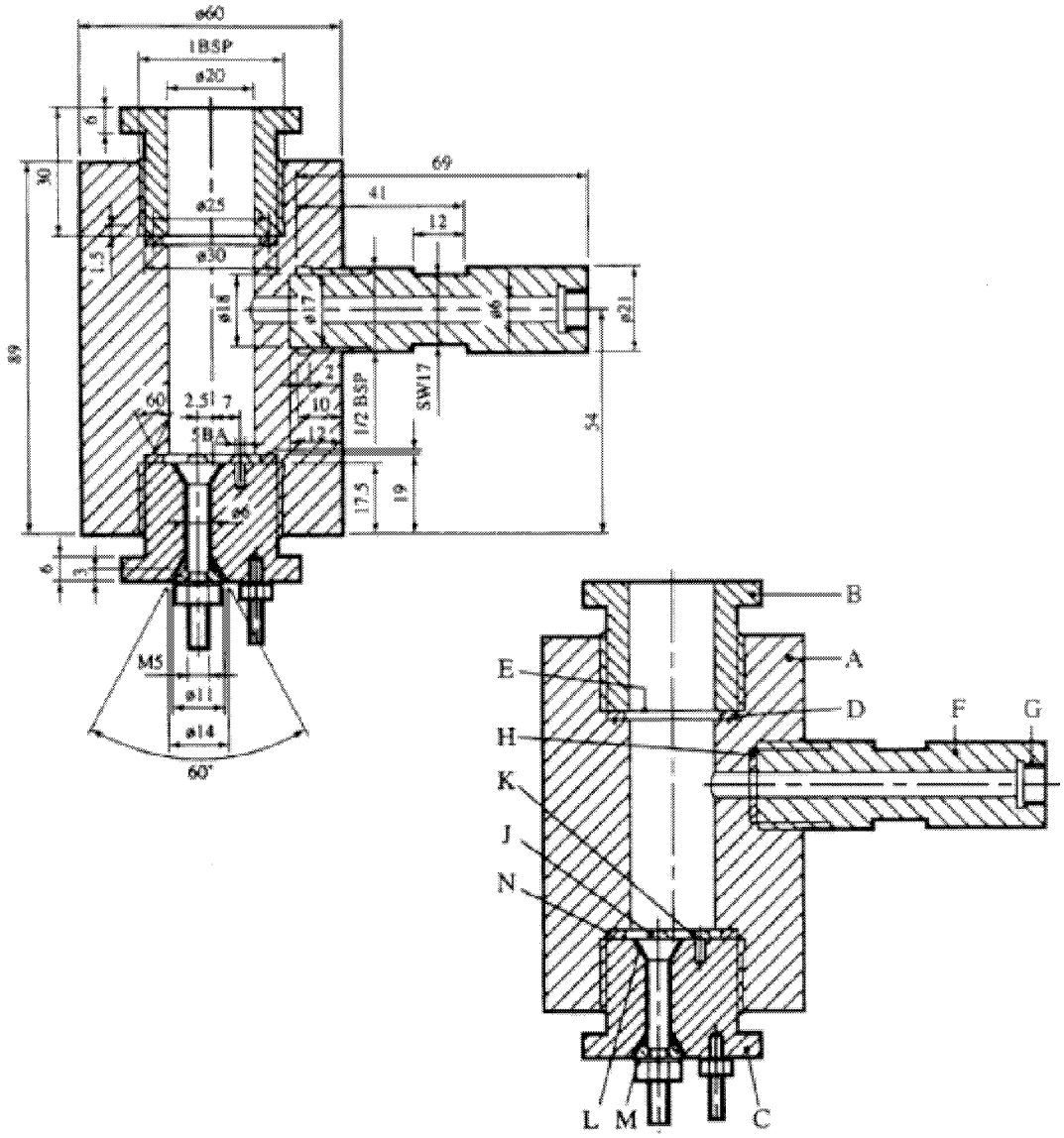
Dacă este necesar pentru a evita un rezultat pozitiv fals, la interpretarea rezultatelor se iau în considerare și rezultatele obținute la testarea substanței cu un material inert.

4. **REFERINȚE BIBLIOGRAFICE:**

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

([1]) A se vedea referința 1 pentru interpretarea rezultatelor conform reglementărilor ONU privind transportul utilizând mai multe substanțe de referință.

Figura 1



Vas de presiune

(A) Corpul vasului de presiune
(B) Dop de fixare disc de rupere
(C) Dop de aprindere
(D) Șaibă din plumb moale
(E) Disc de rupere
(F) Braț lateral
(G) Cap traductor de presiune
(H) Șaibă
(J) Electrod izolat
(K) Electrod pus la masă
(L) Izolație
(M) Con de oțel
(N) Canelură de deformare a șaibei

Figura 2

Stand de sprijin

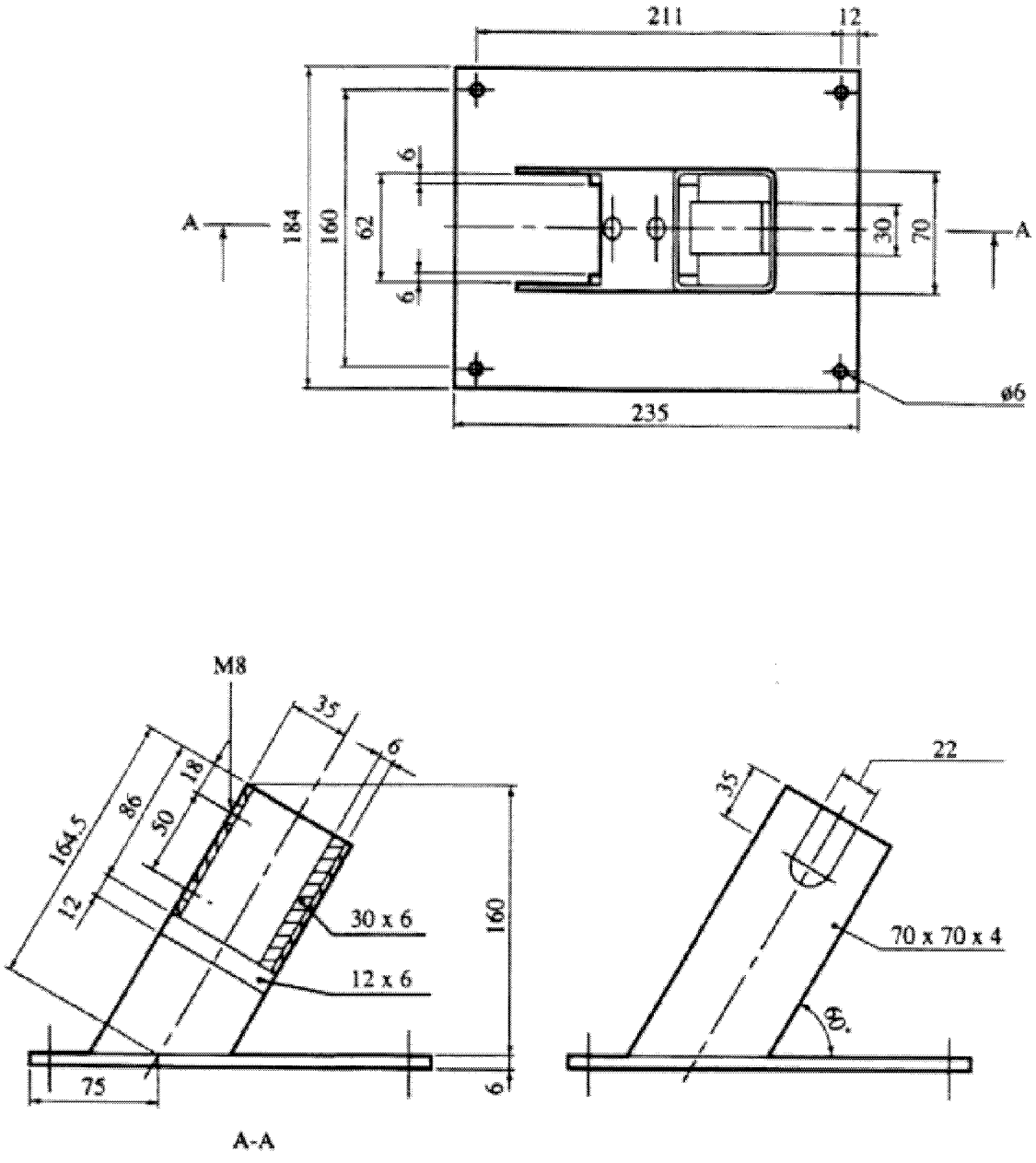
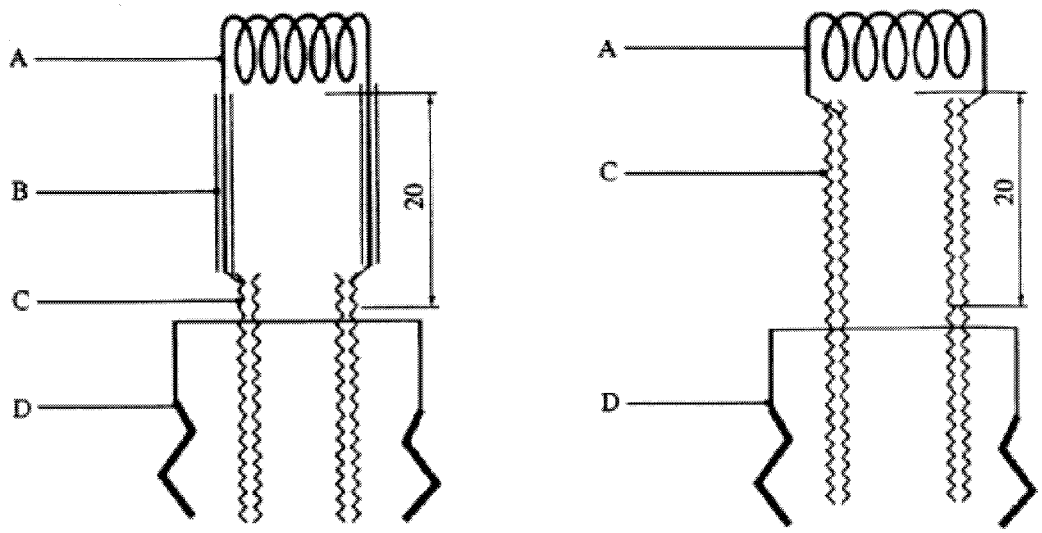


Figura 3

Sistemul de aprindere



(A) Bobină de aprindere (B) Izolație (C) Electrozi (D) Dop de aprindere

Notă: se poate folosi oricare dintre aceste configurații.

ANEXA 2B

B.1a. TOXICITATE ORALĂ ACUTĂ–PROCEDURA CU DOZĂ FIXĂ

1. METODĂ

Acest test este echivalent cu testul OCDE TG 420 (2001).

1.1. INTRODUCERE

Metodele tradiționale de evaluare a toxicității acute utilizează ca punct final decesul animalelor. În 1984, British Toxicology Society a sugerat o nouă abordare pentru testarea toxicității acute, pe baza administrării unei serii de doze fixe (1). Această abordare evita uciderea animalelor ca punct final, bazându-se pe observarea unor semne clare de toxicitate la una dintre seriile de doze fixe. În urma unor studii de validare *in vivo,* britanice (2) și internaționale (3), procedura a fost adoptată ca metodă de testare în 1992. Ulterior, proprietățile statistice ale procedurii cu doză fixă au fost evaluate utilizând modele matematice într-o serie de studii (4) (5) (6). Împreună, studiile *in vivo*și cele de modelare au demonstrat că procedura este reproductibilă, utilizează mai puține animale și cauzează mai puțină suferință decât metodele tradiționale și poate fi utilizată pentru clasificarea substanțelor într-un mod similar cu celelalte metode de testare a toxicității acute.

Indicații pentru selectarea celei mai adecvate metode de testare pentru un anumit scop sunt prezentate în orientările privind testarea toxicității acute orale (7). Orientările în cauză conțin, de asemenea, informații suplimentare privind aplicarea și interpretarea metodei de testare B.1a.

Ca un principiu al metodei, în studiul principal se utilizează exclusiv doze cu un nivel mediu de toxicitate și se evită administrarea dozelor care se estimează că sunt letale. De asemenea, nu este necesar să se administreze dozele despre care se știe că provoacă dureri și suferințe grave din cauza acțiunilor corozive și puternic iritante. Animalele muribunde sau cele care manifestă dureri evidente sau prezintă semne de suferință gravă și prelungită sunt eutanasiate și sunt luate în considerare la interpretarea rezultatelor la fel ca animalele care au murit în timpul testului. Criteriile pentru luarea deciziei de eutanasiere a animalelor muribunde sau suferinde și indicații pentru recunoașterea decesului previzibil sau iminent fac obiectul unor linii directoare separate (8).

Metoda furnizează informații privind proprietățile periculoase și permite clasificarea substanței în conformitate cu Sistemul global armonizat (SGA) de clasificare a substanțelor chimice care cauzează toxicitate acută (9).

laboratorul care efectuează testul ia în considerare toate informațiile disponibile privind substanța de testat înainte de efectuarea studiului. Printre aceste informații se numără identitatea și structura chimică a substanței; proprietățile sale fizico-chimice; rezultatele oricăror alte teste de toxicitate *in vitro* sau *in vivo* asupra substanței; date toxicologice privind substanțele înrudite structural; și utilizarea sau utilizările anticipate ale substanței. Aceste informații sunt necesare pentru a dovedi tuturor celor interesați că testul este relevant pentru protecția sănătății oamenilor și vor contribui la selectarea unei doze inițiale adecvate.

1.2. DEFINIȚII

Toxicitate orală acută: efectele adverse care intervin după administrarea orală a unei singure doze dintr-o substanță sau a mai multor doze în cursul a 24 de ore.

Deces întârziat: un animal nu moare și nu pare muribund în termen de 48 ore, dar moare în perioada de observație de 14 zile.

Doză: cantitatea administrată din substanța de testat. Doza se exprimă ca greutatea de substanță de testat per unitate de greutatea animalului de experiență (de exemplu: mg/kg).

Toxicitate evidentă: termen general care descrie semne clare de toxicitate apărute după administrarea substanței de testat [a se vedea (3) pentru exemple], pe baza cărora se poate estima că următoarea doză fixă mai mare ar putea provoca dureri mari și semne persistente de suferință profundă, o stare muribundă [criteriile sunt prezentate în Humane Endpoints Guidance Document (8)], sau, probabil, decesul celor mai multe dintre animale.

SGA: Sistem global armonizat de clasificare a substanțelor și amestecurilor chimice. O activitate comună a OCDE (sănătatea oamenilor și mediul), a Comitetului de experți ONU pentru transportul bunurilor periculoase (proprietăți fizico-chimice) și a OIM (comunicarea pericolelor) și coordonată de Programul interorganizațional pentru buna gestionare a substanțelor chimice (IOMC).

Deces iminent: se așteaptă o stare muribundă sau decesul înainte de următorul moment de observare planificat. Printre semnele care indică această stare la rozătoare s-ar putea număra convulsii, poziție laterală, poziția culcată și tremurat [a se vedea Humane Endpoint Guidance Document (8) pentru mai multe detalii].

LD_{50} (doza letală mediană): o singură doză de substanță, derivată statistic, care se poate estima că va cauza decesul a 50 % dintre animale dacă este administrată pe cale orală. Valoarea LD_{50} se exprimă în greutatea de substanță de testat per unitate de greutate a animalului de experiență (mg/kg).

Doză limită: o doză la limita superioară a testării (2 000 sau 5 000 mg/kg).

Stare muribundă: starea precedentă decesului sau incapacitatea de a supraviețui, chiar în cazul administrării unui tratament [a se vedea Humane Endpoint Guidance Document (8) pentru mai multe detalii].

Deces previzibil: prezența semnelor clinice care indică decesul într-un moment cunoscut din viitor, înainte de sfârșitul planificat al experimentului, ca de exemplu: incapacitatea de a ajunge la apă și mâncare [a se vedea Humane Endpoint Guidance Document (8) pentru mai multe detalii].

1.3. PRINCIPIUL METODEI DE TESTARE

Unor grupuri de animale de același sex li se administrează doze fixe de 5, 50, 300 și 2 000 mg/kg într-o procedură secvențială (în mod excepțional, poate fi luată în considerare o doză fixă suplimentară de 5 000 mg/kg, a se vedea secțiunea 1.6.2). Doza inițială se selectează pe baza unui studiu de observare pentru identificarea dozei care se presupune că produce unele semne de toxicitate fără a cauza efecte toxice grave sau decesul. Manifestările clinice și efectele asociate durerii, suferinței și decesului iminent sunt descrise detaliat într-un document de orientare OCDE (8). Altor grupuri de animale li se pot administra doze fixe mai mari sau mai mici, în funcție de prezența sau absența semnelor de toxicitate sau mortalitate. Această procedură continuă până la doza care provoacă toxicitate evidentă sau decesul unui singur animal, dacă nu se observă efecte la cea mai mare doză sau dacă decesul survine la cea mai mică doză.

1.4. DESCRIEREA METODEI DE TESTARE

1.4.1. **Selectarea speciei de animale**

Specia preferată de rozătoare este șobolanul, dar pot fi utilizate și alte specii de rozătoare. În mod normal, se utilizează femele (7). Acest lucru este motivat de faptul că studiile din literatură asupra testelor convenționale LD_{50} arată că, de obicei, diferențele de sensibilitate între sexe sunt mici, dar în cazurile în care se observă diferențe, femelele sunt, în general, puțin mai sensibile (10). Cu toate acestea, în cazul în care informațiile privind proprietățile toxicologice sau toxicocinetice ale unor substanțe chimice înrudite structural arată că este probabil ca masculii să fie mai sensibili, se utilizează acest sex. Dacă testul se efectuează pe masculi, se oferă justificări adecvate.

Se utilizează animale adulte, tinere, sănătoase provenind din liniile utilizate în mod obișnuit în laboratoare. Femelele trebuie să fie nulipare și să nu fie gestante. La începerea testului, fiecare animal trebuie să aibă între 8 și 12 săptămâni, iar greutatea sa trebuie să se situeze într-un interval de ± 20 % față de greutatea medie a animalelor testate anterior.

1.4.2. **Condiții de adăpostire și alimentație**

În spațiul pentru adăpostirea animalelor de experiență, se asigură o temperatură de 22 °C (± 3 °C). Se asigură o umiditate relativă de 50-60 % , cu o valoare minimă de 30 % și o valoare maximă 70 % , cu excepția momentelor în care se curăță spațiul. Spațiul se iluminează artificial, cu o alternanță de 12 ore lumină, 12 ore întuneric. Pentru alimentație, se poate utiliza hrană convențională de laborator, cu furnizarea unei cantități nelimitate de apă potabilă. Animalele pot fi grupate în cuști în funcție de doză, dar numărul animalelor dintr-o cușcă nu trebuie să împiedice observarea corectă a fiecărui animal.

1.4.3. **Pregătirea animalelor**

Animalele sunt selectate la întâmplare, marcate pentru a permite identificarea individuală și ținute în cuștile lor cu cel puțin 5 zile înainte de începerea administrării dozelor, pentru a permite aclimatizarea lor la condițiile de laborator.

1.4.4. **Pregătirea dozelor**

În general, substanțele de testat se administrează într-un volum constant indiferent de dozele testate, variindu-se concentrația preparatului. În cazul testării unui produs sau amestec final lichid, utilizarea substanței de testat nediluate, adică la o concentrație constantă, poate fi mai relevantă pentru evaluarea ulterioară a riscurilor substanței și este impusă de unele autorități de reglementare. În orice caz, nu trebuie depășit volumul dozei maxime de administrat. Volumul maxim de lichid care poate fi administrat o singură dată depinde de dimensiunea animalului de experiență. La rozătoare, volumul nu trebuie să depășească, în mod normal, 1 ml/100 g greutate corporală; cu toate acestea, în cazul soluțiilor apoase, pot fi administrați 2 ml/100 g greutate corporală. În ceea ce privește forma de preparare a dozei, se recomandă utilizarea, ori de câte ori este posibil, a unei soluții/suspensii/emulsii apoase, urmată, în ordinea preferinței, de o soluție/suspensie/emulsie în ulei (de exemplu, în ulei de porumb) și, eventual, soluții în alte vehicule. Pentru vehicule altele decât apa, este necesar să se cunoască caracteristicile toxicologice ale vehiculului. Dozele se prepară cu puțin timp înaintea administrării, cu excepția cazului în care stabilitatea preparatului în perioada în care urmează a fi utilizat este cunoscută și s-a demonstrat că este acceptabilă.

1.5. MOD DE LUCRU

1.5.1. **Administrarea dozelor**

Substanța de testat se administrează într-o singură doză, prin gavaj, utilizând o sondă gastrică sau o canulă de intubare adecvată. În cazurile deosebite în care nu este posibilă administrarea unei singure doze, doza poate fi administrată în fracțiuni mai mici pe parcursul unei perioade de maximum 24 de ore.

Animalele nu se hrănesc înainte de administrarea dozei (de exemplu, șobolanii nu trebuie să fie hrăniți peste noapte, dar pot primi apă; șoarecii nu trebuie să fie hrăniți, dar pot primi apă, cu 3-4 ore înainte). După perioada de flămânzire, animalele se cântăresc și se administrează substanța de testat. După administrarea substanței, animalele pot fi private din nou de hrană, 3-4 ore la șobolani și 1-2 ore la șoareci. Dacă doza se administrează fracționat într-o perioadă de timp, este posibil să fie necesar să li se ofere animalelor hrană și apă, în funcție de durata perioadei de administrare.

1.5.2. **Studiu de observare**

Scopul studiului de observare este de a permite selectarea dozei inițiale adecvate pentru studiul principal. Substanța de testat se administrează, într-o procedură secvențială, câte unui animal, conform diagramelor din anexa 1. Studiul de observare este finalizat când se poate lua o decizie privind doza inițială pentru studiul principal (sau dacă survine decesul unui animal la cea mai mică doză fixă).

Doza inițială pentru studiul de observare se selectează dintre dozele fixe de 5, 50, 300 și 2 000 mg/kg ca doza care se așteaptă să provoace toxicitate evidentă, dacă este posibil, pe baza datelor obținute *in vivo* și *in vitro* pentru aceeași substanță chimică sau alte substanțe înrudite structural. În absența acestor informații, doza inițială va fi de 300 mg/kg.

Dozele se administrează la un interval de minimum 24 de ore pentru fiecare animal. Toate animalele trebuie observate cel puțin 14 zile.

În mod excepțional și doar dacă acest lucru este necesar pentru îndeplinirea unor cerințe specifice, poate fi administrată o doză suplimentară mai mare, de 5 000 mg/kg (a se vedea anexa 3). Din motive justificate de bunăstarea animală, testarea pe animale a substanțelor din categoria 5 SGA (2 000-5 000 mg/kg) este descurajată și se ia în considerare doar în cazul în care este foarte probabil ca rezultatele acestor teste să fie direct relevante pentru protecția sănătății oamenilor, a sănătății animale sau a mediului.

În cazurile în care un animal căruia i s-a administrat doza fixă cea mai redusă (5 mg/kg) în cadrul studiului de observare moare, procedura normală este de a încheia studiul și de a încadra substanța în categoria 1 SGA (conform anexei 1). Cu toate acestea, dacă este necesară o confirmare suplimentară a clasificării, se poate aplica o procedură suplimentară opțională, descrisă în continuare. Se administrează o doză de 5 mg/kg unui alt animal. Dacă și al doilea animal moare, se confirmă categoria 1 SGA, iar studiul se încheie imediat. Dacă al doilea animal supraviețuiește, se administrează o doză de 5 mg/kg unui nou grup, de maximum 3 animale. Deoarece riscul de mortalitate este foarte ridicat, dozele vor fi administrate secvențial, pentru protecția bunăstării animale. Intervalul de timp între administrarea dozelor la fiecare animal trebuie să fie suficient pentru a stabili probabilitatea ca animalul anterior să supraviețuiască. Dacă survine decesul unui alt animal, secvența de administrare se încheie imediat, fără testarea pe alte animale. Deoarece decesul celui de-al doilea animal (indiferent de numărul de animale testate în momentul încheierii studiului) se încadrează în rezultatul A (2 sau mai multe decese), se aplică regula de clasificare din anexa 2 la o doză fixă de 5 mg/kg (categoria 1, dacă survin două sau mai multe decese, sau categoria 2 dacă survine un singur deces). În plus, anexa 4 ofertă indicații pentru clasificarea în sistemul UE, până la punerea în aplicare a noului SGA.

1.5.3. **Studiul principal**

1.5.3.1. *Numărul de animale și nivelul dozelor*

Acțiunile care se întreprind după administrarea dozei inițiale sunt indicate în diagramele din anexa 2. Se adoptă unul dintre cele trei cursuri de acțiune: fie se oprește testarea și se atribuie clasa adecvată de clasificare a periculozității, fie se continuă testarea cu o doză fixă mai mare sau cu o doză fixă mai mică. Cu toate acestea, pentru a proteja animalele, o doză care a cauzat decesul animalelor în studiul de observare nu va fi reutilizată în studiul principal (a se vedea anexa 2). Experiența a demonstrat că, cel mai probabil, după administrarea dozei inițiale, substanța va putea fi clasificată și nu vor fi necesare teste suplimentare.

În mod normal, se utilizează un număr total de cinci animale de același sex pentru fiecare nivel investigat al dozei. Grupul de cinci animale va fi format dintr-un animal căruia i s-a administrat doza selectată în studiul de orientare și alte patru animale (cu excepția cazului excepțional în care nivelul dozei utilizat în studiul principal nu a fost inclus în studiul de orientare).

Intervalul de timp dintre administrarea dozelor de la fiecare nivel la fiecare animal se determină în funcție de momentul declanșării, durata și severitatea semnelor de toxicitate. Administrarea următoarei doze se amână până când există certitudinea că animalele testate anterior vor supraviețui. Se recomandă un interval de 3 sau 4 zile între administrarea fiecărui nivel, pentru a permite observarea toxicității întârziate. Intervalul de timp poate fi adaptat după caz, de exemplu în cazul unor rezultate neconcludente.

Dacă se ia în considerare utilizarea dozei fixe maxime de 5 000 mg/kg, se aplică procedura prevăzută la anexa 3 (a se vedea, de asemenea, secțiunea 1.6.2).

1.5.3.2. *Testul limită*

Testul limită se utilizează în special în situațiile în care experimentatorul are informații care arată că este posibil ca materialul testat să nu fie toxic, având o toxicitate puțin peste dozele limită reglementate. Informațiile privind toxicitatea materialului de testat pot fi deduse din cunoștințele despre compuși, amestecuri și produse similare testate, ținând seama de identitatea și procentajul componentelor cunoscute ca fiind semnificative din punct de vedere toxicologic. În situațiile în care nu există sau există puține informații privind toxicitatea materialului sau în care se estimează că materialul de testat este toxic, se efectuează testul principal.

Urmând procedura normală, un studiu de observare cu o doză inițială de 2 000 mg/kg (sau, în cazuri excepționale, 5 000 mg/kg), urmat de administrarea aceleași doze altor patru animale, constituie testul limită conform acestei orientări.

1.6. OBSERVAȚII

Animalele sunt observate individual după administrarea dozelor, cel puțin o dată în primele 30 de minute, periodic în primele 24 de ore, acordându-li-se o atenție specială în primele 4 ore, și, ulterior, zilnic, timp de 14 zile, cu excepția cazului în care trebuie excluse din studiu și eutanasiate din motive de bunăstare animală sau sunt găsite moarte. Cu toate acestea, perioada de observație nu se stabilește rigid. Ea se determină în funcție de reacțiile toxice și momentul declanșării acestora și de durata perioadei de recuperare și, prin urmare, poate fi prelungită, dacă este necesar. Momentele în care semnele de toxicitate apar și dispar sunt importante, în special în cazurile în care semnele de toxicitate au tendința de a apărea cu întârziere (11). Toate observațiile se înregistrează sistematic, întocmindu-se fișe individuale pentru fiecare animal.

Vor fi necesare observații suplimentare în cazul în care animalele manifestă în continuare semne de toxicitate. Observațiile vizează modificările pielii și blănii, ochilor și membranelor mucoaselor, modificările activității sistemului respirator, sistemului circulator, sistemului nervos central și vegetativ și ale activității somato-motorii și modificările de comportament. Se va acorda o atenție specială observării tremuratului, convulsiilor, salivării, diareii, letargiei, somnului și comei. Se iau în considerare principiile și criteriile rezumate în Humane Endpoints Guidance Document (8). Animalele găsite în stare muribundă și animalele care manifestă dureri mari și semne prelungite de suferință profundă sunt eutanasiate. În cazul în care animalele sunt eutanasiate sau sunt găsite moarte, momentul morții se înregistrează cât mai exact posibil.

1.6.1. **Greutatea corporală**

Animalele se cântăresc puțin înainte de administrarea substanței de testat și, ulterior, cel puțin o dată pe săptămână. Se calculează și se înregistrează variațiile de greutate. La sfârșitul testului, animalele care au supraviețuit sunt cântărite și apoi eutanasiate.

1.6.2. **Patologie**

Toate animalele participante la test (inclusiv cele care mor în cursul testului sau sunt eliminate din studiu din motive de bunăstare animală) sunt supuse unei autopsii macroscopice. Se înregistrează toate modificările patologice majore intervenite la fiecare animal. Se poate efectua, de asemenea, o examinare microscopică a organelor care prezintă semne de modificări patologice majore la animalele care au supraviețuit cel puțin 24 de ore de la administrarea dozei inițiale, întrucât ar putea furniza informații utile.

2. **DATE**

Se furnizează date individuale despre animale. În plus, se face un rezumat tabelar al tuturor datelor, prezentând pentru fiecare grup testat, numărul de animale utilizate, numărul de animale care au prezentat semne de toxicitate, numărul de animale găsite moarte în cursul testului sau eutanasiate, ora decesului pentru fiecare animal, o descriere, evoluția în timp și reversibilitatea efectelor toxice și constatările autopsiei.

3. **RAPORTAREA**

3.1. *Raportul testului*

Raportul testului include următoarele informații, după caz.

Substanța de testat:

— natura fizică, puritate și, dacă este cazul, proprietăți fizico-chimice (inclusiv izomerizare);

— date de identificare, inclusiv numărul CAS.

Vehicul (dacă este cazul):

— justificarea alegerii vehiculului, dacă este altul decât apa.

Animalele de experiență:

— specie/suș utilizată;

— starea microbiologică a animalelor, dacă se cunoaște;

— numărul, vârsta și sexul animalelor (inclusiv, dacă este cazul, o justificare pentru utilizarea de masculi în locul femelelor);

— sursă, condiții de adăpostire, hrană etc.

Condiții de testare:

— detalii privind prepararea substanței de testat, inclusiv detalii privind forma fizică a materialului administrat;

— detalii privind administrarea substanței de testat, inclusiv volumul dozelor și durata administrării;

— detalii privind calitatea hranei și a apei (inclusiv tipul/sursa hranei, sursa apei);

— o justificare pentru selectarea dozei inițiale.

Rezultate:

— un tabel cu datele privind reacția și nivelul dozei la fiecare animal (animale care prezintă semne de toxicitate, inclusiv mortalitatea, natura, gravitatea și durata efectelor);

— un tabel cu greutatea corporală și variațiile acesteia;

— greutatea fiecărui animal în ziua administrării dozei, la intervale săptămânale ulterior și în momentul morții sau al eutanasierii;

— data și ora morții, dacă a survenit înainte de momentul planificat pentru sacrificare;

— graficul declanșării semnelor de toxicitate și reversibilitatea acestora pentru fiecare animal;

— concluziile autopsiei și concluziile examenului histopatologic pentru fiecare animal, dacă sunt disponibile.

Discutarea și interpretarea rezultatelor.

Concluzii.

4. **REFERINȚE BIBLIOGRAFICE:**

(1) British Toxicology Society Working Party on Toxicity (1984). Special report: a new approach to the classification of substances and preparations on the basis of their acute toxicity. Human Toxicol., 3, 85-92.

(2) Van den Heuvel, M.J., Dayan, A.D. and Shillaker, R.O. (1987). Evaluation of the BTS approach to the testing of substances and preparations for their acute toxicity. Human Toxicol., 6, 279-291.

(3) Van den Heuvel, M.J., Clark, D.G., Fielder, R.J., Koundakjian, P.P., Oliver, G.J.A., Pelling, D., Tomlinson, N.J. and Walker, A.P. (1990). The international validation of a fixed-dose procedure as an alternative to the classical LD_{50} test. Fd. Chem. Toxicol. 28, 469-482.

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

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

(6) Stallard, N., Whitehead, A. and Ridgeway, P. (2002). Statistical evaluation of the revised fixed dose procedure. -Hum. Exp. Toxicol., 21, 183-196.

(7) OECD (2001). Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment N. 24. Paris

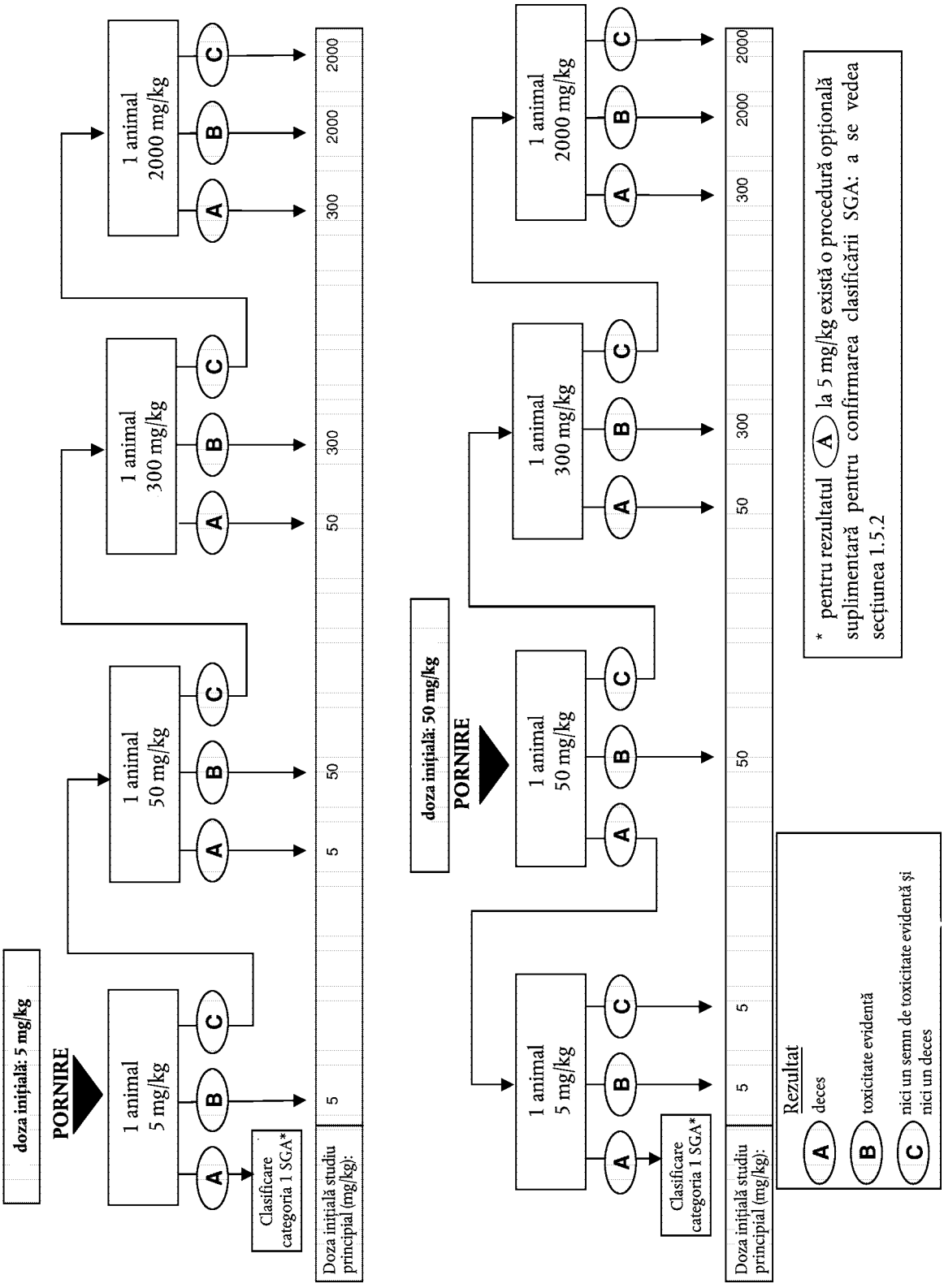
(8) OECD (2000). Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assesment N. 19.

(9) OECD (1998). Harmonised Integrated Hazard Classification for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals in November 1998, Part 2, p. 11 [http://webnet1.oecd.org/oecd/pages/home/displaygeneral/(),3380,EN-documents-521-14-no-24-no-(),FF.html].

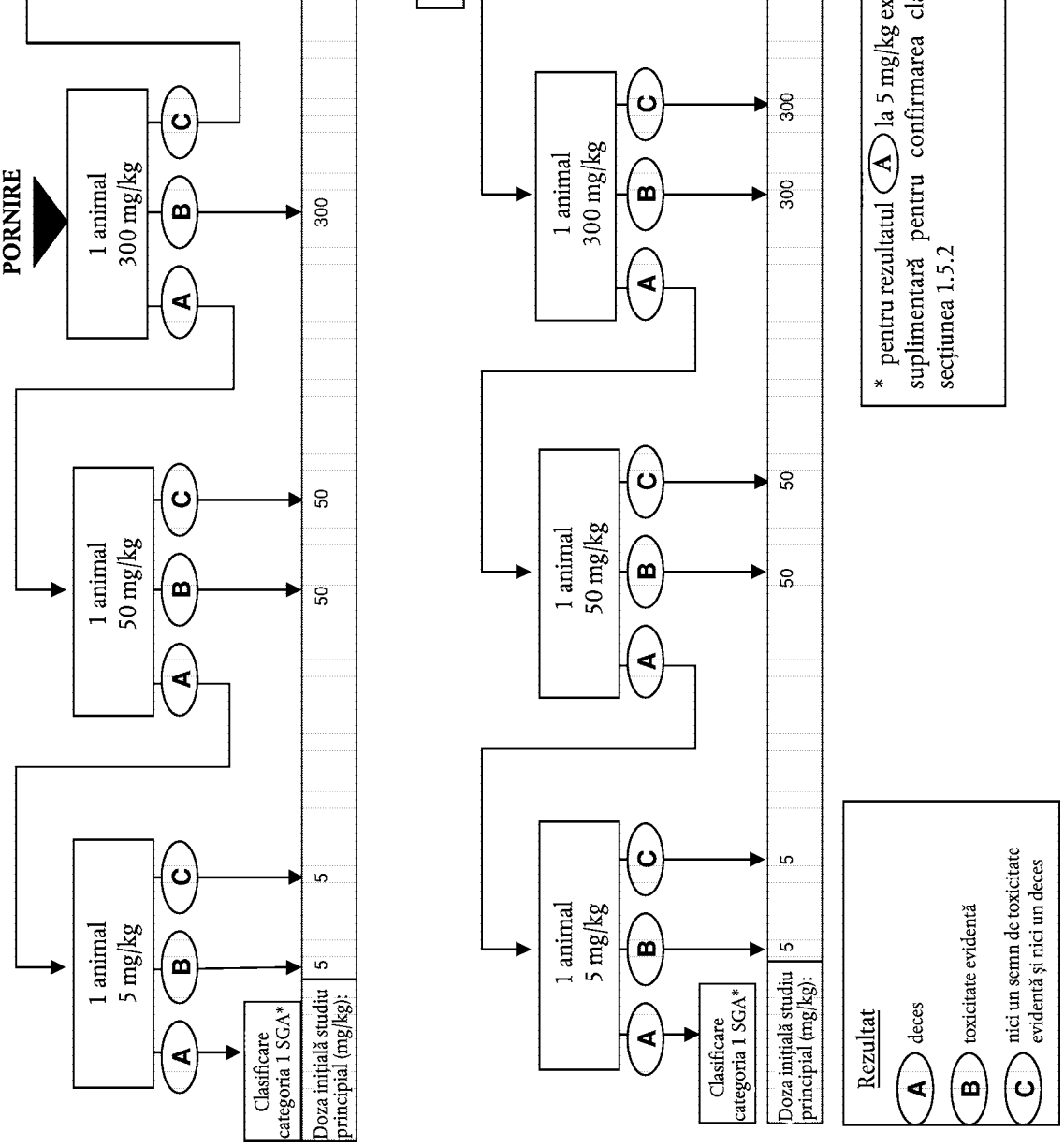
(10) Lipnick, R.1., Cotruvo, J.A., Hill, R.N., Bruce, R.D., Stitzel, K.A., Walker, A.P., Chu, I., Goddard, M., Segal, L., Springer, J.A. and Myers, R.C. (1995). Comparison of the Up-and-Down, Conventional LD_{50}, and Fixed-Dose Acute Toxicity Procedures. Fd. Chem. Toxicol. 33, 223-231.

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

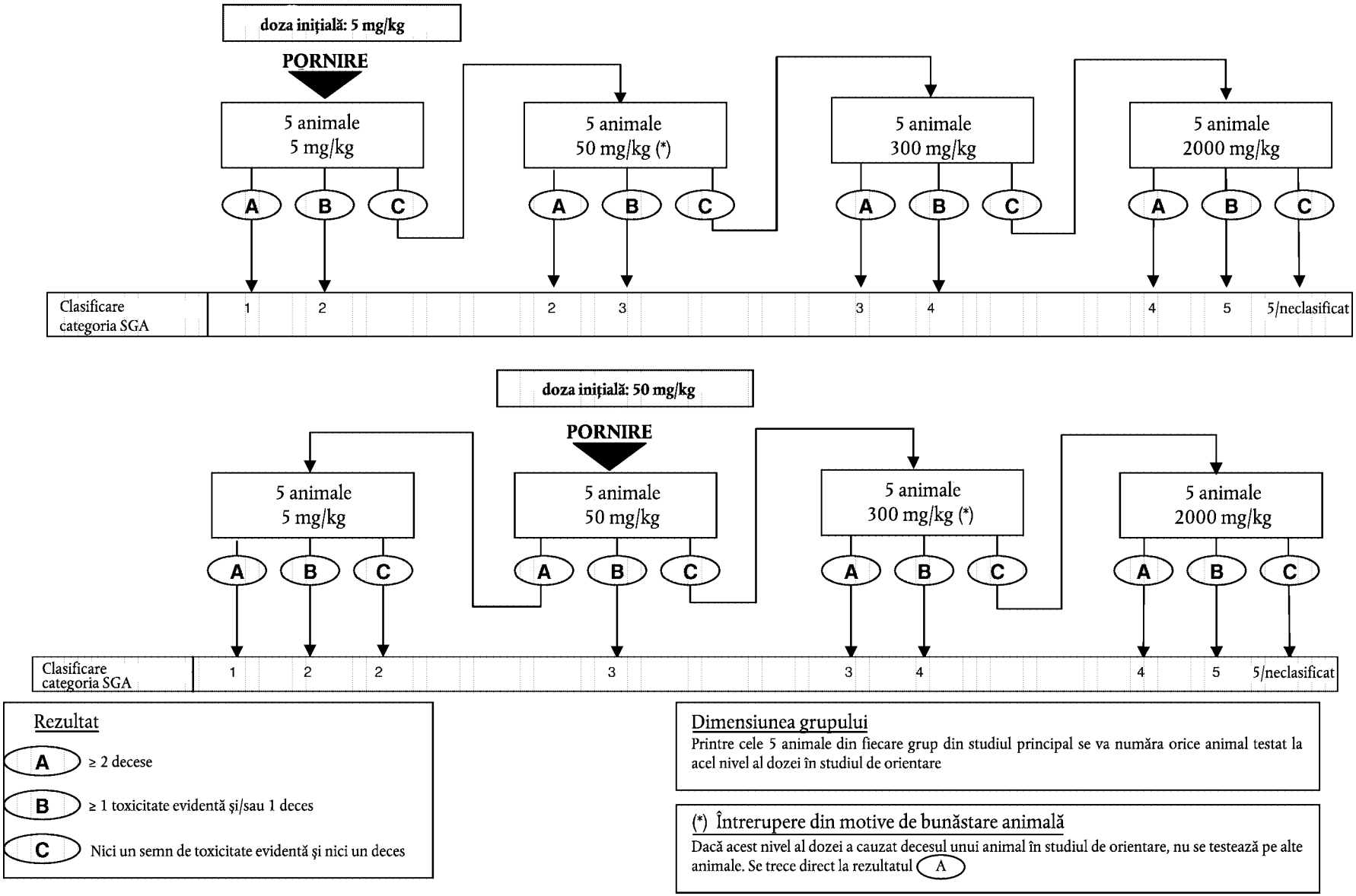
ANEXA 1: DIAGRAMA PENTRU STUDIUL DE OBSERVARE



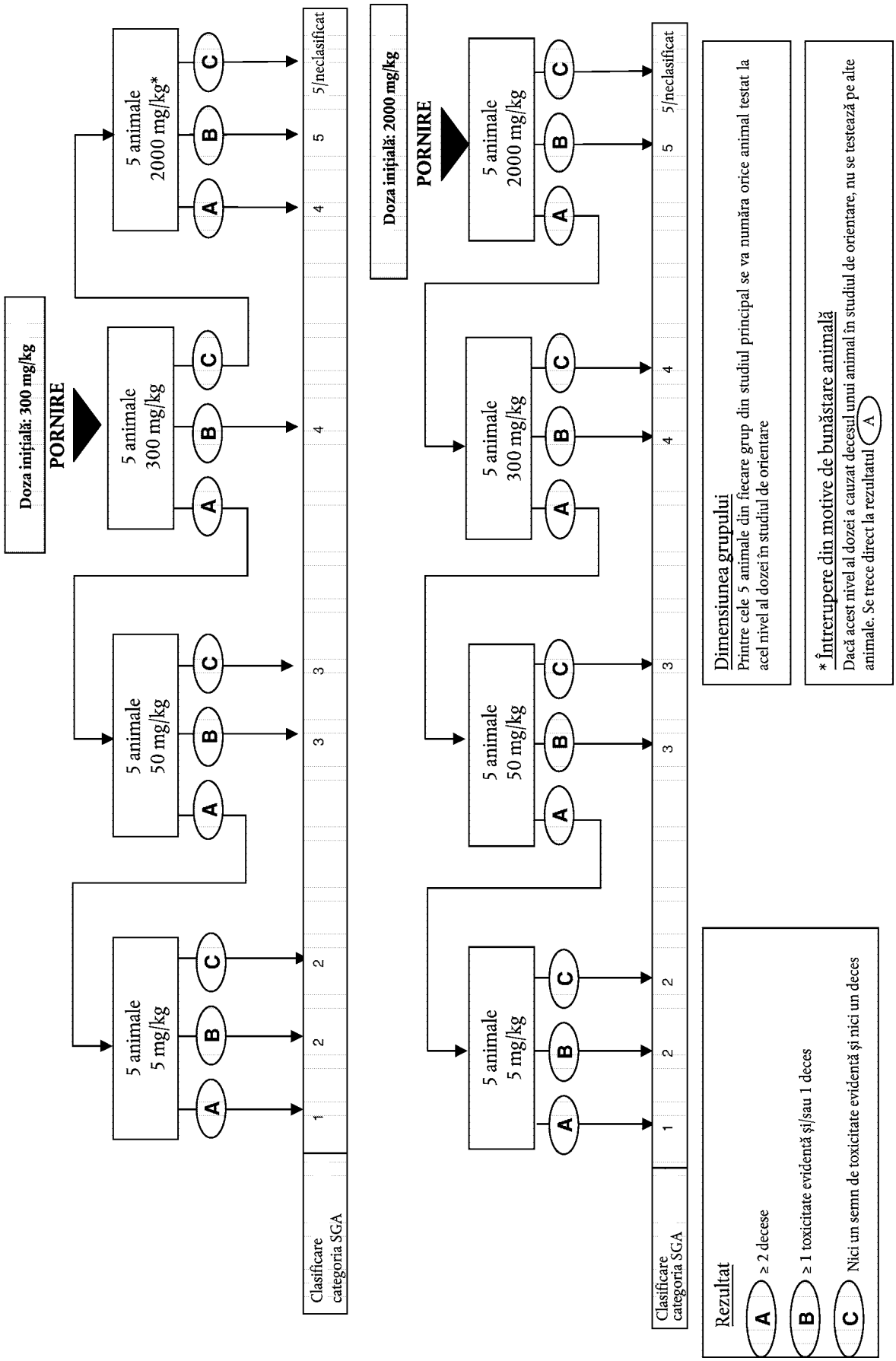
ANEXA 1: DIAGRAMA PENTRU STUDIUL DE OBSERVARE



ANEXA 2: DIAGRAMA PENTRU STUDIUL PRINCIPAL



ANEXA 2: DIAGRAMA PENTRU STUDIUL PRINCIPAL



ANEXA 3

CRITERIILE PENTRU CLASIFICAREA SUBSTANȚELOR DE TESTAT CU VALORI ESTIMATE ALE LD_{50} DE PESTE 2 000 MG/KG FĂRĂ A FI NECESARĂ TESTAREA

Criteriile pentru categoria de periculozitate 5 au ca scop să permită identificarea substanțelor de testat care prezintă un pericol relativ scăzut de toxicitate acută, dar care, în anumite circumstanțe, pot prezenta pericole pentru populațiile vulnerabile. Se anticipează că aceste substanțe au o LD_{50} orală și dermică între 2 000 și 5 000 mg/kg sau doze echivalente pentru alte căi de administrare. Substanța de testat se clasifică în categoria de periculozitate definită prin: 2 000 mg/kg < LD_{50} < 5 000 mg/kg (categoria 5 din SGA) în următoarele cazuri:

(a) dacă este încadrată în această categorie de oricare dintre diagramele de testare din anexa 2, pe baza incidenței deceselor;

(b) dacă sunt deja disponibile date fiabile care arată că LD_{50} se situează în Limitele categoriei 5 sau alte studii pe animale sau privind efectele toxice asupra oamenilor indică o problemă acută pentru sănătatea oamenilor.

(c) prin extrapolare, estimare sau măsurarea de date, dacă nu se justifică clasificarea într-o clasă de periculozitate mai mare și

— sunt disponibile informații fiabile privind efecte toxice semnificative asupra oamenilor sau

— se observă decese la testarea până la valorile din categoria 4 pe cale orală, sau

— dacă concluziile unor experți confirmă semne clinice semnificative de toxicitate, la testarea până la valorile din categoria 4, cu excepția diareii, piloerecției sau a aspectului neîngrijit sau

— dacă concluziile experților confirmă informații fiabile care indică potențiale efecte acute semnificative conform altor studii asupra animalelor.

TESTAREA CU DOZE PESTE 2 000 MG/KG

În mod excepțional și exclusiv în cazurile în care este justificată pentru îndeplinirea unor cerințe specifice, poate fi luată în considerare utilizarea unei doze fixe mai mari, de 5 000 mg/kg. Recunoscând necesitatea de a proteja bunăstarea animală, testarea cu 5 000 mg/kg este descurajată și se ia în considerare doar în cazul în care este foarte probabil ca rezultatele acestor teste să fi direct relevante pentru protecția sănătății animale sau a sănătății oamenilor (9).

Studiul de observare

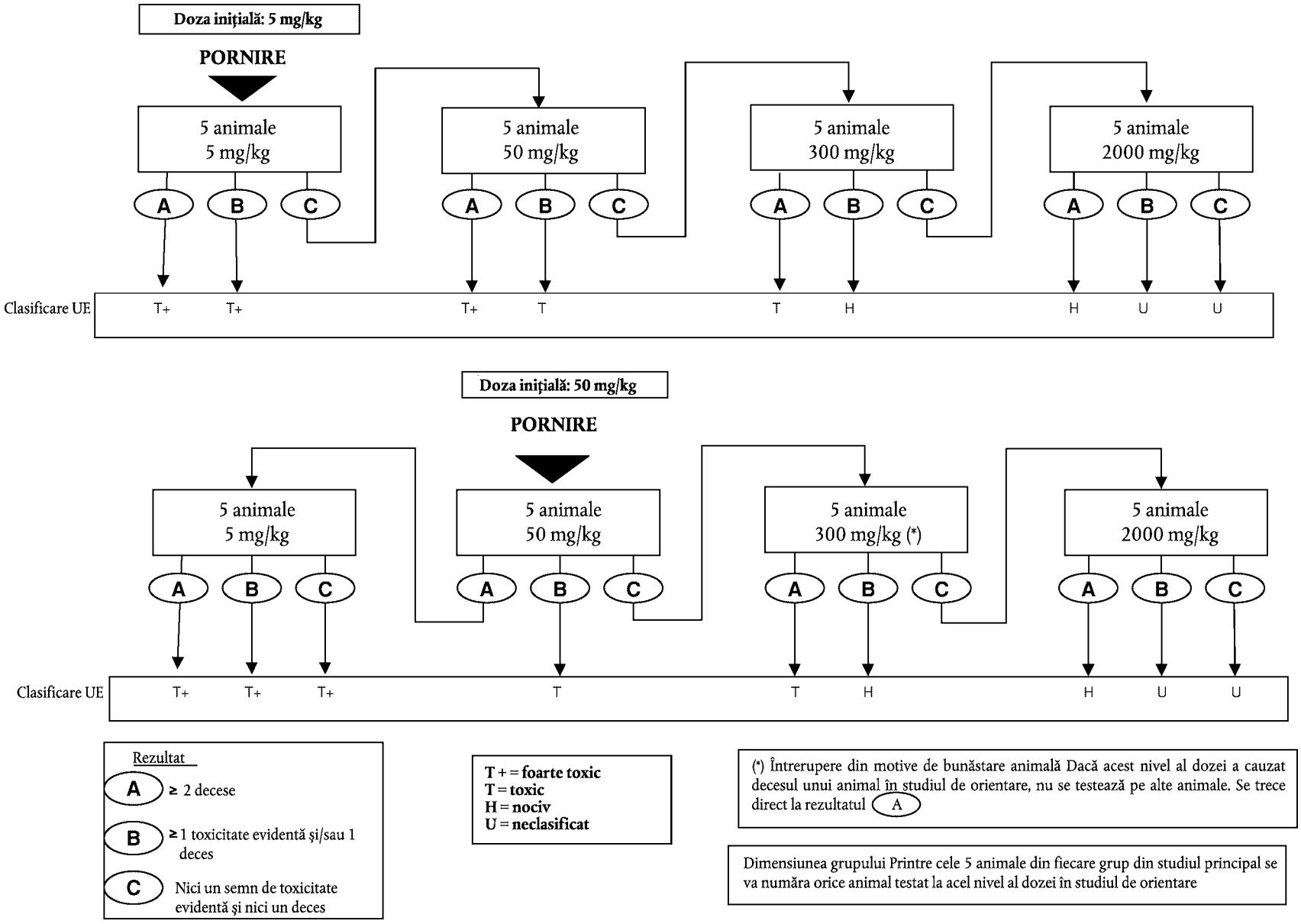
Regulile de luare a deciziilor pentru procedura secvențială prezentată în anexa 1 sunt extinse pentru a include doza de 5 000 mg/kg. Astfel, dacă într-un studiu de observare se utilizează o doză inițială de 5 000 mg/kg, rezultatul A (deces) impune testarea unui alt animal la 2 000 mg/kg; rezultatele B și C (toxicitate evidentă sau fără semne de toxicitate) permit selectarea dozei de 5 000 mg/kg ca doză inițială pentru studiul principal. În mod similar, dacă se folosește o altă doză decât 5 000 mg/kg, testarea va avansa la 5 000 mg/kg în cazul în care se obțin rezultatele B sau C la 2 000 mg/kg: un rezultat ulterior A, la o doză de 5 000 mg/kg, va impune o doză inițială pentru studiul principal de 2 000 mg/kg, iar rezultatele B și C vor impune o doză inițială pentru studiul principal de 5 000 mg/kg.

Studiul principal

Regulile de luare a deciziilor pentru procedura secvențială prezentată în anexa 2 sunt extinse pentru a include doza de 5 000 mg/kg. Astfel, dacă doza inițială pentru studiul principal este de 5 000 mg/kg, rezultatul A (≥ 2 decese) va impune testarea unui al doilea grup la 2 000 mg/kg; rezultatul B (toxicitate evidentă și/sau ≤ 1 deces) sau C (fără semne de toxicitate) va conduce la neclasificarea conform SGA. În mod similar, dacă se utilizează o doză inițială alta decât cea de 5 000 mg/kg, testarea continuă cu 5 000 mg/kg în cazul obținerii rezultatului C la 2 000 mg/kg; un rezultat ulterior A, la doza de 5 000 mg/kg, va conduce la clasificarea substanței în categoria 5 SGA, iar rezultatele B sau C vor conduce la neclasificarea substanței.

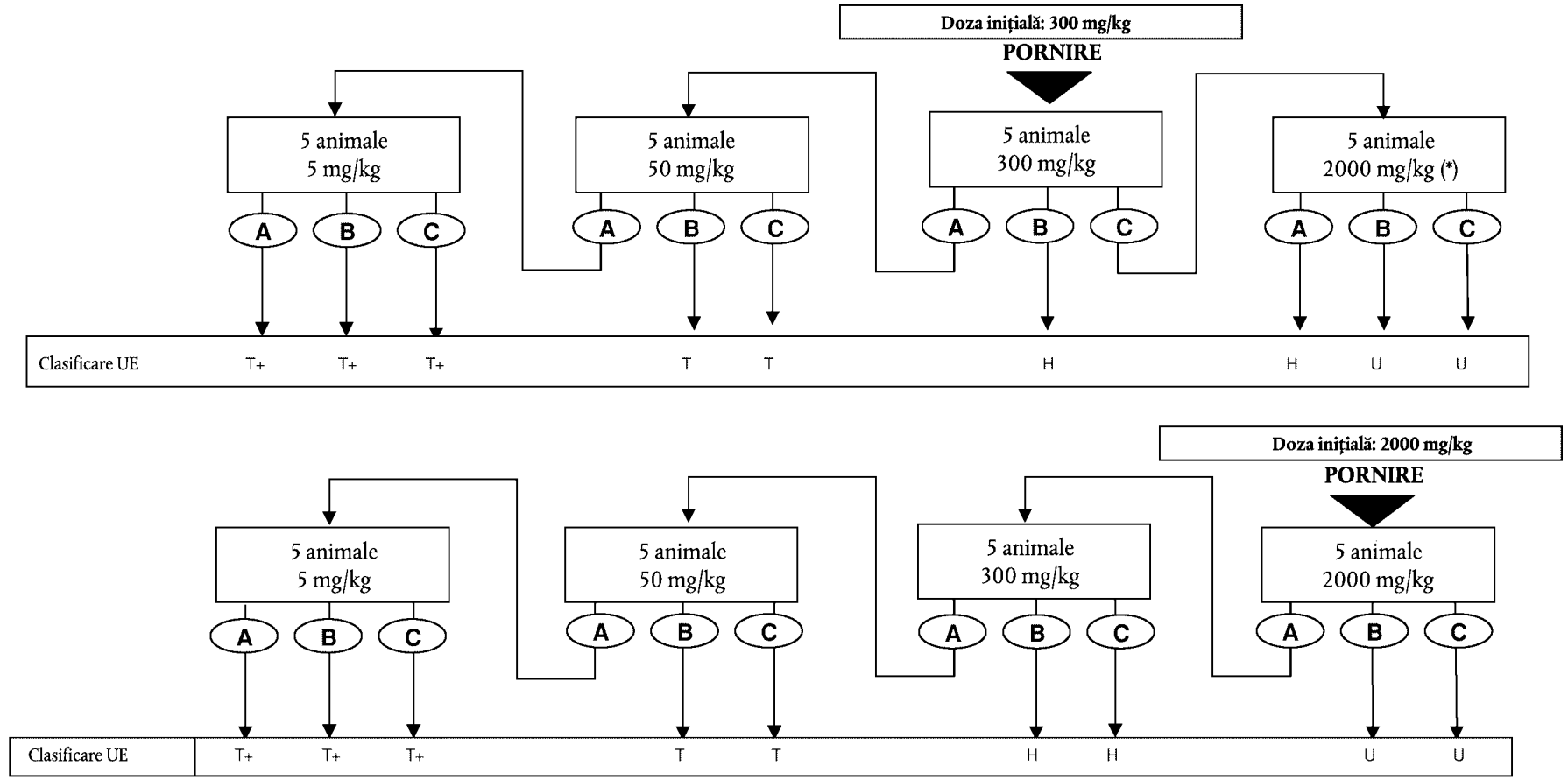
ANEXA 4:

Metoda de testare B.1a – Orientări pentru clasificarea conform schemei UE pentru perioada de tranziție până la punerea completă în aplicare a Sistemului global armonizat de clasificare (sga) [preluate din referința (8)]



ANEXA 4:

Metoda de testare B.1a – Orientări pentru clasificarea conform schemei UE pentru perioada de tranziție până la punerea completă în aplicare a Sistemului global armonizat de clasificare (sga) [preluate din referința (8)]



Rezultat

A ≥ 2 decese

B ≥ 1 toxicitate evidentă și/sau 1 deces

C Nici un semn de toxicitate evidentă și nici un deces

T+ = foarte toxic
T = toxic
H = nociv
U = neclasificat

Dimensiunea grupului

Printre cele 5 animale din fiecare grup din studiul principal se va număra orice animal testat la acel nivel al dozei în studiul de orientare

(*) Întrerupere din motive de bunăstare animală

Dacă acest nivel al dozei a cauzat decesul unui animal în studiul de orientare, nu se testează pe alte animale. Se trece direct la rezultatul (A)

ANEXA 2C

„**B.1b. TOXICITATE ACUTĂ ORALĂ – METODA CLASEI DE TOXICITATE ACUTĂ**

1. **METODĂ**

Această metodă de testare este echivalentă cu testul OCDE TG 423 (2001).

1.1. INTRODUCERE

Metoda clasei de toxicitate acută (1) prezentată în acest test este o procedură secvențială care utilizează 3 animale de același sex într-o etapă. În funcție de mortalitatea și/sau starea muribundă a animalelor, pot fi necesare, în medie, 2-4 etape pentru a permite determinarea toxicității acute a substanței de testat. Această procedură este reproductibilă, utilizează foarte puține animale și permite clasificarea substanțelor într-un mod similar cu celelalte metode de testare a toxicității acute. Metoda clasei de toxicitate acută se bazează pe evaluări biometrice (2) (3) (4) (5) cu doze fixe, separate adecvat pentru a permite clasificarea unei substanțe pentru includerea în diverse categorii și evaluarea riscurilor. Metoda, adoptată în 1996, a fost validată intens *in vivo* comparativ cu datele LD_{50} obținute din literatură, atât la nivel național (6), cât și la nivel internațional (7).

Pentru indicații privind selectarea celei mai adecvate metode de testare pentru un anumit scop, consultați Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing (8). Acest document conține, de asemenea, informații suplimentare pentru aplicarea și interpretarea metodei de testare B.1b.

Nu este necesar să se administreze substanțele de testat la doze despre care se știe că provoacă dureri mari și suferințe profunde din cauza acțiunilor corozive și pronunțat iritante. Animalele muribunde sau cele care manifestă dureri evidente sau prezintă semne de suferință gravă și prelungită sunt eutanasiate și sunt luate în considerare la interpretarea rezultatelor la fel ca animalele care au murit în timpul testului. Criteriile pentru luarea deciziei de eutanasiere a animalelor muribunde sau suferinde și indicații pentru recunoașterea decesului previzibil sau iminent fac obiectul unor orientări separate (9).

Metoda utilizează doze predefinite, iar rezultatele permit clasarea și clasificarea unei substanțe în conformitate cu Sistemul global armonizat de clasificare a substanțelor chimice care provoacă toxicitate acută (10).

În principiu, această metodă nu are ca scop să permită calcularea unei valori exacte a LD_{50}, dar permite determinarea nivelurilor definite de expunere letale, deoarece decesul unei proporții dintre animale rămâne principalul punct final al acestui test. Metoda permite determinarea unei valori a LD_{50} doar dacă cel puțin două doze determină o mortalitate peste 0 % , dar mai mică decât 100 % . Utilizarea unor doze predefinite, indiferent de substanța de testat, și faptul că clasificarea se face explicit în funcție de numărul de animale observate în diverse stări favorizează consecvența și repetabilitatea datelor prezentate de diverse laboratoare.

Laboratorul care efectuează testul ia în considerare toate informațiile disponibile privind substanța de testat înainte de efectuarea studiului. Printre aceste informații se numără identitatea și structura chimică a substanței; proprietățile sale fizico-chimice; rezultatele oricăror alte teste de toxicitate *in vitro* sau *in vivo* asupra substanței; date toxicologice privind substanțele înrudite structural; și utilizarea (utilizările) anticipată(e) a(le) substanței. Aceste informații sunt necesare pentru a dovedi tuturor celor interesați că testul este relevant pentru protecția sănătății oamenilor și vor contribui la selectarea unei doze inițiale adecvate.

1.2. DEFINIȚII

Toxicitate orală acută: se referă la efectele adverse care intervin după administrarea orală a unei singure doze dintr-o substanță sau a mai multor doze în cursul a 24 de ore.

Deces întârziat: înseamnă că un animal nu moare și nu pare muribund în termen de 48 ore, dar moare în perioada de observație de 14 zile.

Doză: este cantitatea administrată din substanța de testat. Doza se exprimă ca greutatea de substanță de testat per unitate de greutate a animalului de experiență (de exemplu: mg/kg).

SGA: Sistemul global armonizat de clasificare a substanțelor și amestecurilor chimice. O activitate comună a OCDE (sănătatea oamenilor și mediul), a Comitetului de experți ONU pentru transportul bunurilor periculoase (proprietăți fizico-chimice) și a OIM (comunicarea pericolelor) și coordonată de Programul interorganizațional pentru buna gestionare a substanțelor chimice (IOMC).

Deces iminent: când se așteaptă o stare muribundă sau decesul înainte de următorul moment de observare planificat. Printre semnele care indică această stare la rozătoare s-ar putea număra convulsii, poziție laterală, poziția culcată și tremurat [a se vedea Humane Endpoint Guidance Document (9) pentru mai multe detalii].

LD_{50} (doza letală mediană): este o singură doză de substanță, derivată statistic, care se poate estima că va cauza decesul a 50 % dintre animale dacă este administrată pe cale orală. Valoarea LD_{50} se exprimă în greutatea de substanță de testat per unitate de greutate a animalului de experiență (mg/kg).

Doză limită: se referă la o doză la limita superioară a testării (2 000 sau 5 000 mg/kg).

Stare muribundă: starea precedentă decesului sau incapacitatea de a supraviețui, chiar în cazul administrării unui tratament [a se vedea Humane Endpoint Guidance Document (9) pentru mai multe detalii].

Deces previzibil: prezența semnelor clinice care indică decesul într-un moment cunoscut din viitor, înainte de sfârșitul planificat al experimentului, ca de exemplu: incapacitatea de a ajunge la apă și mâncare [a se vedea Humane Endpoint Guidance Document (9) pentru mai multe detalii].

1.3. PRINCIPIUL TESTULUI

Principiul acestui test este că, prin aplicarea unei proceduri secvențiale, cu utilizarea unui număr minim de animale în fiecare etapă, se obțin informații suficiente privind toxicitatea acută a substanței de testat pentru a permite clasificarea acesteia. Substanța se administrează oral unui grup de animale de experiență, la una dintre dozele definite. Substanța se testează conform unei proceduri secvențiale, în fiecare etapă utilizându-se trei animale de același sex (de obicei, femele). Absența sau prezența mortalității cauzate de substanța de testat la animalele testate într-o etapă determină etapa următoare, astfel:

— nu sunt necesare alte teste;

— administrarea aceleiași doze altor trei animale;

— administrarea următoarei doze mai mari sau mai mici altor trei animale.

Detaliile procedurii de testare sunt prezentate în anexa 1. Metoda permite adoptarea unei concluzii privind clasificarea substanței de testat într-una dintre clasele de toxicitate delimitate de valori prestabilite ale LD_{50}.

1.4. DESCRIEREA METODEI

1.4.1. **Selectarea speciei de animale**

Specia preferată de rozătoare este șobolanul, dar pot fi utilizate și alte specii de rozătoare. În mod normal, se utilizează femele (9). Acest lucru este motivat de faptul că studiile din literatură asupra testelor convenționale $1D_{50}$ arată că, deși diferențele de sensibilitate între sexe sunt mici, în cazurile în care se observă diferențe, femelele sunt, în general, puțin mai sensibile (11). Cu toate acestea, în cazul în care informațiile privind proprietățile toxicologice sau toxicocinetice ale unor substanțe chimice înrudite structural arată că este probabil ca masculii să fie mai sensibili, se utilizează acest sex. Dacă testul se efectuează pe masculi, se oferă justificări adecvate.

Se utilizează animale adulte, tinere, sănătoase provenind din liniile utilizate în mod obișnuit în laboratoare. Femelele trebuie să fie nulipare și să nu fie gestante. La începerea testului, fiecare animal trebuie să aibă între 8 și 12 săptămâni, iar greutatea sa trebuie să se situeze într-un interval de ± 20 % față de greutatea medie a animalelor testate anterior.

1.4.2. **Condiții de adăpostire și alimentație**

În spațiul pentru adăpostirea animalelor de experiență, se asigură o temperatură de 22 °C (± 3 °C). Se asigură o umiditate relativă de 50-60 % , cu o valoare minimă de 30 % și o valoare maximă 70 % , cu excepția momentelor în care se curăță spațiul. Spațiul se iluminează artificial, cu o alternanță de 12 ore lumină, 12 ore întuneric. Pentru alimentație, se poate utiliza hrană convențională de laborator, cu furnizarea unei cantități nelimitate de apă potabilă. Animalele pot fi grupate în cuști în funcție de doză, dar numărul animalelor dintr-o cușcă nu trebuie să împiedice observarea corectă a fiecărui animal.

1.4.3. **Pregătirea animalelor**

Animalele sunt selectate la întâmplare, marcate pentru a permite identificarea individuală și ținute în cuștile lor cu cel puțin 5 zile înainte de începerea administrării dozelor, pentru a permite aclimatizarea lor la condițiile de laborator.

1.4.4. **Pregătirea dozelor**

În general, substanțele de testat se administrează într-un volum constant indiferent de dozele testate, variind concentrația preparatului. În cazul testării unui produs sau amestec final lichid, utilizarea substanței de testat nediluate, adică la o concentrație constantă, poate fi mai relevantă pentru evaluarea ulterioară a riscurilor substanței și este impusă de unele autorități de reglementare. În orice caz, nu trebuie depășit volumul dozei maxime de administrat. Volumul maxim de lichid care poate fi administrat o singură dată depinde de dimensiunea animalului de experiență. La rozătoare, volumul nu trebuie să depășească, în mod normal, 1 ml/100 g greutate corporală; cu toate acestea, în cazul soluțiilor apoase, pot fi administrați 2 ml/100 g greutate corporală. În ceea ce privește forma de preparare a dozei, se recomandă utilizarea, ori de câte ori este posibil, a unei soluții/suspensii/emulsii apoase, urmată, în ordinea preferinței, de o soluție/suspensie/emulsie în ulei (de exemplu în ulei de porumb) și, eventual, soluții în alte vehicule. Pentru vehicule altele decât apa, este necesar să se cunoască caracteristicile toxicologice ale vehiculului. Dozele se prepară cu puțin timp înaintea administrării, cu excepția cazului în care stabilitatea preparatului în perioada în care urmează a fi utilizat este cunoscută și s-a demonstrat că este acceptabilă.

1.5. MOD DE LUCRU

1.5.1. **Administrarea dozelor**

Substanța de testat se administrează într-o singură doză, prin gavaj, utilizând o sondă gastrică sau o canulă de intubare adecvată. În cazurile deosebite în care nu este posibilă administrarea unei singure doze, doza poate fi administrată în fracțiuni mai mici pe parcursul unei perioade de maximum 24 de ore.

Animalele nu se hrănesc înainte de administrarea dozei (de exemplu șobolanii nu trebuie să fie hrăniți peste noapte, dar pot primi apă; șoarecii nu trebuie să fie hrăniți, dar pot primi apă, cu 3-4 ore înainte). După perioada de flămânzire, animalele se cântăresc și li se administrează substanța de testat. După administrarea substanței, animalele pot fi private din nou de hrană, 3-4 ore la șobolani și 1-2 ore la șoareci. Dacă doza se administrează fracționat într-o perioadă de timp, este posibil să fie necesar să li se ofere animalelor hrană și apă, în funcție de durata perioadei de administrare.

1.5.2. **Numărul de animale și nivelul dozelor**

În fiecare etapă se utilizează trei animale. Nivelul dozei utilizate ca doză inițială se selectează din cele patru doze fixe: 5, 50, 300 și 2 000 mg/kg greutate corporală. Se alege nivelul dozei inițiale cu cea mai mare probabilitate de a produce decesul unora dintre animalele cărora li se administrează. Diagramele din anexa I descriu procedura de urmat pentru fiecare doză inițială. În plus, anexa 4 prezintă indicații pentru clasificarea în sistemul UE până la punerea în aplicare a noului SGA.

Dacă informațiile disponibile sugerează că este puțin probabil ca cel mai ridicat nivel al dozei inițiale (2 000 mg/kg greutate corporală) să provoace decese, se efectuează testul limită. Dacă nu există informații privind substanța de testat, din motive de bunăstare animală, se recomandă utilizarea dozei inițiale de 300 mg/kg greutate corporală.

Intervalul de timp între administrarea dozelor diverselor grupuri se determină în funcție de momentul declanșării, durata și severitatea semnelor de toxicitate. Administrarea următoarei doze se amână până când există certitudinea că animalele testate anterior vor supraviețui.

În mod excepțional și doar dacă acest lucru este necesar pentru îndeplinirea unor cerințe specifice, poate fi luată în considerare o doză suplimentară mai mare, de 5 000 mg/kg greutate corporală (a se vedea anexa 2). Din motive de bunăstare animală, testarea pe animale a substanțelor din categoria 5 SGA (2 000-5 000 mg/kg) este descurajată și se ia în considerare doar în cazul în care este foarte probabil că rezultatele acestor teste vor fi direct relevante pentru protecția sănătății oamenilor, a sănătății animale sau a mediului.

1.5.3. **Testul limită**

Testul limită se utilizează în special în situațiile în care experimentatorul are informații care arată că este posibil ca materialul de testat să nu fie toxic, având o toxicitate puțin peste dozele limită reglementate. Informațiile privind toxicitatea materialului de testat pot fi deduse din cunoștințele despre compuși, amestecuri sau produse similare testate, ținând seama de identitatea și procentajul componentelor cunoscute ca fiind semnificative din punct de vedere toxicologic. În situațiile în care nu există sau există puține informații privind toxicitatea materialului sau în care se estimează că materialul de testat este toxic, se efectuează testul principal.

Se poate efectua un test limită cu o doză de 2 000 mg/kg greutate corporală pe șase animale (trei animale în fiecare etapă). În mod excepțional, se poate efectua un test limită cu o doză de 5 000 mg/kg cu trei animale (a se vedea anexa 2). Dacă intervin decese cauzate de substanța de testat, se poate dovedi necesară efectuarea de teste la următorul nivel inferior.

1.6. OBSERVAȚII

Animalele sunt observate individual după administrarea dozelor, cel puțin o dată în primele 30 de minute, periodic în primele 24 de ore, acordându-li-se o atenție specială în primele 4 ore, și, ulterior, zilnic, timp de 14 zile, cu excepția cazului în care trebuie excluse din studiu și eutanasiate din motive de bunăstare animală sau sunt găsite moarte. Cu toate acestea, perioada de observație nu se stabilește rigid. Ea se determină în funcție de reacțiile toxice și momentul declanșării acestora și de durata perioadei de recuperare și, prin urmare, poate fi prelungită, dacă este necesar. Momentele în care semnele de toxicitate apar și dispar sunt importante, în special în cazurile în care semnele de toxicitate au tendința de a apărea cu întârziere (12). Toate observațiile se înregistrează sistematic, întocmindu-se fișe individuale pentru fiecare animal.

Vor fi necesare observații suplimentare în cazul în care animalele manifestă în continuare semne de toxicitate. Observațiile vizează modificările pielii și b1ănii, ochilor și membranelor mucoaselor, modificările activității sistemului respirator, sistemului circulator, sistemului nervos central și vegetativ și ale activității somato-motorii și modificările de comportament. Se va acorda o atenție specială observării tremuratului, convulsiilor, salivării, diareei, letargiei, somnului și comei. Se iau în considerare principiile și criteriile rezumate în Humane Endpoints Guidance Document (9). Animalele găsite în stare muribundă și animalele care manifestă dureri mari și semne prelungite de suferință profundă sunt eutanasiate. În cazul în care animalele sunt eutanasiate sau sunt găsite moarte, momentul morții se înregistrează cât mai exact posibil.

1.6.1. **Greutatea corporală**

Animalele se cântăresc individual puțin înainte de administrarea substanței de testat și, ulterior, cel puțin o dată pe săptămână. Se calculează și se înregistrează variațiile de greutate. La sfârșitul testului, animalele care au supraviețuit sunt cântărite și apoi eutanasiate.

1.6.2. **Patologie**

Toate animalele participante la test (inclusiv cele care mor în cursul testului sau sunt eliminate din studiu din motive de bunăstare animală) sunt supuse unei autopsii macroscopice. Se înregistrează toate modificările patologice majore intervenite la fiecare animal. Se poate efectua, de asemenea, o examinare microscopică a organelor care prezintă semne de modificări patologice majore la animalele care au supraviețuit cel puțin 24 de ore, întrucât ar putea furniza informații utile.

2. **DATE**

Se furnizează date individuale despre animale. În plus, se face un rezumat tabelar al tuturor datelor, prezentând pentru fiecare grup testat, numărul de animale utilizate, numărul de animale care au prezentat semne de toxicitate, numărul de animale găsite moarte în cursul testului sau eutanasiate, ora decesului pentru fiecare animal, o descriere, evoluția în timp și reversibilitatea efectelor toxice și constatările autopsiei.

3. **RAPORTARE**

3.1. **Raportul testului**

Raportul testului include următoarele informații, după caz.

Substanța de testat:

— natura fizică, puritate și, dacă este cazul, proprietăți fizico-chimice (inclusiv izomerizare);

— date de identificare, inclusiv numărul CAS.

Vehicul (dacă este cazul):

— justificarea alegerii vehiculului, dacă este altul decât apa.

Animalele de experiență:

— specie/sușă utilizată;

— starea microbiologică a animalelor, dacă se cunoaște;

— numărul, vârsta și sexul animalelor (inclusiv, dacă este cazul, o justificare pentru utilizarea de masculi în locul femelelor);

— sursă, condiții de adăpostire, hrană etc.

Condiții de testare:

— detalii privind prepararea substanței de testat, inclusiv detalii privind forma fizică a materialului administrat;

— detalii privind administrarea substanței de testat, inclusiv volumul dozelor și durata administrării;

— detalii privind calitatea hranei și a apei (inclusiv tipul/sursa hranei, sursa apei);

— o justificare pentru selectarea dozei inițiale.

Rezultate:

— un tabel cu datele privind reacția și nivelul dozei la fiecare animal (animale care prezintă semne de toxicitate, inclusiv mortalitate, natura, gravitatea și durata efectelor);

— un tabel cu greutatea corporală și variațiile acesteia;

— greutatea fiecărui animal în ziua administrării dozei, la intervale săptămânale ulterior și în momentul morții sau al sacrificării;

— data și ora morții, dacă a survenit înainte de momentul planificat pentru sacrificare;

— graficul declanșării semnelor de toxicitate și reversibilitatea acestora pentru fiecare animal;

— concluziile autopsiei și concluziile examenului histopatologic pentru fiecare animal, dacă sunt disponibile.

Discutarea și interpretarea rezultatelor.

Concluzii.

4. **REFERINȚE BIBLIOGRAFICE:**

(1) Roll R., Höfer-Bosse Th. And Kayser D. (1986). New Perspectives in Acute Toxicity Testing of Chemicals. Toxicol. Lett., Supp1. 31, 86

(2) Roll R., Riebsch1äger M., Mischke U. and Kayser D. (1989). Neue Wege zur Bestimmung der akuten Toxizität von Chemikalien. Bundesgesundheitsblatt 32, 336-341.

(3) Diener W., Sichha L., Mischke U., Kayser D. and Schlede E. (1994). The Biometric Evaluation of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). Arch. Toxicol. 68, 559-610

(4) Diener W., Mischke U., Kayser D. and Schlede E. (1995). The Biometric Evaluation of the OECD Modified Version of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). Arch. Toxicol. 69, 729-734.

(5) Diener W., and Schlede E. (1999) Acute Toxicity Class Methods: Alterations to LD/LC_{50} Tests. ALTEX 16, 129-134

(6) Schlede E., Mischke U., Roll R. and Kayser D. (1992). A National Validation Study of the Acute-Toxic- Class Method - An A1ternative to the LD_{50} Test. Arch. Toxicol. 66, 455-470.

(7) Schlede E., Mischke U., Diener W. and Kayser D. (1994). The International Validation Study of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). Arch. Toxicol. 69, 659-670.

(8) OECD (2001) Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment N. 24. Paris.

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

(10) OECD (1998) Harmonised Integrated Hazard Classification System For Human Health And Environmental Effects Of Chemical Substances as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals in November 1998, Part 2, p. 11 [http://webnet1.oecd.org/oecd/pages/home/displaygeneral/0,3380,EN-documents-521-14-no-24-no-0,FF.html].

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

(12) Chan P.K. and A.W. Hayes (1994), Chap. 16. Acute Toxicity and Eye Irritancy. *Principles and Methods of Toxicology*, Third Edition. A.W. Hayes, Editor. Raven Press, Ltd., New York, USA."

ANEXA 1

PROCEDURA DE URMAT PENTRU FIECARE DOZĂ INIȚIALĂ

OBSERVAȚII GENERALE

Pentru fiecare doză inițială, trebuie urmate diferitele scheme de testare, în conformitate cu cele prezentate în prezenta anexă.

— Anexa 1 A: doza inițială este de 5 mg/kg greutate corporală

— Anexa 1 B: doza inițială este de 50 mg/kg greutate corporală

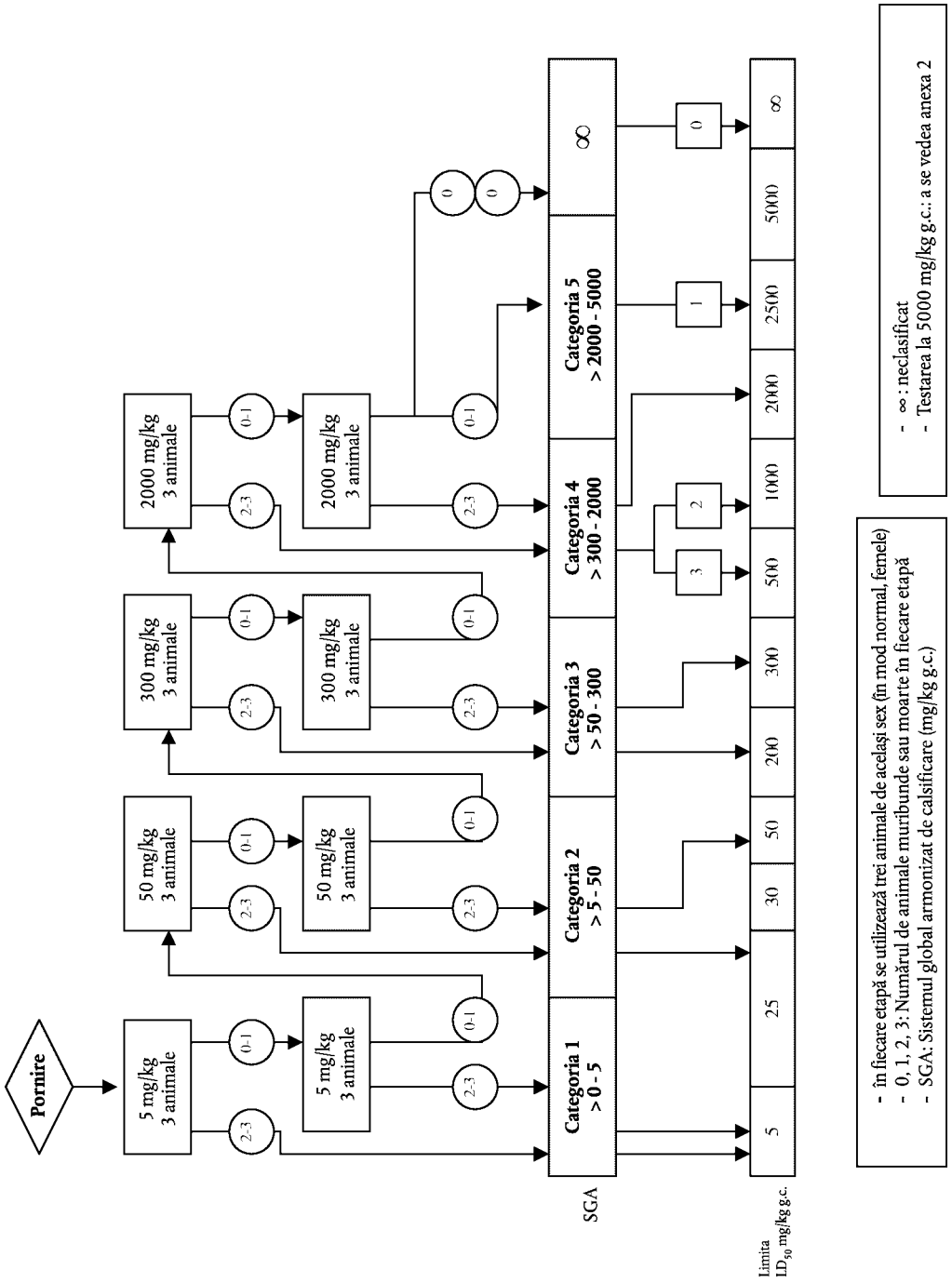
— Anexa 1 C: doza inițială este de 300 mg/kg greutate corporală

— Anexa 1 D: doza inițială este de 2 000 mg/kg greutate corporală

În funcție de numărul de animale moarte sau eutanasiate, procedura de testare de urmat este indicată prin săgeți.

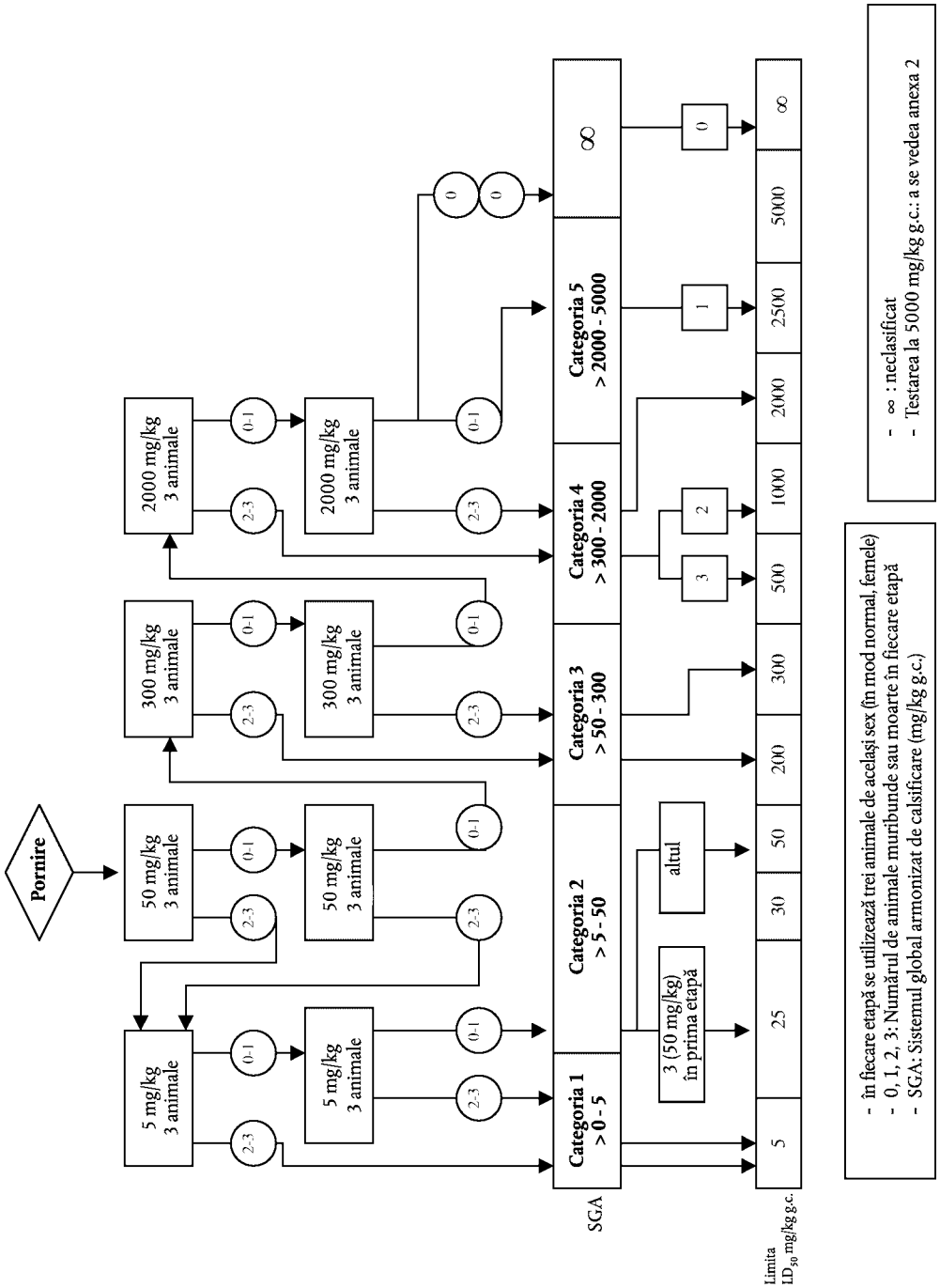
ANEXA 1 A

PROCEDURA DE TESTARE O CU O DOZĂ INIȚIALĂ DE 5 MG/KG GREUTATE CORPORALĂ



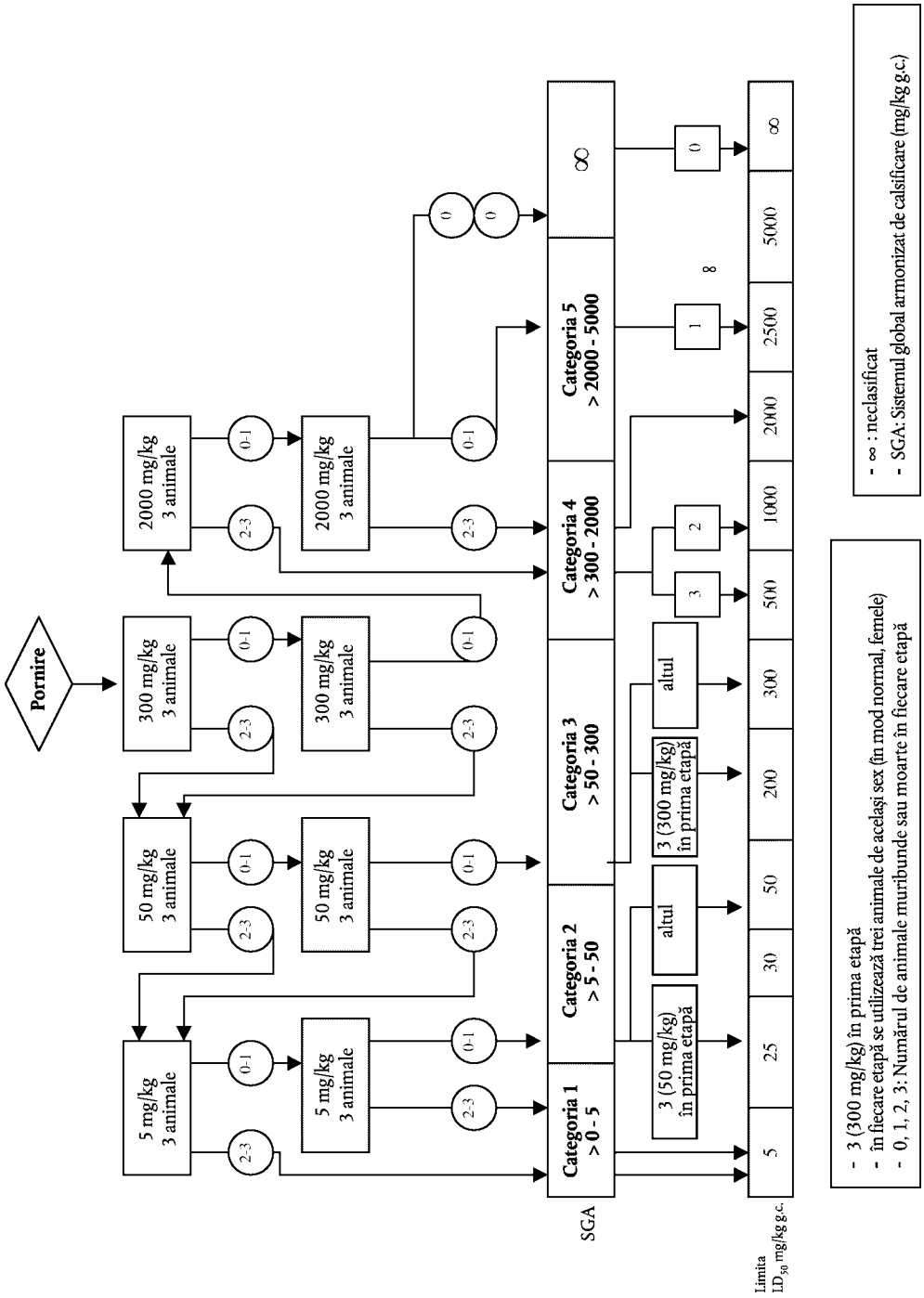
ANEXA 1 B

PROCEDURA DE TESTARE O CU O DOZĂ INIȚIALĂ DE 50 MG/KG GREUTATE CORPORALĂ



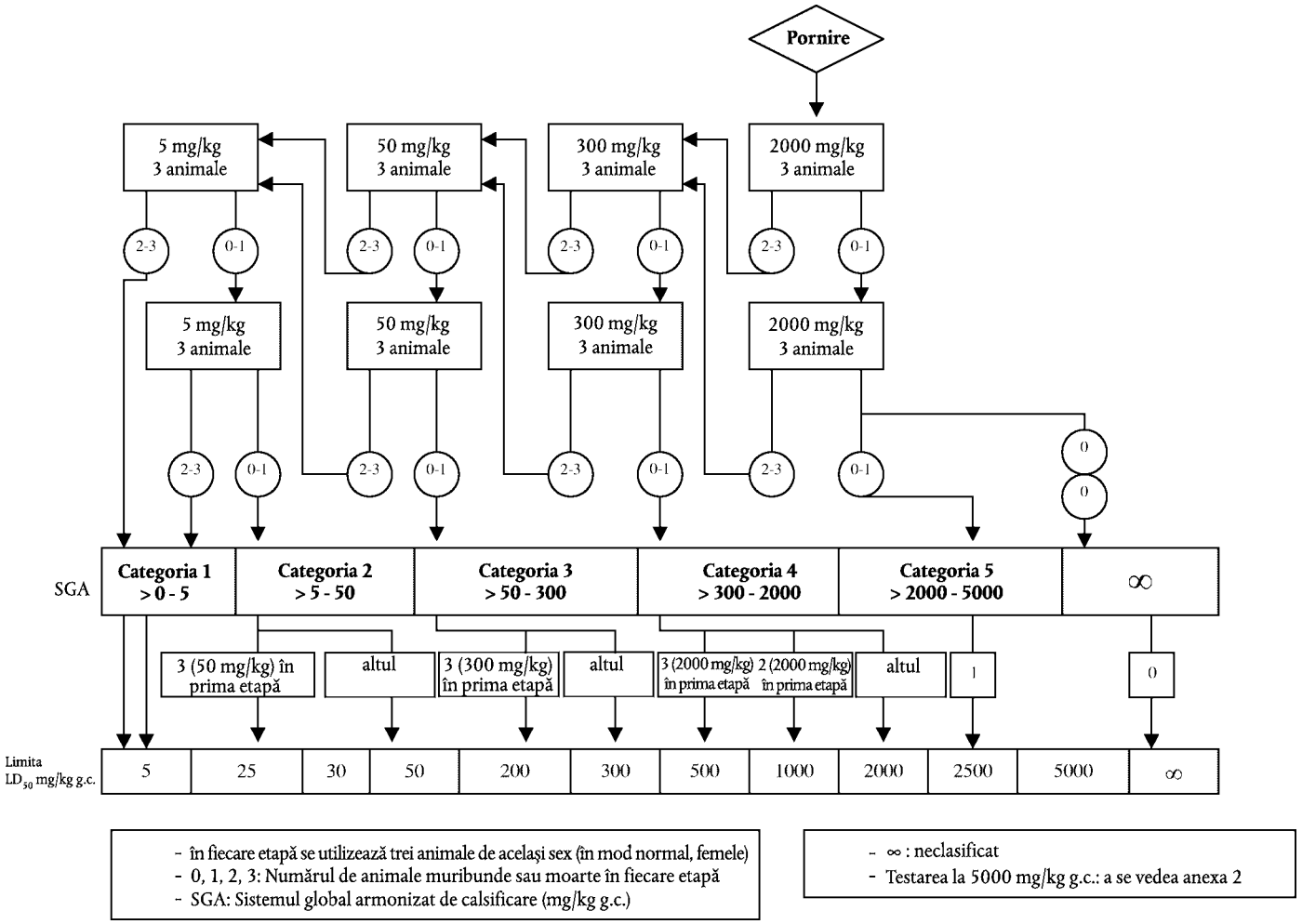
ANEXA 1 C

PROCEDURA DE TESTARE O CU O DOZĂ INIŢIALĂ DE 300 MG/KG GREUTATE CORPORALĂ



ANEXA 1 D

PROCEDURA DE TESTARE O CU O DOZĂ INIȚIALĂ DE 2 000 MG/KG GREUTATE CORPORALĂ



ANEXA 2

CRITERIILE PENTRU CLASIFICAREA SUBSTANȚELOR DE TESTAT CU VALORI ESTIMATE ALE LD_{50} DE PESTE 2 000 MG/KG FĂRĂ A FI NECESARĂ TESTAREA

Criteriile pentru categoria de periculozitate 5 au ca scop să permită identificarea substanțelor de testat care prezintă un pericol relativ scăzut de toxicitate acută, dar care, în anumite circumstanțe, pot prezenta pericole pentru populațiile vulnerabile. Se anticipează că aceste substanțe au o LD_{50} orală sau dermică între 2 000 și 5 000 mg/kg sau doze echivalente pentru alte căi. Substanța de testat se clasifică în categoria de periculozitate definită prin: 2 000 mg/kg < LD_{50} < 5 000 mg/kg (categoria 5 din SGA) în următoarele cazuri:

(a) dacă este încadrată în această categorie de oricare dintre diagramele de testare din anexele 1a-1d, pe baza incidenței deceselor;

(b) dacă sunt deja disponibile date fiabile care arată că LD_{50} se situează în limitele categoriei 5 sau alte studii pe animale sau privind efectele toxice asupra oamenilor indică o problemă acută pentru sănătatea oamenilor;

(c) prin extrapolare, estimare sau măsurarea de date, dacă nu se justifică clasificarea într-o clasă de periculozitate mai mare și

— sunt disponibile informații fiabile privind efectele toxice semnificative asupra oamenilor sau

— se observă decese la testarea până la valorile din categoria 4 pe cale orală sau

— dacă concluziile unor experți confirmă semne clinice semnificative de toxicitate, la testarea până la valorile din categoria 4, cu excepția diareii, piloerecției sau a aspectului neîngrijit sau

— dacă concluziile experților confirmă informații fiabile care indică potențiale efecte acute semnificative conform altor studii asupra animalelor.

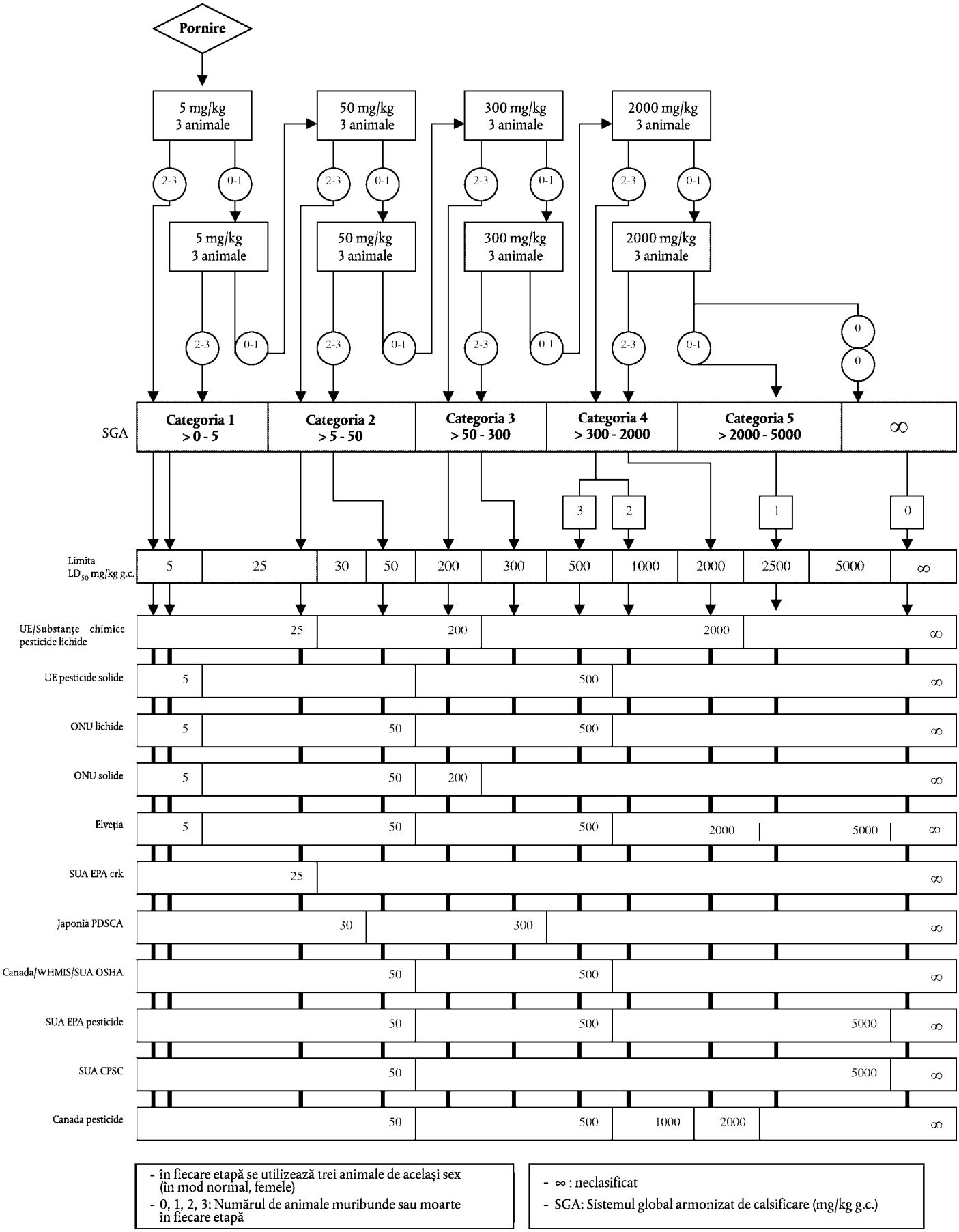
TESTAREA CU DOZE PESTE 2 000 MG/KG

Recunoscând necesitatea de a proteja bunăstarea animală, testarea pe animale în Limitele categoriei 5 (5 000 mg/kg) este descurajată și se ia în considerare doar în cazul în care este foarte probabil că rezultatele acestor teste vor fi direct relevante pentru protecția sănătății oamenilor și a sănătății animale (10). Nu se efectuează alte teste cu doze mai mari.

Când se impune testarea cu o doză de 5 000 mg/kg, este necesară o singură etapă (trei animale). Dacă primul animal tratat moare, testul continuă cu administrarea dozei de 2 000 mg/kg, în conformitate cu diagramele din anexa 1. Dacă primul animal supraviețuiește, se administrează aceeași doză altor două animale. Dacă doar unul dintre cele trei animale moare, valoarea LD_{50} este estimată la peste 5 000 mg/kg. Dacă mor două animale, se continuă procedura de administrare cu 2 000 mg/kg.

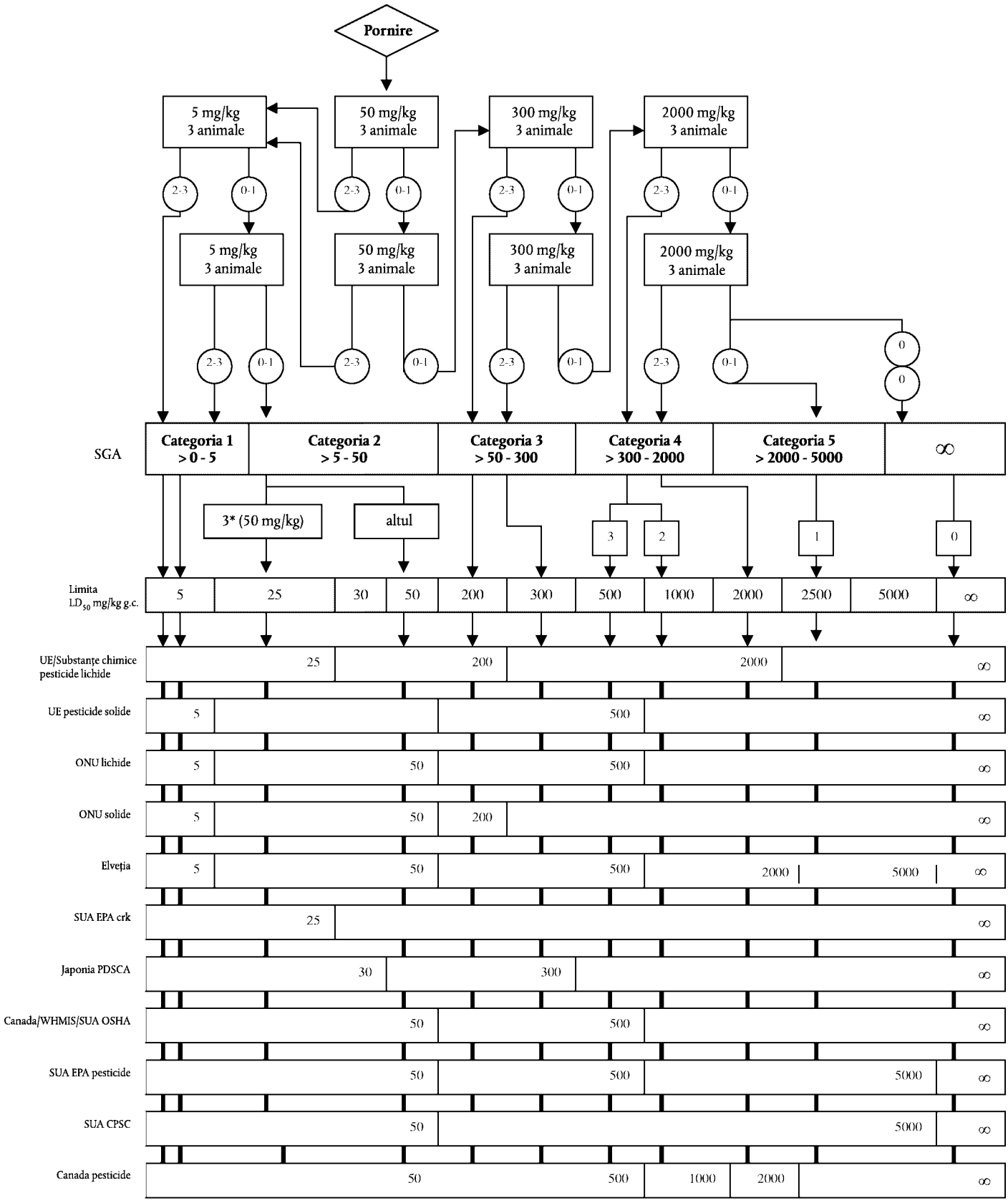
ANEXA 3

METODA DE TESTARE B.1b: Indicații pentru clasificarea conform sistemului UE pentru perioada de tranziție până la punerea completă în aplicare a Sistemului global armonizat de clasificare (SGA) [preluate din referința (8)]



ANEXA 3 (continuare 1)

METODA DE TESTARE B.1b: Indicații pentru clasificarea conform sistemului UE pentru perioada de tranziție până la punerea completă în aplicare a Sistemului global armonizat de clasificare (SGA) [preluate din referința (8)]

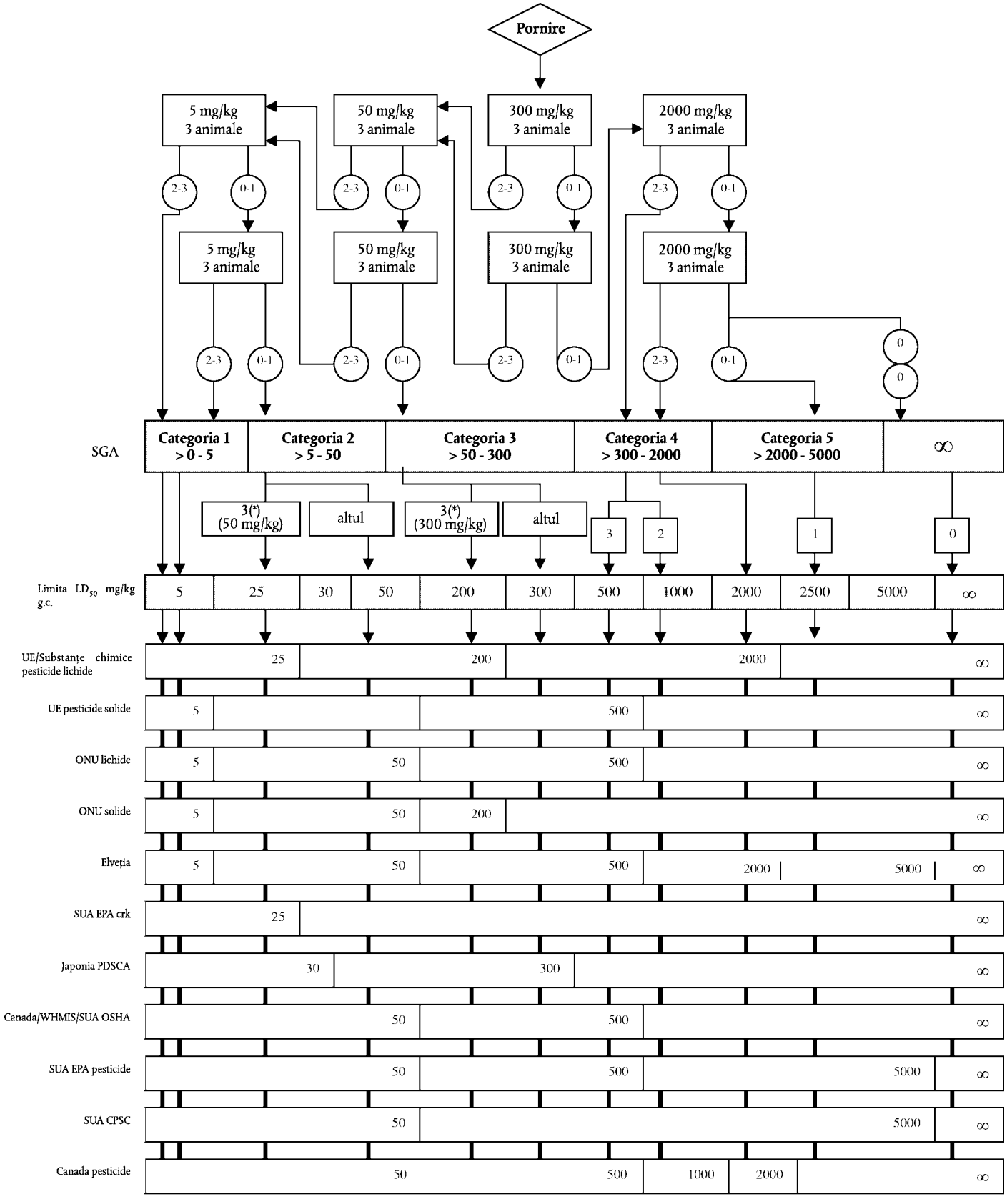


- în fiecare etapă se utilizează trei animale de același sex (în mod normal, femele)
- 0, 1, 2, 3: Numărul de animale muribunde sau moarte în fiecare etapă

- ∞ : neclasificat
- * : în prima etapă
- SGA: Sistemul global armonizat de calsificare (mg/kg g.c.)

ANEXA 3 (continuare 2)

METODA DE TESTARE B.1b: Indicații pentru clasificarea conform sistemului UE pentru perioada de tranziție până la punerea completă în aplicare a Sistemului global armonizat de clasificare (SGA) [preluate din referința (8)]

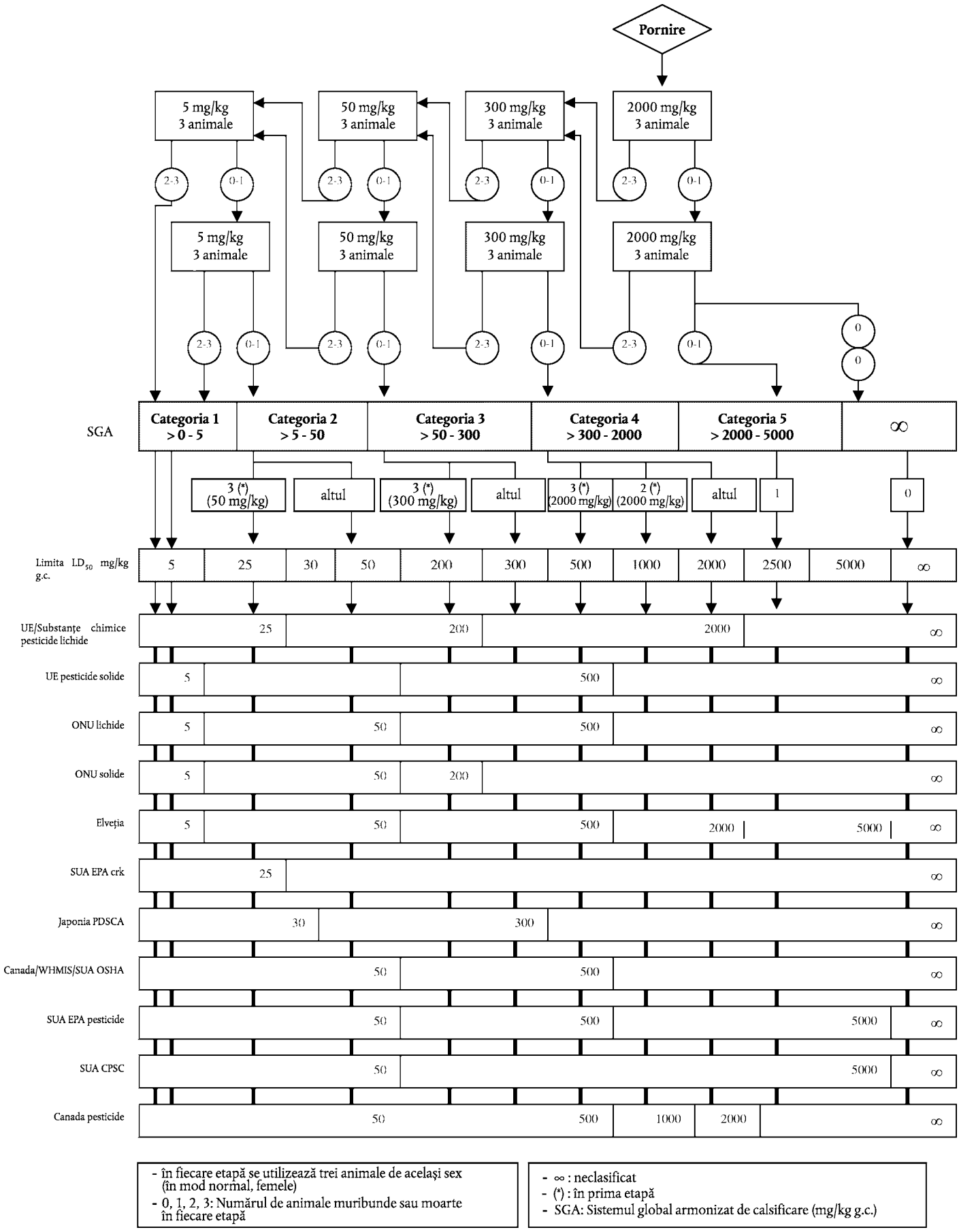


- în fiecare etapă se utilizează trei animale de același sex (în mod normal, femele)
- 0, 1, 2, 3: Numărul de animale muribunde sau moarte în fiecare etapă

- ∞ : neclasificat
- (*) : în prima etapă
- SGA: Sistemul global armonizat de calsificare (mg/kg g.c.)

ANEXA 3 (continuare 3)

METODA DE TESTARE B.1b: Indicații pentru clasificarea conform sistemului UE pentru perioada de tranziție până la punerea completă în aplicare a Sistemului global armonizat de clasificare (SGA) [preluate din referința (8)]



ANEXA 2 D

B.4. TOXICITATE ACUTĂ: IRITAȚIE/COROZIUNE DERMICĂ

1. **METODĂ**

Această metodă este echivalentă cu testul OCDE TG 404 (2002).

1.1. INTRODUCERE

La elaborarea acestei metode actualizate s-a acordat o atenție deosebită posibilelor îmbunătățiri în ceea ce privește problemele de bunăstare animală și evaluării tuturor informațiilor existente privind substanța de testat pentru a se evita testarea inutilă pe animale de laborator. Această metodă include recomandarea ca, anterior efectuării testului *in vivo* de iritație/coroziune descris asupra substanței, să se facă o analiză a valorii probante a datelor existente relevante. Dacă datele disponibile sunt insuficiente, ele pot fi dezvoltate prin aplicarea unor teste secvențiale (1). Strategia de testare include efectuarea unor teste *in vitro* validate și acceptate și este prezentată în anexa la această metodă. În plus, dacă este cazul, se recomandă optarea pentru aplicarea succesivă, și nu simultană, a celor trei plasturi la animalul de experiență în cadrul testului inițial *in vivo*.

În interesul acurateței științifice și al bunăstării animale, testele *in vivo* se efectuează doar după o analiză a valorii probante a tuturor datelor relevante disponibile privind caracterul coroziv/iritant al substanței la nivel dermic. Printre aceste date se numără doa se vedea din studiile deja efectuate asupra oamenilor și/sau animalelor de laborator, doa se vedea privind caracterul coroziv/iritant al uneia sau mai multor substanțe chimice înrudite structural sau al unor amestecuri de astfel de substanțe, date demonstrând o puternică aciditate sau alcalinitate a substanței (2) (3) și rezultatele unor teste *in vitro* sau *ex vivo* validate și acceptate (4) (5) (5a). Această analiză ar trebui să reducă necesitatea efectuării unor teste *in vivo* de coroziune/iritație dermică asupra substanțelor pentru care există deja doa se vedea suficiente din alte teste privind aceste două puncte finale.

Anexa la prezenta metodă prezintă o strategie preferată de testare de tip secvențial, care include efectuarea unor teste *in vitro* și *ex vivo* de coroziune/iritație. Strategia prezentată a fost dezvoltată și recomandată unanim de participanții la un atelier de lucru OCDE (6) și a fost adoptată ca strategie de testare recomandată în Sistemul global armonizat de clasificare a substanțelor chimice (SGA) (7). Se recomandă aplicarea acestei strategii de testare înainte de efectuarea testelor *in vivo*. Pentru substanțele noi, se recomandă o abordare a testelor pe etape pentru obținerea unor date științifice exacte privind caracterul coroziv/iritant al substanței. În cazul substanțelor existente pentru care datele privind coroziunea/iritația dermică sunt insuficiente, se aplică strategia pentru completarea datelor lipsă. Utilizarea unei strategii sau proceduri diferite de testare sau decizia de a nu utiliza o abordare a testării pe etape trebuie justificată.

În cazul în care analiza valorii probante a datelor, în conformitate cu strategia de testare secvențială nu permite determinarea caracterului coroziv sau iritant, se ia în considerare un test *in vivo* (a se vedea anexa).

1.2. DEFINIȚII

Iritație dermică: constă în producerea unor leziuni cutanate reversibile ca urmare a aplicării unei substanțe de testat timp de maximum patru ore.

Coroziune dermică: constă în producerea unor leziuni cutanate ireversibile; mai exact, necroză vizibilă prin epidermă și în dermă, ca urmare a aplicării unei substanțe de testat timp de maximum patru ore. Reacțiile cutanate se manifestă, în general, prin ulcere, sângerare, cruste sângerânde, și, spre sfârșitul perioadei de observație de 14 zile, o decolorare datorată albirii pielii, zone de alopecie completă și cicatrice. Leziunile suspecte se supun unui examen histopatologic.

1.3. PRINCIPIUL METODEI DE TESTARE

Substanța de testat se aplică într-o singură doză pe pielea unui animal de experiență; zonele netratate ale pielii animalului de experiență se utilizează ca martor. La intervale specificate se examinează și se punctează gradul de iritare/coroziune care este descris în detaliu pentru a permite o evaluare completă a efectelor. Durata studiului trebuie să fie suficientă pentru evaluarea reversibilității sau ireversibilității efectelor observate.

Animalele care manifestă semne persistente de suferință profundă și/sau durere în orice etapă a testului sunt eutanasiate, iar substanța este evaluată în consecință. Criteriile pentru luarea deciziei de eutanasiere a animalelor muribunde sau suferinde pot fi consultate în referința (8).

1.4. DESCRIEREA METODEI DE TESTARE

1.4.1. **Pregătirea testului *in vivo***

1.4.1.1. *Selectarea speciei de animale*

Se utilizează, de preferat, exemplare adulte tinere, sănătoase, de iepure albinos. Utilizarea altor specii trebuie justificată.

1.4.1.2. *Pregătirea animalelor*

Cu aproximativ 24 de ore înainte de test, se rade blana din regiunea dorsală de pe corpul animalelor. Se evită cu atenție jupuirea pielii și se utilizează exclusiv animalele cu pielea sănătoasă, intactă.

la unele sușe de iepuri, blana este mai deasă în unele zone, în anumite perioade ale anului. Zonele în cauză nu se utilizează ca zone de testare.

1.4.1.3. *Condiții de adăpostire și alimentație*

Animalele se adăpostesc individual. În spațiul pentru adăpostirea animalelor de experiență, se asigură o temperatură de 20 °C (± 3 °C) pentru iepuri. Se asigură o umiditate relativă de 50-60 % , cu o valoare minimă de 30 % și o valoare maximă 70 %, cu excepția momentelor în care se curăță spațiul. Spațiul se iluminează artificial, cu o alternanță de 12 ore lumină, 12 ore întuneric. Pentru alimentație, se poate utiliza hrană convențională de laborator, cu furnizarea unei cantități nelimitate de apă potabilă.

1.4.2. **Procedura de testare**

1.4.2.1. *Aplicarea substanței de testat*

Substanța de testat se alică pe o suprafață redusă (aproximativ 6 cm^2) a pielii și se acoperă cu o compresă de tifon, care se fixează cu plasture care nu irită. În cazurile în care nu este posibilă aplicarea directă (de exemplu în cazul lichidelor și al unor paste), substanța de testat se aplică mai întâi pe compresa de tifon, care se aplică apoi pe piele. Se asigură un contact ușor între compresă și piele cu ajutorul unui pansament semi-ocluziv pentru întreaga durată a perioadei de expunere. Dacă substanța de testat se aplică pe compresă, aceasta se fixează pe piele astfel încât să se asigure un contact adecvat și o distribuție uniformă a substanței pe piele. Este necesar să se prevină accesul animalului la compresă și ingerarea sau inhalarea substanței de testat.

Substanțele de testat lichide se utilizează, în general, nediluate. La testarea solidelor (care pot fi pulverizate, dacă este necesar), substanța solidă se înmoaie cu cea mai mică cantitate de apă (sau, dacă este necesar, cu un alt vehicul adecvat) suficientă pentru a asigura un contact adecvat cu pielea. Dacă se utilizează alte vehicule decât apa, potențiala influență a vehiculului asupra iritației provocate de substanță la nivel dermic trebuie să fie minimă sau nulă.

la sfârșitul perioadei de expunere, care este, în mod normal, de 4 ore, reziduurile de substanță de testat se îndepărtează, dacă este posibil, cu apă sau un solvent adecvat fără a se modifica reacția existentă sau integritatea epidermei.

1.4.2.2. *Nivelul dozei*

Pe zona de testare se aplică o doză de 0,5 ml de lichid sau de 0,5 g de substanță solidă sau pastă.

1.4.2.3. *Testul inițial (test in vivo de iritație/coroziune dermică utilizând un animal)*

Se recomandă ca testul *in vivo* să se efectueze inițial pe un singur animal, în special dacă substanța de testat riscă să fie corozivă. Această abordare este consecventă cu strategia de testare secvențială (a se vedea anexa 1).

Dacă se stabilește, pe baza analizei valorii probante a datelor, că o substanță este corozivă, nu este necesară testarea pe animale. Pentru cele mai multe substanțe care sunt considerate corozive, nu sunt, în mod normal, necesare teste suplimentare *in vivo*. Cu toate acestea, în cazurile în care se justifică obținerea de date suplimentare având în vedere doa se vedeale insuficiente, se pot efectua teste restrânse, utilizând următoarea abordare: se aplică animalului, secvențial, maximum trei plasturi. Primul plasture se îndepărtează după trei minute. Dacă nu se observă o reacție cutanată serioasă, se aplică al doilea plasture, care se îndepărtează după o oră. Dacă în această etapă, observațiile arată că poate fi permisă prelungirea expunerii la patru ore, fără a cauza suferințe, se aplică un al treilea plasture, care se îndepărtează după patru ore și se punctează reacția.

Dacă se observă un efect coroziv după oricare dintre cele trei expuneri secvențiale, testul se încheie. Dacă nu se observă un efect coroziv după îndepărtarea ultimului plasture, animalul se observă timp de 14 zile, cu excepția cazului în care coroziunea se manifestă mai devreme.

În cazurile în care se estimează că substanța de testat nu este corozivă, dar ar putea fi iritantă, se aplică un singur plasture unui animal, timp de patru ore.

1.4.2.4. *Teste de confirmare (test de iritare in vivo pe animale suplimentare)*

Dacă la testul inițial nu se observă efecte corozive, reacția de iritație sau negativă se confirmă prin testarea a maximum alte două animale, fiecare cu câte un plasture, cu o perioadă de expunere de patru ore. Dacă se observă un efect iritant la testul inițial, testul de confirmare poate fi efectuat secvențial, sau prin expunerea simultană a celor două animale suplimentare. În cazul excepțional în care nu se efectuează testul inițial, două sau trei animale pot fi tratate cu câte un singur plasture, care se îndepărtează după patru ore. Dacă se utilizează două animale și ambele manifestă aceeași reacție, nu mai sunt necesare teste suplimentare. În caz contrar, se testează și al treilea animal. Este posibil să fie necesară evaluarea reacțiilor echivoce utilizând alte animale.

1.4.2.5. *Perioada de observare*

Durata perioadei de observare trebuie să fie suficientă pentru evaluarea completă a reversibilității efectelor observate. Cu toate acestea, experimentul se încheie dacă animalul prezintă semne persistente de durere sau suferință profundă. Pentru a determina reversibilitatea efectelor, animalele se observă timp de până la 14 zile de la îndepărtarea plasturilor. Dacă reversibilitatea intervine înainte de 14 zile, experimentul se încheie în acel moment.

1.4.2.6. *Observații clinice și punctarea reacțiilor cutanate*

Se examinează semnele de eritem și edem la toate animalele și se punctează reacțiile la 60 de minute, iar apoi la 24, 48 și 72 de ore de la îndepărtarea plasturilor. Pentru testul inițial pe un singur animal, zona de testare se examinează, de asemenea, imediat după îndepărtarea plasturelui. Reacțiile dermice se punctează și se înregistrează conform punctajelor din tabelul de mai jos. Dacă la 72 de ore se observă leziuni cutanate care nu pot fi identificate ca iritații sau coroziuni, este posibil să fie necesară observarea timp de 14 zile, pentru a determina reversibilitatea efectelor. În plus față de examinarea iritației, se descriu și se înregistrează toate efectele toxice locale, precum uscarea pielii, și orice efecte sistemice adverse (de exemplu efecte manifestate prin semne clinice de toxicitate sau efecte asupra greutății corporale). Pentru clarificarea reacțiilor echivoce se efectuează un examen histopatologic.

Punctarea reacțiilor cutanate este evident subiectivă. Pentru a promova armonizarea punctării reacțiilor cutanate și pentru a veni în sprijinul laboratoarelor de testare și a persoanelor implicate în efectuarea și interpretarea observațiilor, personalul care efectuează observațiile trebuie să fie instruit corespunzător cu privire la sistemul de punctaj utilizat (a se vedea tabelul de mai jos). Ar putea fi util un ghid ilustrat pentru punctarea iritațiilor dermice și a altor leziuni (9).

2. **DATE**

2.1. PREZENTAREA REZULTATELOR

Rezultatele studiul se rezumă în formă tabelară în raportul final al testului și includ toate punctele prevăzute la secțiunea 3.1.

2.2. EVALUAREA REZULTATELOR

Punctajele de iritație dermică se evaluează în legătură cu natura și severitatea leziunilor, precum și cu reversibilitatea sau ireversibilitatea lor. Punctajele individuale nu reprezintă un standard absolut pentru proprietățile iritante ale materialului, întrucât se evaluează și alte efecte ale materialului de testat. În schimb, punctajele individuale trebuie privite ca valori de referință, care se evaluează în legătură cu toate celelalte observații ale studiului.

Reversibilitatea leziunilor cutanate se ia în considerare la evaluarea reacțiilor iritante. Dacă reacțiile precum alopecia (zonă limitată), hiperkeratoza, hiperplazia și exfolierea persistă la sfârșitul perioadei de observare de 14 zile, substanța de testat se consideră a fi iritantă.

3. **RAPORTARE**

3.1. RAPORTUL TESTULUI

Raportul testului include următoarele informații:

motivația pentru testarea *in vivo*: analiza valorii probante a datelor prealabile testului, inclusiv a rezultatelor strategiei de testare secvențiale:

— descrierea datelor relevante disponibile înaintea testului;

— date obținute în fiecare etapă a strategiei de testare;

— descrierea testelor *in vitro* efectuate, inclusiv detaliile procedurilor, rezultatele obținute cu substanțele de testat/de referință;

— analiza valorii probante pentru efectuarea studiului *in vivo*.

Substanța de testat:

— date de identificare (de exemplu, numărul CAS; sursă; puritate; impurități cunoscute; numărul lotului);

— natura fizică și proprietățile fizico-chimice (de exemplu, pH, volatilitate, solubilitate, stabilitate);

— pentru amestecuri, compoziția și procentele relative ale componentelor.

Vehicul:

— dentificare, concentrație (dacă este cazul), volumul utilizat;

— justificarea alegerii vehiculului.

Animale de experiență:

— specie/sușă utilizată, motivație pentru utilizarea altor animale decât iepurele albinos;

— numărul de animale din fiecare sex;

— greutatea fiecărui animal la începutul și finalul testului;

— vârsta la începutul studiului;

— sursa animalelor, condiții de adăpostire, hrană etc.

Condiții de testare:

— tehnica pregătirii zonei de aplicare a plasturelui;

— detalii privind materialele utilizate pentru plasturi și metodele de aplicare;

— detalii privind prepararea, aplicarea și îndepărtarea substanței de testat.

Rezultate:

— tabel cu punctajul acordat reacției de iritație/coroziune pentru fiecare animal în fiecare moment de observare prestabilit;

— descrierea tuturor leziunilor observate;

— descrierea narativă a naturii și gradului de iritație/coroziune observat și concluziile examenului histopatologic;

— descrierea altor efecte locale adverse (de exemplu uscarea pielii) și a altor efecte sistemice apărute în plus față de iritația sau coroziunea dermică.

Discutarea rezultatelor.

4. **REFERINȚE BIBLIOGRAFICE:**

(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, Brussels.

(5) Fentem, J.H., Archer, G.E.B., Balls, M., Botham, P.A., Curren, R.D., Earl, L.K., Edsail, D.J., Holzhutter, H.G. 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, pp. 483-524.

(5a) Metoda de testare B.40 Coroziune dermică.

(6) OECD (1996) OECD Test Guidelines Programme: Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for A1ternative Toxicological Test Methods. Held in Solna, Sweden, 22-24 January 1996 (http://www.oecd1 .org/ehs/test/background.htm).

(7) OECD (1998) Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, November 1998 (http://www.oecd1.org/ehs/Class/HCL6.htm).

(8) OECD (2000). Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. OECD Environmental Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No. 19 (http://www.oecd1.org/ehs/test/monos.htm).

(9) EPA (1990). Atlas of Dermal Lesions, *(20T-2004)*. United States Environmental Protection Agency, Office of Pesticides and Toxic Substances, Washington, DC, August 1990. [Disponibil la cerere la Secretariatul OCDE].

TABELUL 1: PUNCTAREA REACȚIILOR CUTANATE

Formarea de eriteme și escare

Fără eritem	0
Eritem foarte ușor (abia perceptibil)	1
Eritem bine definit	2
Eritem moderat spre grav	3
Eritem grav (roșu violaceu) cu formare de escare care împiedică punctarea eritemului	4

Maximum posibil: 4

Formarea de edeme

Fără edem	0
Edem foarte ușor (abia perceptibil)	1
Edem ușor (marginile zonei bine definite printr-o umflătură vizibilă)	2
Edem moderat (umflătură de aproximativ 1 mm)	3
Edem grav (umflătură de peste 1 mm extins în afara zonei de expunere)	4

Maximum posibil: 4

Pentru clarificarea reacțiilor echivoce se procedează la un examen histopatologic.

ANEXĂ

O strategie de testare secvențială pentru iritație sau coroziune dermică

CONSIDERENTE GENERALE

În interesul acurateței științifice și al bunăstării animale, este important să se evite utilizarea inutilă a animalelor de experiență și să se reducă la minimum testările care pot produce reacții grave la animale. Este necesar să se evalueze toate informațiile privind o substanță, care sunt relevante pentru potențialul său caracter coroziv/iritant la nivel dermic, înainte de luarea în considerare a testării *in vivo*. Este posibil să existe deja date suficiente pentru clasificarea unei substanțe de testat din punctul de vedere al potențialului său coroziv/iritant la nivel dermic, fără a mai fi necesar să se efectueze teste pe animale de laborator. Prin urmare, prin utilizarea unei analize a valorii probante a datelor și a unei strategii de testare secvențiale, se reduce la minimum necesitatea de a efectua teste *in vivo*, în special dacă substanța are potențialul de a produce reacții grave.

Se recomandă utilizarea unei analize a valorii probante a datelor pentru a evalua informațiile existente privind potențialul iritant și coroziv al substanțelor la nivel dermic și a stabili dacă este necesară efectuarea unor teste suplimentare, altele decât studii dermice *in vivo*, pentru caracterizarea acestui potențial. Dacă sunt necesare studii suplimentare, se recomandă aplicarea strategiei de testare secvențiale pentru obținerea datelor experimentale relevante. Pentru substanțele care nu au fost testate anterior, se recomandă aplicarea strategiei de testare secvențiale pentru obținerea setului de date necesare pentru evaluarea potențialului său coroziv/iritant la nivel dermic. Strategia de testare descrisă în prezenta anexă a fost dezvoltată în cadrul unui atelier de lucru OCDE (1) și a fost ulterior susținută și extinsă în cadrul Sistemului armonizat integrat de clasificare a riscurilor substanțelor chimice pentru sănătatea oamenilor și mediu (Harmonised Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances), adoptată la a 28-a reuniune comună a Comitetului pentru substanțe chimice și a Grupului de lucru pentru substanțe chimice, în noiembrie 1998 (2).

Deși această strategie de testare secvențială nu face parte integrantă din metoda de testare B.4, ea reprezintă abordarea recomandată pentru determinarea caracteristicilor iritante/corozive la nivel dermic. Această abordare reprezintă atât cea mai bună practică, cât și un reper etic pentru testarea *in vivo* pentru iritație/coroziune dermică. Metoda de testare oferă indicații pentru efectuarea testului *in vivo*și rezumă factorii care trebuie evaluați înainte de un astfel de test. Strategia oferă o abordare pentru evaluarea datelor existente privind proprietățile iritante/corozive la nivel dermic ale substanțelor de testat și o abordare graduală pentru generarea datelor relevante pentru substanțele pentru care sunt necesare studii suplimentare sau care nu au făcut încă obiectul unor studii. Strategia recomandă, de asemenea, efectuarea unor teste *in vitro* sau *ex vivo* validate și acceptate pentru coroziune/iritație dermică în condiții specifice.

DESCRIEREA STRATEGIEI DE EVALUARE ȘI TESTARE

Înainte de efectuarea testelor incluse în strategia de testare secvențială (Figură), se evaluează toate informațiile disponibile pentru a stabili dacă este necesară testarea cutanată *in vivo*. Deși se pot obține informații semnificative din evaluarea unor parametrii specifici (de exemplu, o valoare extremă a pH-ului), se iau în considerare toate informațiile existente. Se evaluează toate datele relevante privind efectele substanței în cauză și a analogilor săi pentru adoptarea unei decizii prin analiza valorii probante a datelor și se prezintă motivele care stau la baza deciziei. Se acordă o atenție specială datelor privind efectele substanței asupra oamenilor și animalelor, apoi rezultatelor testelor *in vitro* sau *ex vivo*. Se evită, ori de câte ori este posibil, efectuarea unor studii *in vivo* pentru substanțele corozive. Factorii luați în considerare în strategia de testare includ:

Evaluarea datelor privind efectele asupra oamenilor și animalelor (Etapa I). Se iau în primul rând în considerare datele existente privind efectele asupra oamenilor, de exemplu studii clinice și ocupaționale sau studii de caz, și/sau date obținute în cadrul unor teste asupra animalelor, de exemplu studii privind toxicitatea dermică la o singură expunere sau expuneri repetate, deoarece acestea furnizează informații direct legate de efectele cutanate. Nu este necesar să se efectueze studii *in vivo* asupra substanțelor cu caracter iritant sau coroziv cunoscut și a celor pentru care există date clare că nu sunt corozive sau iritante.

Analiza relațiilor structură activitate (RSA) (Etapa 2). Se iau în considerare rezultatele testelor asupra substanțelor înrudite din punct de vedere structural, dacă sunt disponibile. Dacă sunt disponibile suficiente date privind efectele asupra oamenilor și/sau animalelor ale unor substanțe înrudite structural sau ale unor amestecuri de astfel de substanțe care indică un potențial coroziv/iritant la nivel dermic, se poate presupune că substanța în curs de evaluare va produce aceleași reacții. În astfel de cazuri, este posibil să nu fie necesare teste asupra substanței în cauză. Datele negative obținute de studiile asupra substanțelor înrudite structural sau asupra amestecurilor de astfel de substanțe nu constituie doa se vedea suficiente pentru caracterul necoroziv/neiritant al substanței supuse strategiei de testare secvențiale. Se utilizează abordări RSA validate și acceptate pentru a identifica atât potențialul de coroziune dermică, cât și cel de iritație dermică.

Proprietățile fizico-chimice și reactivitatea chimică (Etapa 3). Substanțele care prezintă valori extreme ale pH-ului, precum < 2,0 și > 11,5 pot produce efecte locale puternice. Dacă valorile extreme ale pH-ului constituie baza pentru identificarea unei substanțe ca fiind corozivă la nivel dermic, atunci se poate lua în considerare și rezerva sa acidă/alcalină (sau capacitatea de tamponare) (3) (4). În cazul în care capacitatea de tamponare sugerează că este posibil ca substanța să nu fie corozivă la nivel dermic, se efectuează teste suplimentare pentru confirmare, de preferat prin utilizarea unui test *in vitro* sau *ex vivo* validat și acceptat (a se vedea etapele 5 și 6).

Toxicitatea dermică (Etapa 4). Dacă o substanță chimică s-a dovedit foarte toxică pe cale dermică, există riscul ca efectuarea unui studiu *in vivo* de iritație/coroziune dermică să nu fie posibilă, întrucât cantitatea de substanță de testat aplicată în mod normal ar putea depăși doza foarte toxică și, prin urmare, ar putea provoca moartea sau suferință profundă animalelor. În plus, dacă au fost deja efectuate teste de toxicitate dermică pe iepuri albinoși, până la un nivel limită al dozei de 2 000 mg/kg greutate corporală sau mai mare, fără să se observe iritații sau coroziuni dermice, nu sunt necesare teste suplimentare pentru iritație/coroziune dermică. La evaluarea toxicității dermice acute determinate în studiile anterioare se iau în considerare o serie de factori. De exemplu, informațiile raportate privind leziunile dermice pot fi incomplete. Este posibil ca testarea și observațiile să se fi făcut pe alte specii decât pe iepurele albinos, iar speciile pot prezenta diferențe semnificative din punctul de vedere al sensibilității reacțiilor lor. De asemenea, este posibil ca forma substanței de testat aplicate pe animale să nu fi fost adecvată pentru evaluarea iritației/coroziunii dermice [de exemplu diluarea substanțelor pentru testarea toxicității dermice (5)]. Cu toate acestea, în cazurile în care au fost efectuate teste concepute și desfășurate corespunzător pe iepuri, concluziile negative pot fi considerate dovezi suficiente că substanța nu este corozivă sau iritantă.

Rezultatele testelor in vitro sau ex vivo (Etapele 5 și 6). Substanțele care au prezentat proprietăți corozive sau puternic iritante într-un test *in vitro* sau *ex vivo* validat și acceptat (6) (7) conceput pentru evaluarea acestor efecte specifice, nu trebuie să fie testate pe animale. Se poate presupune că substanțele în cauză vor produce efecte la fel de puternice *in vivo*.

Testul in vivo pe iepuri (Etapele 7 și 8). În cazul în care, în urma analizei valorii probante a datelor, se ia decizia efectuării unui test *in vivo*, se începe printr-un test inițial pe un singur animal. Dacă rezultatele acestui test arată că substanța este corozivă la nivel dermic, nu se efectuează teste suplimentare. Dacă în cadrul testului inițial nu se observă efecte corozive, efectul iritant sau negativ se confirmă utilizând maximum alte două animale, cu o perioadă de expunere de patru ore. Dacă în cadrul testului inițial se observă un efect iritant, testul de confirmare poate fi efectuat secvențial sau prin expunerea altor două animale simultan.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE:

(1) OECD (1996). Test Guidelines Programme: Final Report on the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Held on Solna, Sweden, 22-24 January 1996 (http://www1.oecd.org/ehs/test/background.htm).

(2) OECD (1998). Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, November 1998 (http://www1.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm).

(3) Worth, A.P., Fentem J.H., Balls M., Botham P.A., Curren R.D., Earl L.K., Esdaile D.J., Liebsch M. (1998). An Evaluation of the Proposed OECD Testing Strategy for Skin Corrosion. AT1A 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) pp. 19-26.

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

(6) Metoda de testare 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, pp. 483-524.

FIGURĂ

STRATEGIE DE TESTARE ŞI EVA1UARE A IRITAȚIEI/COROZIUNII DERMICE

	Activitate	Observații	Concluzie
1	Date existente privind efectele asupra oamenilor/animalelor care indică efecte asupra pielii și membranelor mucoaselor	Corozivă	Punct final apical; substanță considerată corozivă. Nu sunt necesare teste.
		Iritantă	Punct final apical; substanță considerată iritantă. Nu sunt necesare teste.
		Necorozivă/neiritantă	Punct final apical; substanță considerată necorozivă și neiritantă. Nu sunt necesare teste.
	↓ *Nu sunt disponibile informații sau informațiile disponibile nu sunt concludente* ↓		
2	Se face evaluarea RSA pentru coroziune/iritație dermică	Se prevăd leziuni grave ale pielii	Substanță considerată corozivă. Nu sunt necesare teste.
		Se prevede iritația pielii	Substanță considerată iritantă. Nu sunt necesare teste.
	↓ *Nu se pot face previziuni sau previziunile sunt neconcludente sau negative* ↓		
3	Se măsoară pH-ul (se ia în considerare capacitatea de tamponare, dacă este relevantă)	pH ≤ 2 sau ≥ 11,5 (cu capacitate de tamponare ridicată, dacă este relevantă)	Se presupune un potențial coroziv. Nu sunt necesare teste.
	↓ *2 < pH < 11,5 sau pH ≤ 2,0 sau ≥ 11,5 cu o capacitate de tamponare redusă, dacă este relevantă* ↓		
4	Se evaluează datele privind toxicitatea sistemică pe cale dermică	Foarte toxic	Nu sunt necesare teste suplimentare.
		Substanță necorozivă și neiritantă la testarea la o doză limită de 2000 mg/kg greutate corporală sau mai mare, pe iepuri	Se presupune că substanța este necorozivă și neiritantă. Nu sunt necesare teste suplimentare.
	↓ *Nu sunt disponibile astfel de informații sau informațiile disponibile sunt neconcludente* ↓		
5	Se efectuează un test *in vitro* sau *ex vivo* pentru coroziune dermică validat și acceptat	Reacție corozivă	Se presupune coroziune *in vivo*. Nu sunt necesare teste suplimentare.
	↓ *Substanța este necorozivă* ↓		
6	Se efectuează un test *in vitro* sau *ex vivo* pentru iritație dermică validat și acceptat	Reacție iritantă	Se presupune iritație *in vivo*. Nu sunt necesare teste suplimentare.
	↓		

(1) se poate lua în considerare înaintea etapelor 2 și 3.

Nu sunt încă disponibile metode validate de testare in vitro sau ex vivo pentru iritație dermică sau substanța nu este iritantă

↓

7	Se efectuează testul inițial *in vivo* pe un animal	Leziuni cutanate grave	Substanță considerată corozivă. Nu sunt necesare teste suplimentare.
	↓ *Fără leziuni grave* ↓		
8	Se efectuează testul de confirmare cu unul sau două animale suplimentare	Substanță corozivă sau iritantă	Substanță considerată corozivă sau iritantă. Nu sunt necesare teste suplimentare.
		Substanță necorozivă și neiritantă	Substanță considerată necorozivă și neiritantă. Nu sunt necesare teste suplimentare.

ANEXA 2E

B.5. TOXICITATE ACUTĂ: IRITAȚIE/COROZIUNE OCULARĂ

1. **METODĂ**

Această metodă este echivalentă cu testul OCDE TG 405 (2002).

1.1. INTRODUCERE

la elaborarea acestei metode actualizate s-a acordat o atenție deosebită posibilelor îmbunătățiri prin evaluarea tuturor informațiilor existente privind substanța de testat, astfel încât să se evite testarea inutilă pe animale de laborator și, prin urmare, pentru soluționarea problemelor de bunăstare animală. Această metodă include recomandarea ca, înainte de a se efectua testul *in vivo* descris pentru coroziune/iritație oculară acută, să se facă o analiză a valorii probante a datelor relevante (1). Dacă datele disponibile sunt insuficiente, se recomandă dezvoltarea acestora prin aplicarea unor teste secvențiale (2) (3). Strategia de testare include efectuarea unor teste *in vitro* validate și acceptate și este prezentată ca anexă la această metodă de testare. În plus, se recomandă utilizarea unui test *in vivo* de iritație/coroziune dermică pentru a face o estimare a coroziunii oculare, înainte de a se lua în considerare efectuarea unui test ocular *in vivo*.

În interesul acurateței științifice și al bunăstării animale, testele *in vivo* se efectuează doar după o analiză a valorii probante a tuturor datelor disponibile relevante pentru potențialul de coroziune/iritație oculară al substanței. Printre aceste date se numără dovezi din studiile deja efectuate asupra oamenilor și/sau animalelor de laborator, dovezi privind caracterul coroziv/iritant al uneia sau mai multor substanțe chimice înrudite structural sau al unor amestecuri de astfel de substanțe, date demonstrând o puternică aciditate sau alcalinitate a substanței (4) (5) și rezultatele unor teste *in vitro* sau *ex vitro* de coroziune și iritație dermică validate și acceptate (6) (6a). Este posibil ca aceste studii să fi fost efectuate înainte de sau ca urmare a analizei valorii probante a datelor.

Pentru anumite substanțe, o astfel de analiză poate indica necesitatea efectuării unor studii *in vivo* privind potențialul de coroziune/iritație oculară al substanței. În toate aceste cazuri, înainte de a lua în considerare efectuarea testului ocular *in vivo*, este de preferat să se efectueze un studiu asupra efectelor cutanate *in vivo* ale substanței și o evaluare în conformitate cu metoda de testare B.4 (7). Efectuarea unei analize a valorii probante a datelor și aplicarea strategiei de testare secvențiale ar trebui să reducă necesitatea efectuării unor teste *in vivo* de coroziune/iritație oculară asupra substanțelor pentru care există deja date suficiente obținute în cadrul altor studii. Dacă potențialul de coroziune și iritație oculară nu se poate determina prin aplicarea strategiei de testare secvențială, chiar după efectuarea unui studiu *in vivo* de coroziune și iritație dermică, se poate trece la efectuarea unui test *in vivo* de coroziune/iritație oculară.

Anexa la prezenta metodă prezintă o strategie de testare secvențială preferată, care include efectuarea unor teste *in vitro* sau *ex vivo* de coroziune/iritație. Strategia a fost dezvoltată și unanim recomandată de participanții la un atelier de lucru OCDE (8), iar ulterior a fost adoptată ca strategia de testare recomandată în Sistemul global armonizat de clasificare a substanțelor chimice (SGA) (9). Se recomandă aplicarea acestei strategii de testare înainte de efectuarea testelor *in vivo*. Pentru substanțe noi, este abordarea recomandată pentru testarea secvențială în vederea dezvoltării unor date științifice fiabile privind caracterul coroziv/iritant al substanței. În cazul substanțelor existente pentru care există date insuficiente privind coroziunea/iritația dermică și oculară, strategia se utilizează pentru obținerea unor date complete. Utilizarea unei strategii sau proceduri diferite de testare sau decizia de a nu aplica o abordare de testare secvențială trebuie motivată.

1.2. DEFINIȚII

Iritație oculară: reprezintă producerea unor modificări oculare ca urmare a aplicării unei substanțe de testat pe suprafața anterioară ochiului, care sunt complet reversibile în termen de 21 de zile de la aplicare.

Coroziune oculară: reprezintă producerea unor leziuni tisulare la nivelul ochiului sau a unei deteriorări grave a vederii, ca urmare a aplicării unei substanțe de testat pe suprafața anterioară a ochiului, care nu sunt complet reversibile în termen de 21 de zile de la aplicare.

1.3. PRINCIPIUL METODEI DE TESTARE

Substanța de testat se aplică, într-o singură doză, pe un ochi al animalului de experiență, celălalt ochi fiind utilizat ca martor. Nivelul de iritație/coroziune oculară se evaluează prin acordarea unui punctaj leziunilor care afectează conjunctiva, corneea și irisul, la intervale prestabilite. Se descriu, de asemenea, celelalte efecte asupra ochiului sau efecte sistemice adverse, pentru a asigura o evaluare completă a efectelor. Durata studiului trebuie să fie suficientă pentru a evalua reversibilitatea sau ireversibilitatea efectelor.

Animalele care manifestă semne persistente de suferință și/sau dureri profunde în orice etapă a testului sunt eutanasiate, iar substanța se evaluează în consecință. Criteriile pentru luarea deciziei de eutanasiere a animalelor muribunde sau suferinde sunt prezentate în referința (10).

1.4. DESCRIEREA METODEI DE TESTARE

1.4.1. **Pregătirea pentru testul *in vivo***

1.4.1.1. *Selectarea speciei*

Se utilizează, de preferat, exemplare adulte tinere, sănătoase, de iepure albinos. Utilizarea altor sușe sau specii trebuie justificată.

1.4.1.2. *Pregătirea animalelor*

Cu 24 de ore înainte de începerea testului se examinează ambii ochi ai animalului de experiență selectat provizoriu. Nu se utilizează animalele care prezintă iritații sau defecte oculare sau leziuni corneene preexistente.

1.4.1.3. *Condiții de adăpostire și alimentație*

Animalele se adăpostesc individual. În spațiul pentru adăpostirea animalelor de experiență, se asigură o temperatură de 20 °C (± 3 °C) pentru iepuri. Se asigură o umiditate relativă de 50-60 %, cu o valoare minimă de 30 % și o valoare maximă 70 %, cu excepția momentelor în care se curăță spațiul. Spațiul se iluminează artificial, cu o alternanță de 12 ore lumină, 12 ore întuneric. Pentru alimentație, se pot utiliza diete convenționale de laborator, cu furnizarea unei cantități nelimitate de apă potabilă.

1.4.2. **Procedura de testare**

1.4.2.1. *Aplicarea substanței de testat*

Substanța de testat se aplică în sacul conjunctival al unui ochi al fiecărui animal, după îndepărtarea delicată a pleoapei inferioare de pe globul ocular. Pleoapele se țin apoi lipite pentru circa o secundă, pentru a preveni pierderea materialului. Celălalt ochi, care nu se tratează, se utilizează ca martor.

1.4.2.2. *Irigația*

Ochii animalelor testate nu se spală timp de cel puțin 24 de ore de la instilația substanței de testat, cu excepția cazului în care substanța este solidă (a se vedea secțiunea 1.4.2.3.2) și a cazului în care apar efecte corozive sau iritante imediate. După 24 de ore, se procedează la o spălare, dacă se consideră necesar.

Nu se recomandă utilizarea unui grup satelit de animale pentru a analiza influența spălării, cu excepția cazului în care este justificată științific. Dacă este necesar un grup satelit, se folosesc doi iepuri. Se descriu detaliat condițiile de spălare, precizând momentul spălării; compoziția și temperatura soluției utilizate; durata, volumul și viteza de aplicare.

1.4.2.3. *Nivelul dozei*

1.4.2.3.1. Testarea lichidelor

Pentru testarea lichidelor se utilizează o doză de 0,1 ml. Nu se utilizează pulverizatoare cu pompă pentru instilarea substanței direct în ochi. Se recomandă extragerea lichidului și colectarea sa într-un container înainte de instilarea a 0,1 ml în ochi.

1.4.2.3.2. *Testarea solidelor*

la testarea solidelor, pastelor și a substanțelor sub formă de particule, cantitatea utilizată are un volum de 0,1 ml sau o greutate de cel mult 100 mg. Materialul de testat se macină într-un praf fin. Volumul materialului solid se măsoară după o compactare delicată, de exemplu bătând ușor cu palma recipientul de măsură. Dacă substanța solidă de testat nu a fost îndepărtată din ochiul animalului de experiență prin mecanisme fiziologice în primul moment prestabilit de observare, adică la 1 oră după tratament, ochiul poate fi spălat cu o soluție salină sau cu apă distilată.

1.4.2.3.3. *Testarea aerosolilor*

Se recomandă colectarea conținutului tuturor pulverizatoarelor cu pompă și aerosolilor înainte de instilarea în ochi. Singura excepție o constituie substanțele în containere sub presiune pentru aerosoli, care nu pot fi colectate din cauza vaporizării. În acest caz, ochiul se ține deschis, iar substanța de testat se administrează în ochi cu un singur jet de circa o secundă, de la o distanță 10 cm perpendicular pe ochi. Distanța poate varia în funcție de presiunea pulverizatorului și a conținutului său. Se evită lezarea ochiului din cauza presiunii pulverizatorului. În unele cazuri, se poate dovedi necesar să se evalueze posibilitatea provocării unor leziuni „mecanice” ochiului prin forța pulverizatorului.

Se poate face o estimare a dozei dintr-un aerosol simulând testul astfel: substanța se pulverizează pe o bucată de hârtie de cântărit, printr-o deschidere de dimensiunea ochiului unui iepure amplasată direct în fața hârtiei. Cantitatea pulverizată în ochi se estimează pe baza creșterii greutății hârtiei. Pentru substanțele volatile, doza poate fi estimată prin cântărirea unui recipient în care este pulverizată substanța, înainte și după îndepărtarea materialului de testat.

1.4.2.4. *Testul inițial (Test in vivo de iritație/coroziune oculară pe un animal)*

Așa cum se precizează în strategia de testare secvențială (a se vedea anexa 1), se recomandă ca testul *in vivo* să se efectueze pentru început pe un singur animal.

Dacă rezultatul acestui test, obținut conform procedurii descrise, arată că substanța este corozivă sau foarte iritantă la nivel ocular, nu se efectuează teste suplimentare de iritație oculară.

1.4.2.5. *Anestezice locale*

Se pot utiliza anestezice locale de la caz la caz. Dacă analiza valorii probante a datelor arată că este posibil ca substanța să provoace durere sau dacă testul inițial arată că va avea loc o reacție dureroasă, se poate aplica un anestezic local înainte de instilarea substanței de testat. Se alege cu atenție tipul, concentrația și doza de anestezic local pentru a se asigura că utilizarea anesteziculului nu determină reacții diferite la substanța de testat. Se anesteziază în mod similar și ochiul martor.

1.4.2.6. *Testul de confirmare (Test in vivo de iritație oculară pe alte animale)*

Dacă la testul inițial nu se observă un efect coroziv, reacția iritantă sau negativă se confirmă utilizând maximum alte două animale. Dacă la testul inițial se observă un efect puternic iritant care indică posibilitatea provocării unui efect puternic (ireversibil) în cadrul testului de confirmare, se recomandă ca testul de confirmare să se efectueze secvențial, pe câte un animal, și nu prin expunerea simultană a ambelor animale. Dacă la al doilea animal apar efecte corozive sau puternic iritante, testul se întrerupe. Este posibil să fie necesară testarea altor animale pentru confirmarea unor reacții iritante slabe sau moderate.

1.4.2.7. *Perioada de observație*

Durata perioadei de observație trebuie să fie suficientă pentru evaluarea completă a amplorii și reversibilității efectelor observate. Cu toate acestea, experimentul se încheie în momentul în care animalul manifestă semne persistente de suferință sau dureri profunde (9). Pentru a determina reversibilitatea efectelor, animalele sunt puse observație timp de 21 de zile după administrarea substanței de testat. Dacă reversibilitatea intervine înainte de expirarea celor 21 de zile, experimentul se încheie în acel moment.

1.4.2.7.1. *Observații clinice și punctarea reacțiilor oculare*

Ochii se examinează la 1, 24, 48 și 72 de ore de la aplicarea substanței de testat. Animalele nu sunt menținute în experiment mai mult decât este necesar pentru obținerea unor informații concludente. Animalele care prezintă semne persistente de durere sau suferință profunde sunt eutanasiate imediat, iar substanța se evaluează în consecință. Animalele care după instilare prezintă următoarele leziuni oculare sunt eutanasiate: perforare corneană sau ulcerare corneană semnificativă, inclusiv stafilom; sânge în camera anterioară a ochiului; opacitate corneană de gradul 4 care persistă timp de 48 de ore; absența reflexului fotomotor (reacție a irisului de gradul 2) care persistă timp de 72 de ore; ulcerare a membranei conjunctivale; necroză a conjunctivelor și a membranei nictitante sau desprinderea țesutului necrozat. Eutanasierea se justifică întrucât astfel de leziuni sunt, în general, ireversibile.

Animalele care nu prezintă leziuni oculare pot fi eutanasiate după cel puțin 3 zile de la instilare.

Animalele care prezintă leziuni ușoare și moderate sunt supuse observației până la dispariția leziunilor sau timp de 21 de zile, moment în care studiul se încheie. Animalele sunt examinate la 7, 14 și 21 de zile, pentru a determina starea, reversibilitatea sau ireversibilitatea leziunilor.

Nivelul reacției oculare (conjunctive, cornee și iris) se înregistrează la fiecare examinare (tabelul I). Se înregistrează, de asemenea, orice altă leziune oculară (de exemplu panus, colorare) și orice efecte sistemice adverse.

Pentru a facilita examinarea reacțiilor, se pot utiliza o lupă binoculară, o lampă portabilă cu fantă, un biomicroscop sau un alt dispozitiv adecvat. După înregistrarea observațiilor la 24 de ore, examinarea ochilor se poate face cu ajutorul fluoresceinei.

Punctarea reacțiilor oculare este evident subiectivă. Pentru a promova armonizarea punctării reacțiilor oculare și pentru a veni în sprijinul laboratoarele de testare și a persoanelor implicate în efectuarea și interpretarea observațiilor, personalul care efectuează observațiile trebuie să fie instruit corespunzător cu privire la sistemul de punctaj utilizat.

2. **DATE**

2.1. EVALUAREA REZULTATELOR

Punctajele iritației oculare se evaluează în legătură cu natura și gravitatea leziunilor, precum și cu reversibilitatea sau ireversibilitatea acestora. Punctajele individuale nu reprezintă un standard absolut pentru proprietățile iritante ale unui material de testat, întrucât se evaluează și alte efecte ale materialului. În schimb, punctajele individuale trebuie privite ca valori de referință și nu sunt semnificative decât dacă sunt însoțite de o descriere și o evaluare completă a tuturor observațiilor.

3. **RAPORTARE**

3.1. RAPORTUL TESTULUI

Raportul testului include următoarele informații:

motivația pentru testarea *in vivo*: analiza valorii probante a datelor existente din teste anterioare, inclusiv a rezultatelor strategiei de testare secvențiale:

— descrierea datelor relevante disponibile din testele anterioare;

— date derivate din fiecare etapă a strategiei de testare;

— descrierea testelor *in vitro* efectuate, inclusiv detalii privind procedurile, rezultatele obținute cu substanțele de testat/de referință;

— descrierea studiului *in vivo* de iritație/coroziune dermică efectuat, inclusiv rezultatele obținute;

— analiza valorii probante a datelor pentru efectuarea studiului *in vivo*.

Substanța de testat:

— date de identificare (de exemplu numărul CAS, sursă, puritate, impurități cunoscute, numărul lotului);

— natura fizică și proprietățile fizico-chimice (de exemplu, pH, volatilitate, solubilitate, stabilitate, reactivitatea cu apă);

— în cazul unui amestec, compoziția și procentajele relative ale componentelor;

— dacă se utilizează anestezic local, identificare, puritate, doză și potențial de interacțiune cu substanța de testat.

Vehicul:

— identificare, concentrație (dacă este cazul), volumul utilizat;

— justificarea alegerii vehiculului.

Animale de experiență:

— specie/sușă utilizată, motivație pentru utilizarea altor animale decât iepurele albinos;

— vârsta fiecărui animal la începutul studiului;

— numărul de animale de fiecare sex participante la test și în grupurile de control (dacă este cazul);

— greutatea fiecărui animal la începutul și la sfârșitul testului;

— sursă, condiții de adăpostire, hrană etc.

Rezultate:

— descrierea metodei utilizate pentru punctarea iritației în fiecare moment de observație (de exemplu lampă portabilă cu fantă, biomicroscop, fluoresceină);

— un tabel cu datele privind reacțiile iritante/corozive la fiecare animal în fiecare moment de observare, până la excluderea din test a fiecărui animal;

— o descriere narativă a gravității și naturii iritației sau coroziunii observate;

— o descriere a oricăror alte leziuni observate la nivel ocular (de exemplu vascularizare, formarea unui panus, aderențe, colorare);

— descrierea efectelor adverse locale non-oculare și sistemice și a concluziilor examenului histopatologic, dacă sunt disponibile.

Discutarea rezultatelor.

3.2. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Extrapolarea rezultatelor studiilor de iritație oculară asupra animalelor la oameni este valabilă doar într-o măsură restrânsă. În multe cazuri, iepurele albinos este mai sensibil decât oamenii la substanțe cu proprietăți iritante sau corozive la nivel ocular.

La interpretarea datelor se acordă o atenție specială excluderii iritației generate de infecții secundare.

4. **REFERINȚE BIBLIOGRAFICE:**

(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, pp. 483-524.

(6a) Metoda de testare B.40. Coroziune dermică.

(7) Metoda de testare B.4. Toxicitate acută: iritație/coroziune dermică.

(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. Held in Solna, Sweden, 22-24 January 1996 (http://www.oecd.org/ehs/test/background.htm).

(9) OECD (1998) Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, November 1998 (http://www.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm).

(10) OECD (2000) Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. OECD Environmental Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No. 19 (http://www.oecd.org/ehs/test/monos.htm).

TABELUL 1: PUNCTAREA LEZIUNILOR OCULARE

Cornee

Opacitate: nivel de densitate (examinarea se face în zona cea mai densă) (*)

Fără ulcerare sau opacitate	0
Zone dispersate sau difuze de opacitate (altele decât o ușoară atenuare a strălucirii normale); detaliile irisului clar vizibile	1
Zonă translucidă ușor perceptibilă; detaliile irisului ușor mascate	2
Zonă sidefată: detaliile irisului invizibile; dimensiunea pupilei greu perceptibilă	3
Cornee opacă; iris invizibil din cauza opacității	4

Maximum posibil: 4

(*) Se notează suprafața cu opacitate corneană

Iris

Normal	0
Pliuri vizibil mai adânci, congestie, tumefiere, hiperemie pericorneană moderată sau conjunctivă injectată; iris reactiv la lumină (o reacție lentă este considerată a fi un efect)	1
Hemoragie, distrugere marcată sau absența reacției la lumină	2

Maximum posibil: 2

Conjunctive

Roșeață (se aplică conjunctivelor palpebrală și oculară, exclusiv corneei și irisului)

Normal	0
Hiperhemie evidentă a anumitor vase sanguine (ochi injectați)	1
Colorație purpurie difuză; vasele individuale greu perceptibile	2
Colorație roșie susținută difuză	3

Maximum posibil: 3

Chemosis

Tumefiere (se referă la pleoape și/sau la membranele nictitante)

Normal	0
Tumefiere superioară stării normale	1
Tumefiere evidentă, cu eversiunea parțială a pleoapelor	2
Tumefiere cu pleoapele aproape pe jumătate închise	3
Tumefiere cu pleoape mai mult decât jumătate închise	4

Maximum posibil: 4

ANEXĂ

O strategie de testare secvențială pentru iritația și coroziunea oculară

CONSIDERENTE GENERALE

În interesul acurateței științifice și al bunăstării animale, este important să se evite utilizarea inutilă a animalelor de experiență și să se reducă la minimum testările care pot produce reacții grave la animale. Este necesar să se evalueze toate informațiile privind o substanță care sunt relevante pentru potențialul său caracter coroziv/iritant la nivel ocular înainte de luarea în considerare a testării *in vivo*. Este posibil să existe deja date suficiente pentru clasificarea unei substanțe de testat din punctul de vedere al potențialului său coroziv/iritant la nivel ocular, fără a mai fi necesar să se efectueze teste pe animale de laborator. Prin urmare, prin utilizarea unei analize a valorii probante a datelor și a unei strategii de testare secvențiale, se reduce la minimum necesitatea de a efectua teste *in vivo*, în special dacă substanța are potențialul de a produce reacții grave.

Se recomandă utilizarea unei analize a valorii probante a datelor pentru a evalua informațiile existente privind potențialul iritant și coroziv al substanțelor la nivel ocular și a stabili dacă este necesară efectuarea unor studii suplimentare, altele decât studii oculare *in vivo*, pentru caracterizarea acestui potențial. Dacă sunt necesare studii suplimentare, se recomandă aplicarea strategiei de testare secvențiale pentru obținerea datelor experimentale relevante. Pentru substanțele care nu au fost testate anterior, se recomandă aplicarea strategiei de testare secvențiale pentru obținerea datelor necesare pentru evaluarea potențialului său coroziv/iritant la nivel ocular. Strategia de testare descrisă în prezenta anexă a fost dezvoltată în cadrul unui atelier de lucru OCDE (1). Ulterior, ea a fost susținută și extinsă în cadrul Sistemului armonizat integrat de clasificare a riscurilor substanțelor chimice pentru sănătatea oamenilor și mediu (Harmonised Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances), adoptat la a 28-a reuniune comună a Comitetului pentru substanțe chimice și a Grupului de lucru pentru substanțe chimice, în noiembrie 1998 (2).

Deși această strategie de testare nu face parte integrantă din metoda de testare B.5, ea reprezintă abordarea recomandată pentru determinarea caracteristicilor iritante/corozive la nivel ocular. Această abordare reprezintă atât cea mai bună practică, cât și un reper etic pentru testarea *in vivo* pentru iritație/coroziune oculară. Metoda de testare oferă indicații pentru efectuarea testului *in vivo*și rezumă factorii care trebuie evaluați înainte de un astfel de test. Strategia de testare secvențială oferă o abordare bazată pe analiza valorii probante a datelor pentru evaluarea datelor existente privind proprietățile iritante/corozive la nivel ocular ale substanțelor și o abordare graduală pentru generarea datelor relevante pentru substanțele pentru care sunt necesare studii suplimentare sau care nu au făcut încă obiectul unor studii. Strategia include, într-o primă etapă, efectuarea unor teste *in vitro* sau *ex vivo* validate și acceptate, iar apoi aplicarea metodei de testare B.4 pentru coroziune/iritație dermică în condiții specifice (3)(4).

DESCRIEREA STRATEGIEI DE TESTARE SECVENȚIALE

Înainte de efectuarea testelor incluse în strategia de testare secvențială (Figura), se evaluează toate informațiile disponibile pentru a stabili dacă este necesară testarea oculară *in vivo*. Deși se pot obține informații semnificative din evaluarea unor parametrii specifici (de exemplu, o valoare extremă a pH-ului), se iau în considerare toate informațiile existente. Se evaluează toate datele relevante privind efectele substanței în cauză și a analogilor săi pentru adoptarea unei decizii prin analiza valorii probante a datelor și se prezintă motivele care stau la baza deciziei. Se acordă o atenție specială datelor privind efectele substanței asupra oamenilor și animalelor, apoi rezultatelor testelor *in vitro* sau *ex vivo*. Se evită, ori de câte ori este posibil, efectuarea unor studii *in vivo* pentru substanțele corozive. Factorii luați în considerare în strategia de testare includ:

Evaluarea datelor privind efectele asupra oamenilor și animalelor (Etapa I). Se iau în primul rând în considerare datele existente privind efectele asupra oamenilor, de exemplu studii clinice și ocupaționale sau studii de caz, și/sau date obținute în cadrul unor studii oculare asupra animalelor, deoarece acestea furnizează informații direct legate de efectele asupra ochilor. Apoi, se evaluează datele disponibile din studii de coroziune/iritație dermică asupra oamenilor și/sau animalelor. Nu se instilează în ochii animalelor substanțele având un caracter coroziv sau un potențial iritant sever cunoscut la nivel ocular sau substanțele care prezintă efecte corozive sau iritante la nivel dermic; acestea din urmă sunt considerate a fi corozive și/sau iritante și la nivel ocular. Nu este necesar să se efectueze studii *in vivo* nici asupra substanțelor pentru care există date suficiente, obținute din studii oculare anterioare, că nu sunt corozive sau iritante.

Analiza relațiilor structură activitate (RSA) (Etapa 2). Se iau în considerare rezultatele testelor asupra substanțelor înrudite din punct de vedere structural, dacă sunt disponibile. Dacă sunt disponibile suficiente date privind efectele asupra oamenilor și/sau animalelor ale unor substanțe înrudite structural sau ale unor amestecuri de astfel de substanțe care indică un potențial coroziv/iritant la nivel ocular, se poate presupune că substanța în curs de evaluare va produce aceleași reacții. În astfel de cazuri, este posibil să nu fie necesare teste asupra substanței în cauză. Datele negative obținute de studiile asupra substanțelor înrudite structural sau asupra amestecurilor de astfel de substanțe nu constituie dovezi suficiente pentru caracterul necoroziv/neiritant al substanței supuse strategiei de testare secvențiale. Se utilizează abordări RSA validate și acceptate pentru a identifica potențialul coroziv și iritant atât la nivel dermic, cât și ocular.

Proprietățile fizico-chimice și reactivitatea chimică (Etapa 3). Substanțele care prezintă valori extreme ale pH-ului, < 2,0 sau > 11,5 pot produce efecte locale puternice. Dacă valorile extreme ale pH-ului constituie baza pentru identificarea unei substanțe ca fiind corozivă sau iritantă la nivel ocular, atunci se poate lua în considerare și rezerva sa acidă/alcalină (sau capacitatea de tamponare) (5) (6). În cazul în care capacitatea de tamponare sugerează că este posibil ca substanța să nu fie corozivă la nivel ocular, se efectuează teste suplimentare pentru confirmare, de preferat prin utilizarea unui test *in vitro* sau *ex vivo* validat și acceptat (a se vedea etapele 5 și 6 din această secțiune).

Analiza altor informații existente (Etapa 4). În această etapă se evaluează toate informațiile disponibile privind toxicitatea sistemică prin absorbție cutanată. Se ia, de asemenea, în considerare toxicitatea dermică acută a substanței. Dacă substanța de testat s-a dovedit foarte toxică prin absorbție cutanată, este posibil să nu fie necesare teste oculare. Deși nu există obligatoriu o relație între toxicitate dermică acută și iritația/coroziunea oculară, se poate presupune că un agent foarte toxic prin absorbție cutanată va prezenta o toxicitate ridicată la instilarea în ochi. Astfel de date pot fi analizate, de asemenea, între etapele 2 și 3.

Rezultatele testelor in vitro sau ex vivo (Etapele 5 și 6). Substanțele care au prezentat proprietăți corozive sau puternic iritante într-un test *in vitro* sau *ex vivo* (7) (8) validat și acceptat pentru evaluarea specifică a coroziunii/iritației la nivel dermic sau ocular, nu trebuie să fie testate pe animale. Se poate presupune că substanțele în cauză vor produce efecte similare grave *in vivo*. Dacă nu sunt disponibile teste *in vitro*/*ex vivo* validate și acceptate, se trece peste etapele 5 și 6 și se continuă direct cu etapa 7.

Evaluarea caracterului iritant sau coroziv la nivel dermic al substanței in vivo (Etapa 7). În cazul în care nu există informații suficiente pentru analiza valorii probante a datelor privind potențialul iritant/coroziv la nivel ocular al unei substanțe pe baza studiilor enumerate anterior, se evaluează mai întâi potențialul iritant/coroziv la nivel dermic, utilizând metoda de testare B.4 (4) și anexa sa (9). Dacă se observă că substanța produce coroziune sau iritație puternică la nivel dermic, ea este considerată a fi, de asemenea, corozivă sau iritantă la nivel ocular, cu excepția cazului în care informațiile disponibile conduc la o concluzie diferită. Astfel, nu este necesar să se efectueze un test ocular *in vivo*. Dacă substanța nu este corozivă sau puternic iritantă la nivel dermic, se efectuează un test ocular *in vivo*.

Testul in vivo pe iepuri (Etapele 8 și 9). Testul ocular *in vivo* începe cu un test inițial efectuat pe un singur animal. Dacă rezultatele acestui test indică că substanța este puternic iritantă sau corozivă la nivel ocular, nu se efectuează teste suplimentare. Dacă testul nu relevă efecte corozive sau puternic iritante, se efectuează un test de confirmare pe alte două animale.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE:

(1) OECD (1996) OECD Test Guidelines Programme: Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for A1ternative Toxicological Test Methods. Held in Solna, Sweden, 22–24 January 1996 (http://www.oecd.org/ehs/test/background.htm).

(2) OECD (1998) Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, November 1998 (http://www.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm).

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

(4) Metoda de testare B.4. Toxicitate acută: iritație/coroziune dermică.

(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, pp. 483-524.

(8) Metoda de testare B.40 Coroziune dermică.

(9) Anexa la metoda de testare B.4: O strategie de testare secvențială pentru iritație și coroziune dermică.

FIGURĂ

STRATEGIE DE TESTARE ȘI EVALUARE A IRITAȚIEI/COROZIUNII OCULARE

	Activitate	Observații	Concluzie
1	Date existente privind efectele asupra oamenilor/animalelor care indică efecte la nivel ocular	Leziuni oculare grave	Efect observat apical; substanță considerată corozivă la nivel ocular. Nu sunt necesare teste.
		Iritantă la nivel ocular	Efect observat apical; substanță considerată iritantă la nivel ocular. Nu sunt necesare teste.
		Necorozivă și neiritantă la nivel ocular	Efect observat apical; substanță considerată necorozivă și neiritantă la nivel ocular. Nu sunt necesare teste.
	Date existente privind efectele asupra oamenilor/animalelor care indică efecte corozive la nivel dermic	Corozivă la nivel dermic	Coroziune oculară prezumată. Nu sunt necesare teste.
	Date existente privind efectele asupra oamenilor/animalelor care indică efecte puternic iritante la nivel dermic	Puternic iritantă la nivel dermic	Iritație oculară prezumată. Nu sunt necesare teste.
	↓		
	Nu sunt disponibile informații sau informațiile disponibile sunt neconcludente		
	↓		
2	Se efectuează analiza RSA pentru coroziune/iritație oculară	Se prevăd leziuni oculare grave	Coroziune oculară prezumată. Nu sunt necesare teste.
		Se prevede iritație oculară	Iritație oculară prezumată. Nu sunt necesare teste.
	Se efectuează analiza RSA pentru coroziune dermică	Se prevede coroziune dermică	Coroziune oculară prezumată. Nu sunt necesare teste.
	↓		
	Nu se pot face prezumții sau prezumțiile sunt neconcludente sau negative		
	↓		
3	Se măsoară pH-ul (capacitatea de tamponare, dacă este relevantă)	pH ≤ 2 sau ≥ 11,5 (cu capacitate de tamponare ridicată, dacă este relevantă)	Coroziune oculară prezumată. Nu sunt necesare teste.
	↓		
	2 < pH < 11,5 sau pH ≤ 2,0 sau ≥ 11,5 cu o capacitate de tamponare redusă, dacă este relevantă		
	↓		
4	Se evaluează toxicitatea sistemică prin absorbție cutanată	Foarte toxică la concentrațiile care ar fi utilizate în testarea oculară	Substanța ar fi prea toxică pentru testare. Nu sunt necesare teste.
	↓		
	Nu sunt disponibile astfel de informații sau substanța nu este foarte toxică		
	↓		
5	Se efectuează un test *in vitro* sau *ex vivo* de coroziune oculară	Reacție corozivă	Coroziune oculară prezumată. Nu sunt necesare teste suplimentare.
	↓		

Substanța nu este corozivă sau nu sunt încă disponibile metode de testare in vitro sau ex vivo validate pentru coroziune oculară

↓

6	Se efectuează un test *in vitro* sau *ex vivo* validat și acceptat pentru iritație oculară	Reacție iritantă	Iritație oculară prezumată. Nu sunt necesare teste suplimentare.

↓

Substanța nu este iritantă sau nu sunt încă disponibile metode de testare in vitro sau ex vivo validate pentru iritație oculară

↓

7	Se evaluează experimental potențialul de iritație/coroziune dermică *in vivo* (a se vedea Metoda de testare B.4, inclusiv anexa)	Reacție corozivă sau puternic iritantă	Coroziune oculară prezumată. Nu sunt necesare teste suplimentare.

↓

Substanța nu este corozivă sau puternic iritantă la nivel dermic

↓

8	Se efectuează testul ocular inițial *in vivo* pe iepuri, utilizând un animal	Leziuni oculare grave	Substanță considerată corozivă la nivel ocular. Nu sunt necesare teste suplimentare.

↓

Nu apar leziuni grave sau nu există o reacție

↓

9	Se efectuează testul de confirmare cu unul sau două animale suplimentare	Corozivă sau iritantă	Substanță considerată corozivă sau iritantă la nivel ocular. Nu sunt necesare teste suplimentare.
		Necorozivă sau neiritantă	Substanță considerată necorozivă și neiritantă la nivel ocular. Nu sunt necesare teste suplimentare.

ANEXA 2F

B.31. STUDIU DE TOXICITATE ASUPRA DEZVOLTĂRII INTRAUTERINE

1. METODĂ

Această metodă corespunde testului OCDE TG 414 (2001).

1.1. INTRODUCERE

Această metodă de testare a toxicității asupra dezvoltării intrauterine este concepută pentru a furniza informații generale privind efectele expunerii prenatale asupra animalelor de experiență gestante și asupra dezvoltării intrauterine a organismului; printre acestea se pot număra evaluarea efectelor asupra mamei, precum și moartea, anomalii structurale sau modificările de creștere la fetus. Deficiențele funcționale, deși constituie o parte importantă a dezvoltării, nu sunt incluse în această metodă de testare. Ele pot face obiectul unui studiu separat sau al unei completări a acestui studiu, utilizând metoda privind neurotoxicitatea asupra dezvoltării. Pentru informații privind testarea deficiențelor funcționale și alte efecte postnatale se consultă Metoda de testare a toxicității asupra funcției de reproducere la două generații și studiul privind neurotoxicitatea asupra dezvoltării, după caz.

Este posibil să fie necesară o adaptare a acestei metode de testare la cazurile individuale, pe baza cunoștințelor specifice privind, de exemplu, proprietățile fizico-chimice sau toxicologice ale substanței de testat. Astfel de adaptări sunt acceptabile, în cazurile în care date științifice concludente sugerează că adaptarea va conduce la obținerea mai multor informații din test. În acest caz, datele științifice se documentează în detaliu în raportul studiului.

1.2. DEFINIȚII

Toxicologia dezvoltării: studiul efectelor adverse asupra organismului în curs de dezvoltare care ar putea fi provocate de expunerea înainte de concepție, în cursul dezvoltării intrauterine sau postnatal, până în momentul maturizării sexuale. Principalele manifestări ale toxicității dezvoltării sunt (1) moartea organismului, (2) o anomalie structurală, (3) o modificare a creșterii și (4) o deficiență funcțională. Până acum, toxicitatea dezvoltării a fost denumită deseori teratologie.

Efect advers: orice deviere de la situația de referință care are legătură cu tratamentul și care scade abilitatea unui organism de a supraviețui, de a se reproduce sau de a se adapta la mediu. În ceea ce privește toxicologia dezvoltării, în sensul său cel mai larg, aceasta include orice efect care interferează cu dezvoltarea normală a produsului de concepție atât înainte, cât și după naștere.

Modificare a creșterii: o modificare care afectează un organ, greutatea sau dimensiunea corporală a descendentului.

Modificări (anomalii): modificări structurale în dezvoltare, care includ malformații și variații (28).

Malformație/Anomalie majoră: modificare structurală considerată dăunătoare animalului (poate fi chiar letală) și, de obicei, rară.

Variație/Anomalie minoră: modificare structurală considerată puțin sau deloc dăunătoare animalului; poate fi temporară și poate interveni relativ frecvent la populația martor.

Produs de concepție: ansamblul produselor unui ovul fecundat în orice stadiu de dezvoltare, de la fertilizare până la naștere, inclusiv membranele extra-embrionare, precum și embrionul sau fetusul.

Implantare (nidație): atașarea blastocistului în membrana epitelială a uterului, inclusiv penetrarea sa prin epiteliul uterin, și fixarea sa în endometru.

Embrion: stadiul precoce sau de dezvoltare al oricărui organism, în special produsul în curs de dezvoltare al fertilizării unui ovul după apariția axei longitudinale și până la apariția tuturor structurilor majore.

Embriotoxicitate: nocivitate pentru structura, dezvoltarea, creșterea și/sau viabilitatea normale ale unui embrion.

Fetus: descendentul nenăscut în perioada post-embrionară.

Fetotoxicitate: nocivitate pentru structura, dezvoltarea, creșterea și/sau viabilitatea normale ale unui fetus.

Avort: expulzarea prematură din uter a unui produs de concepție: a embrionului sau a unui fetus neviabil.

Resorbție: fenomenul prin care un produs de concepție care a decedat după implantarea în uter este sau a fost resorbit.

Resorbție precoce: dovada implantării fără un embrion/fetus detectat.

Resorbție tardivă: embrion sau fetus decedat cu modificări externe degenerative.

NOAEL: abreviere pentru nivelul dozei fără efect advers (*no-observed-adverse-effect level*); cel mai ridicat nivel al dozei sau al expunerii la care nu se observă efecte adverse provocate de tratament.

1.3. SUBSTANȚA DE REFERINȚĂ

Nici una.

1.4. PRINCIPIUL METODEI DE TESTARE

În mod normal, substanța de testat se administrează animalelor gestante cel puțin de la implantare până în ziua anterioară celei planificate pentru sacrificare, care se stabilește cât mai aproape posibil de ziua normală a fătării fără să existe riscul de pierdere a datelor din cauza unei fătări premature. Metoda de testare nu are ca scop doar studierea perioadei de organogeneză (de exemplu, zilele 5-15 la rozătoare și zilele 6-18 la iepure), ci și examinarea efectelor din perioada de preimplantare, dacă este cazul, pe întreaga durată a perioadei de gestație, până în ziua anterioară cezarienei. Cu scurt timp înainte de cezariană, se sacrifică femelele, se examinează conținutul uterin și se examinează fetușii pentru detectarea anomaliilor externe vizibile și a modificărilor țesuturilor moi și ale scheletului.

1.5. DESCRIEREA METODEI DE TESTARE

1.5.1. **Selectarea speciei de animale**

Se recomandă ca testele să se efectueze pe specia cea mai relevantă și să se utilizeze specii și sușe de laborator care sunt cel mai des utilizate în teste privind toxicitatea asupra dezvoltării intrauterine. Specia preferată de rozătoare este șobolanul, iar specia preferată de nerozătoare este iepurele. Dacă se utilizează altă specie, decizia se motivează.

1.5.2. **Condiții de adăpostire și alimentație**

În spațiul pentru adăpostirea animalelor de experiență, se asigură o temperatură de 22 °C (± 3 °C) pentru rozătoare și de 18 °C (± 3 °C) pentru iepuri. Se asigură o umiditate relativă de 50-60 % , cu o valoare minimă de 30 % și o valoare maximă 70 %, cu excepția momentelor în care se curăță spațiul. Spațiul se iluminează artificial, cu o alternanță de 12 ore lumină, 12 ore întuneric. Pentru alimentație, se poate utiliza hrană convențională de laborator, cu furnizarea unei cantități nelimitate de apă potabilă.

Procedurile de împerechere se desfășoară în cuști adecvate acestui scop. Deși este de preferat adăpostirea individuală a animalelor împerecheate, adăpostirea în grupuri puțin numeroase este de asemenea acceptabilă.

1.5.3. **Pregătirea animalelor**

Se utilizează animale sănătoase, care au fost aclimatizate la condițiile de laborator timp de cel puțin 5 zile înainte și nu au fost supuse anterior altor proceduri experimentale. Pentru animalele de experiență se precizează specia, sușa, sursa, sexul, greutatea și/sau vârsta. Se recomandă ca animalele din toate grupurile testate să aibă, în cea mai mare măsură posibilă, greutăți și vârste apropiate. La fiecare nivel al dozei se utilizează femele adulte tinere, nulipare. Femelele se împerechează cu masculi din aceeași specie și sușă, evitându-se împerecherile între animale cosangvine. La rozătoare, ziua 0 de gestație este ziua în care se observă un dop vaginal și/sau spermă; la iepuri, ziua 0 de gestație este, de obicei, ziua copulației sau a însămânțării artificiale, dacă se utilizează această tehnică. Femelele împerecheate se distribuie la întâmplare în grupurile martor și de tratament. Cuștile se aranjează astfel încât posibilele efecte cauzate de amplasarea lor să fie reduse la minimum. Fiecărui animal i se atribuie un număr unic de identificare. Femelele împerecheate se distribuie la întâmplare în grupurile martor și de tratament, iar dacă împerecherea se face în loturi, animalele din același lot se distribuie uniform în toate grupurile. În mod similar, femelele inseminate de același mascul se distribuie uniform în toate grupurile.

1.6. MOD DE LUCRU

1.6.1. **Numărul și sexul animalelor**

Fiecare grup tratat și grup martor trebuie să conțină un număr suficient de femele pentru a obține aproximativ 20 de femele cu puncte de implantare la autopsie. Grupurile cu sub 16 animale cu puncte de implantare riscă să fie inadecvate. Mortalitatea maternă nu invalidează obligatoriu studiul, cu condiția să nu depășească aproximativ 10 %.

1.6.2. **Pregătirea dozelor**

Dacă se folosește un vehicul sau un alt aditiv pentru facilitarea dozării, se iau în considerare următoarele caracteristici: efectele asupra absorbției, distribuției, metabolismului și retenției sau excreției substanței de testat; efectele asupra proprietăților chimice ale substanței de testat care i-ar putea modifica caracteristicile toxice; și efectele asupra consumului de hrană sau apă sau asupra stării nutriționale a animalelor. Vehiculul trebuie să nu fie toxic asupra dezvoltării și să nu aibă efecte asupra reproducerii.

1.6.3. **Dozare**

În mod normal, substanța de testat se administrează zilnic de la implantare (de exemplu, ziua 5 după împerechere) până în ziua anterioară celei planificate pentru cezariană. În cazul în care studiile preliminare, dacă sunt disponibile, nu indică un risc ridicat de pierdere preimplantare, tratamentul poate fi extins astfel încât să includă întreaga perioadă de gestație, de la împerechere până în ziua anterioară sacrificării planificate. Este binecunoscut faptul că manipularea inadecvată și stresul în perioada gestației pot genera pierderi prenatale. Ca măsură de prevenire a pierderilor prenatale cauzate de factori fără legătură cu tratamentul, se evită manipularea inutilă a animalelor gestante, precum și stresul cauzat de factori externi, precum zgomotul.

Se utilizează cel puțin trei doze diferite și un grup martor paralel. În grupurile martor și de tratament se distribuie uniform animale sănătoase. Dozele se administrează eșalonat astfel încât efectele toxice să fie graduale. Cu excepția cazului în care există Limite impuse de natura fizică/chimică sau proprietățile biologice ale substanței, doza cea mai mare se alege astfel încât să inducă toxicitate asupra dezvoltării și/sau toxicitate asupra mamei (semne clinice sau o scădere a greutății corporale), dar nu decesul sau o suferință profundă. Cel puțin una dintre dozele intermediare trebuie să producă efecte toxice minime, observabile. Doza cea mai mică nu trebuie să producă nici un efect toxic asupra mamei sau asupra dezvoltării. Se selectează o serie descrescătoare a nivelurilor dozelor pentru a demonstra o eventuală relație doză-efect și nivelul dozei fără efect advers vizibil (NOAEL). Intervalul optim pentru determinarea nivelurilor descrescătoare ale dozelor este frecvent un factor de doi sau patru și este deseori de preferat să se adauge un al patrulea grup de tratament în loc să se utilizeze intervale foarte mari (de exemplu, un factor mai mare decât 10) între doze. Deși obiectivul este stabilirea unui NOAEL matern, sunt, de asemenea, acceptabile studiile care nu stabilesc un astfel de nivel (1).

Pentru selectarea nivelurilor dozelor se ține seama de datele existente privind toxicitatea, precum și de informațiile suplimentare privind metabolismul și toxicocinetica substanței de testat sau a materialelor înrudite. Informațiile în cauză se utilizează, de asemenea, pentru a demonstra că regimul de dozare este adecvat.

Se utilizează un grup martor paralel. Acest grup este supus unui tratament simulat sau unui tratament exclusiv cu vehicul, în cazul în care pentru administrarea substanței se utilizează un vehicul. Tuturor grupurilor li se administrează același volum de substanță de testat sau vehicul. Animalele din grupul martor se manipulează în același fel ca animalele din grupul de tratament. Animalelor din grupurile martor tratate doar cu vehiculul li se administrează cea mai mare cantitate de vehicul utilizată (la fel ca în grupul de tratament căruia i se administrează doza cea mai mică).

1.6.4. **Testul limită**

Dacă un test cu o singură doză de cel puțin 1 000 mg/kg greutate corporală/zi administrată oral, utilizând procedurile descrise pentru prezentul studiu, nu produce efecte toxice observabile la animalele gestante sau descendenții acestora și dacă, pe baza datelor existente (de exemplu date privind compuși înrudiți structural și/sau metabolic) nu se prevede nici un efect, este posibil să nu fie necesar un studiu complet cu trei niveluri ale dozei. Expunerea umană prevăzută poate indica necesitatea utilizării unui nivel mai ridicat al dozei administrate oral în testul limită. Pentru alte căi de administrare, precum inhalarea sau aplicarea cutanată, proprietățile fizico-chimice ale substanței de testat pot indica și limita, deseori, nivelul maxim de expunere care poate fi atins (de exemplu aplicarea cutanată nu trebuie să cauzeze o toxicitate locală ridicată).

1.6.5. **Administrarea dozelor**

Substanța de testat sau vehiculul se administrează, de obicei, oral, prin intubare. În cazul în care se utilizează o altă cale de administrare, examinatorul trebuie să își justifice și motiveze alegerea și pot fi necesare modificări adecvate (2)(3)(4). Substanța de testat se administrează aproximativ la aceeași oră în fiecare zi.

Doza pentru animalele individuale se calculează, în mod normal, în funcție de greutatea corporală a animalului la cea mai recentă cântărire. Cu toate acestea, în ultimul trimestru al gestației, doza se calculează cu prudență. Se utilizează datele existente privind selectarea dozei, pentru a preveni o toxicitate excesivă asupra mamei. Cu toate acestea, dacă se observă o toxicitate excesivă la femelele gestante, animalele în cauză sunt eutanasiate. Dacă mai multe animale gestante prezintă semne de toxicitate excesivă, se ia în considerare sacrificarea grupului tratat cu doza respectivă. Dacă se recurge la gavaj, substanța se administrează, de preferință, într-o singură doză animalelor, printr-o sondă gastrică sau o canulă de intubare adecvată. Volumul maxim de lichid care poate fi administrat o singură dată depinde de greutatea animalului. Volumul nu trebuie să depășească 1 ml/100 g greutate corporală, exceptând cazul soluțiilor apoase, din care se pot administra 2 ml/100 g greutate corporală. Dacă vehiculul utilizat este uleiul de porumb, volumul nu trebuie să depășească 0,4 ml/100 g greutate corporală. Se recomandă ca variațiile volumului administrat să fie reduse la minimum prin modificarea concentrațiilor, astfel încât să se asigure un volum constant la toate nivelurile dozelor.

1.6.6. **Observarea femelelor gestante**

Observațiile clinice se efectuează și se înregistrează cel puțin o dată pe zi, de preferință în același moment (aceleași momente) ale zilei, ținând seama de perioada de vârf al efectelor anticipate după administrarea dozei. Se înregistrează starea animalelor, inclusiv decesul, agonia, modificările comportamentale relevante și toate semnele de toxicitate evidentă.

1.6.7. **Greutatea corporală și consumul de hrană**

Animalele se cântăresc în ziua 0 de gestație sau nu mai târziu de ziua 3 de gestație, dacă animalele împerecheate anterior sunt furnizate de către un crescător exterior, în prima zi a tratamentului, cel puțin o dată la trei zile în perioada tratamentului și în ziua planificată pentru sacrificare.

Consumul de hrană se înregistrează o dată la trei zile, în zilele în care se cântăresc animalele.

1.6.8. **Examinarea *post-mortem***

Femelele se sacrifică cu o zi înainte de ziua prevăzută pentru fătare. Femelele care manifestă semne de avort sau fătare prematură înainte de ziua planificată pentru sacrificare sunt sacrificate și supuse unui examen macroscopic complet.

În momentul sacrificării sau al decesului în cursul studiului, femela este examinată macroscopic pentru determinarea oricăror anomalii structurale sau modificări patologice. Evaluarea femelelor în cursul cezarienei și analizele ulterioare asupra fetusului se efectuează, de preferință, fără să se cunoască grupul de tratament, pentru a se asigura un nivel maxim de imparțialitate.

1.6.9. **Examinarea conținutului uterin**

Imediat după sacrificare sau imediat ce este posibil după deces, se îndepărtează uterul și se confirmă statutul de gestație al animalelor. Uterele care nu par gestante sunt supuse unui examen suplimentar (de exemplu prin colorare cu sulfură de amoniu la rozătoare și prin colorare Salewski sau o metodă alternativă adecvată la iepuri) pentru confirmarea absenței gestației (5).

Uterele gestante, inclusiv cervixul, se cântăresc. Nu se cântăresc uterele gestante ale animalelor care au fost găsite moarte în cursul studiului.

La animalele gestante se determină numărul de corpuri galbene.

Conținutul uterin se examinează pentru a determina numărul de embrioni sau fetuși decedați și numărul de fetuși viabili. Se descrie gradul de resorbție pentru a estima momentul relativ al decesului produsului de concepție (a se vedea secțiunea 1.2).

1.6.10. **Examinarea fetușilor**

Se determină sexul și greutatea fiecărui fetus.

Se examinează fiecare fetus pentru determinarea modificărilor externe (6).

Se examinează fetușii pentru determinarea modificărilor scheletului și ale țesuturilor moi (de exemplu variații și malformații sau anomalii) (7) (8) (9) (10) (11) (12) (13) (14) (15) (16) (17) (18) (19) (20) (21) (22) (23) (24). Este de preferat, dar nu obligatoriu, ca modificările fetale să fie înregistrate pe categorii. Dacă se stabilesc categorii, se precizează clar criteriile pentru definirea fiecărei categorii. Se examinează cu o atenție specială tractul genital pentru a se stabili dacă prezintă modificări în dezvoltare.

La rozătoare, circa jumătate din fiecare cuib se pregătește și se examinează pentru modificări ale scheletului. Restul se pregătește și se examinează pentru modificări ale țesuturilor moi, utilizând metode de secționare serială acceptate sau adecvate sau procedând cu atenție la disecția macroscopică.

La nerozătoare, de exemplu la iepuri, se examinează toți fetușii atât pentru modificări ale țesuturilor moi, cât și pentru modificări ale scheletului. Corpul fetușilor se evaluează prin disecție atentă pentru modificări ale țesuturilor moi, putând fi utilizate inclusiv proceduri pentru evaluarea structurii cardiace interne (25). Capetele a jumătate din fetușii examinați astfel sunt prelevate și prelucrate pentru evaluarea modificărilor țesuturilor moi (inclusiv ochi, creier, pasaje nazale și limbă), utilizând metode de secționare serială (26) sau o altă metodă la fel de sensibilă. Corpurile acestor fetuși și ceilalți fetuși intacți se prelucrează și se examinează pentru modificări ale scheletului, utilizând metodele descrise pentru rozătoare.

2. **DATE**

2.1. PRELUCRAREA REZULTATELOR

Datele se prezintă individual atât pentru femelele gestante, precum și pentru descendenții acestora și sub forma unui rezumat tabelar care include, pentru fiecare grup de tratament și fiecare generație, numărul de animale la începutul testului, numărul de animale găsite moarte sau eutanasiate, momentul decesului sau al eutanasierii, numărul de animale care au prezentat semne de toxicitate, o descriere a semnelor de toxicitate observate, inclusiv momentul declanșării, durata și severitatea efectelor toxice, tipurile de observații asupra embrionilor/fetușilor și toate datele relevante privind cuiburile.

Rezultatele numerice se evaluează printr-o metodă statistică adecvată, utilizând cuibul ca unitate pentru analiza datelor. Se utilizează o metodă statistică general acceptată; metodele statistice se selectează în etapa de concepere a studiului și se justifică. Se includ și datele privind animalele care nu supraviețuiesc până în ziua planificată pentru sacrificare. Datele în cauză pot fi incluse în mediile grupurilor, dacă sunt relevante. Relevanța datelor obținute de la aceste animale și, prin urmare, includerea sau excluderea lor din media (mediile) grupurilor se justifică și se analizează de la caz la caz.

2.2. EVALUAREA REZULTATELOR

Rezultatele studiului de toxicitate asupra dezvoltării intrauterine se evaluează din punctul de vedere al efectelor observate. Evaluarea include următoarele observații:

— rezultatele testelor asupra mamelor și embrionilor/fetușilor, inclusiv evaluarea relației sau a absenței unei relații între expunerea animalelor la substanța de testat și incidența și gravitatea tuturor efectelor observate;

— criteriile utilizate pentru stabilirea unor categorii de modificări externe, ale țesuturilor moi și ale scheletului la fetuși, dacă s-au stabilit astfel de categorii;

— dacă este cazul, date istorice de control, pentru o mai bună interpretare a rezultatelor studiului;

— numerele utilizate pentru calcularea tuturor procentajelor și indicilor;

— o analiză statistică adecvată a rezultatelor studiului, dacă este cazul, inclusiv informații suficiente privind metoda de analiză pentru ca un revizor/statistician independent să poate reevalua și reface analiza;

în cazul unui studiu care demonstrează absența oricăror efecte toxice, se are în vedere efectuarea unor investigații suplimentare pentru a stabili absorbția și biodisponibilitatea substanței de testat.

2.3. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Un studiu de toxicitate asupra dezvoltării intrauterine furnizează informații privind efectele expunerii repetate la o substanță în timpul gestației asupra femelelor gestante și asupra dezvoltării intrauterine a descendenților lor. Rezultatele studiului se interpretează în strânsă legătură cu rezultatele altor studii de toxicitate subcronică, de toxicitate asupra reproducerii, toxicocinetice și altele. Întrucât accentul se pune pe toxicitatea generală, prin toxicitatea asupra mamei, și pe toxicitatea asupra dezvoltării intrauterine, rezultatele studiului permit, într-o anumită măsură, să se facă diferența între efectele asupra dezvoltării în absența toxicității generale și cele care sunt induse doar la nivelul care este, de asemenea, toxice pentru animalul gestant (27).

3. **RAPORTARE**

RAPORTUL TESTULUI

Raportul testului include următoarele informații specifice.

Substanța de testat:

— natura fizică și, dacă sunt relevante, proprietățile fizico-chimice;

— identificare, inclusiv numărul CAS, dacă este cunoscut/stabilit;

— puritate.

Vehicul (dacă este cazul):

— justificare pentru alegerea vehiculului, dacă acesta este diferit de apă.

Animalele de experiență:

— specie și sușă utilizate;

— numărul și vârsta animalelor;

— sursă, condiții de adăpostire, hrană etc.;

— greutatea fiecărui animal la începutul testului.

Condiții de testare:

— motivația pentru nivelurile dozelor alese;

— detalii privind formula/includerea în hrană a substanței de testat, concentrația obținută, stabilitatea și omogenitatea preparatului;

— detalii privind administrarea substanței de testat;

— transformarea concentrației de substanță de testat în hrană/apa potabilă (ppm) în doza reală (mg/kg greutate corporală/zi), dacă este cazul;

— condiții ambientale;

— detalii privind calitatea hranei și a apei.

Rezultate.

Date privind reacția toxică a femelelor gestante, în funcție de doză, inclusiv, fără a se limita la:

— numărul de animale la începutul testului, numărul de animale supraviețuitoare, numărul de animale gestante și care au avortat, numărul de animale care au fătat prematur;

— ziua decesului în cursul studiului sau dacă animalele au supraviețuit până la sacrificare;

— datele privind animalele care nu supraviețuiesc până în ziua planificată pentru sacrificare se precizează, dar nu se includ în comparațiile statistice între grupuri;

— ziua observării oricărui semn clinic anormal și evoluția sa ulterioară;

— greutatea corporală, variațiile acesteia și greutatea uterului gestant, inclusiv, opțional, variațiile de greutate corporală corectate în funcție de greutatea uterului gestant;

— consumul de hrană și, dacă se măsoară, consumul de apă;

— concluziile autopsiei, inclusiv greutatea uterului;

— se raportează valorile NOAEL pentru efecte asupra femelei gestante și asupra dezvoltării.

Puncte finale pentru dezvoltare în funcție de doză pentru cuiburi cu implantări, inclusiv:

— numărul de corpuri galbene;

— numărul de implantări, numărul și procentajul de fetuși vii și decedați și de resorbții;

— numărul și procentajul de pierderi înainte și după implantare.

Puncte finale pentru dezvoltare în funcție de doză, pentru cuiburile cu fetuși vii, inclusiv:

— numărul și procentajul de descendenți vii;

— raportul între cele două sexe;

— greutatea corporală a fetușilor, de preferință defalcat pe sexe și pentru ambele sexe;

— malformații externe, ale țesuturilor moi și ale scheletului și alte modificări relevante;

— criterii pentru includerea în diverse categorii, dacă este cazul;

— numărul total și procentajul de fetuși și cuiburi cu modificări externe, ale țesuturilor moi și ale scheletului, precum și tipurile și incidențele diverselor anomalii, precum și alte modificări relevante.

Discutarea rezultatelor.

Concluzii.

4. **REFERINȚE BIBLIOGRAFICE**

(1) Kavlock R.J. et al. (1996) A Simulation Study of the Influence of Study Design on the Estimation of Benchmark Doses for Developmental Toxicity. *Risk Analysis* 16; 399-410.

(2) Kimmel, C.A. and Francis, E.Z. (1990) Proceedings of the Workshop on the Acceptability and Interpretation of Dermal Developmental Toxicity Studies. *Fundamental and Applied Toxicology* 14; 386-398.

(3) Wong, B.A., et al. (1997) Developing Specialized Inhalation Exposure Systems to Address Toxicological Problems. *CIIT Activities* 17; 1-8.

(4) US Environmental Protection Agency (1985) Subpart E-Specific Organ/Tissue Toxicity, 40 CFR 798.4350; Inhalation Developmental Toxicity Study.

(5) Salewski, E. (1964) Faerbermethode zum Makroskopischen Nachweis von Implantations Stellen am Uterusder Ratte. *Naunyn-Schmeidebergs Archiv fur Pharmakologie und Experimentelle Pathologie* 247:367.

(6) Edwards, J.A. (1968) The external Development of the Rabbit and Rat Embryo. In *Advances in Teratology*. D.H.M. Woolam (ed.) Vol. 3. Academic Press, NY.

(7) Inouye, M. (1976) Differential Staining of Cartilage and Bone in Fetal Mouse Skeleton by A1cian 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 ss Indicative of Foetal Maturity. *Teratology* 11; 313-320.

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

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

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

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

(17) Spark, C. and Dawson, A.B. (1928) The Order and Time of appearance of Centers of Ossification in the Fore and Hind Limbs of the Albino Rat, with Special Reference to the Possible Influence of the Sex Factor. *American Journal of Anatomy* 41; 411-445.

(18) Staples, R.E. and Schnel1, 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. *Teralogenesis, Carcinogenesis, and Mulagenesis* 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.

ANEXA 2G

B.35. STUDIU DE TOXICITATE ASUPRA REPRODUCERII PE DURATA A DOUĂ GENERAȚII

1. METODĂ

Această metodă corespunde testului OCDE TG 416 (2001).

1.1. INTRODUCERE

Această metodă de testare a reproducerii pe durata a două generații este concepută pentru a furniza informații generale privind efectele unei substanțe de testat asupra integrității și funcționării sistemelor de reproducere masculin și feminin, inclusiv asupra funcției gonadice, ciclului estral, comportamentului de împerechere, concepției, gestației, fătării, alăptării și înțărcării și asupra creșterii și dezvoltării descendenților. Studiul poate furniza, de asemenea, informații privind efectele substanței de testat asupra morbidității și mortalității neonatale și date preliminare privind toxicitatea asupra dezvoltării prenatale și postnatale și poate constitui un ghid pentru testele ulterioare. Această metodă de testare nu studiază doar creșterea și dezvoltarea generației F1, ci evaluează, de asemenea, integritatea și funcționarea sistemelor de reproducere masculin și feminin, precum și creșterea și dezvoltarea generației F2. Pentru informații suplimentare privind toxicitatea asupra dezvoltării și deficiențele funcționale, fie pot fi incluse în acest protocol secvențe suplimentare de studiu, consultând metodele pentru toxicitatea asupra dezvoltării și/sau neurotoxicitatea asupra dezvoltării, după caz, fie aceste puncte finale pot fi studiate în cadrul unor studii separate, utilizând metodele de testare adecvate.

1.2. PRINCIPIILE METODEI DE TESTARE

Substanța de testat se administrează în doze graduale mai multor grupuri de masculi și femele. Substanța se administrează masculilor din generația P în timpul creșterii și cel puțin pe durata unui ciclu spermatogenetic complet (aproximativ 56 de zile la șoarece și 70 de zile la șobolan) pentru a pune în evidență efectele adverse asupra spermatogenezei. Efectele asupra spermei se determină în funcție de mai mulți parametri ai spermei (de exemplu morfologia și motilitatea spermatozoizilor) și prin preparate de țesut și examene histopatologice detaliate. Dacă sunt disponibile date privind spermatogeneza dintr-un studiu anterior cu doze repetate cu o durată suficientă, de exemplu un studiu de 90 de zile, masculii din generația P nu este necesar să fie incluși în evaluare. Se recomandă totuși ca eșantioanele și înregistrările digitale ale spermei din generația P să fie păstrate, pentru a permite o evaluare ulterioară. Substanța se administrează femelelor din generația P în timpul creșterii și pe durata mai multor cicluri estrale complete pentru a detecta orice efecte adverse produse asupra normalității ciclului estral de către substanța de testat. Substanța de testat se administrează animalelor din generația parentală (P) în perioada împerecherii, pe durata gestațiilor ulterioare și până la înțărcarea descendenților lor din generația F1. După înțărcare, substanța se administrează în continuare descendenților F1 în perioada de creștere și la vârsta adultă și în perioada de împerechere și producere a generației F2, până la înțărcarea generației F2.

Observațiile clinice și examenele patologice se efectuează asupra tuturor animalelor pentru detectarea semnelor de toxicitate, acordându-se o atenție specială efectelor asupra integrității și funcționării sistemelor de reproducere masculin și feminin și asupra creșterii și dezvoltării descendenților.

1.3. **DESCRIEREA METODEI DE TESTARE**

1.3.1. **Selectarea speciei de animale**

Specia preferată pentru testare este șobolanul. Dacă se utilizează o altă specie, această opțiune se justifică și este necesar să se facă modificările adecvate. Nu se utilizează liniile cu o fecunditate scăzută sau o incidență ridicată bine-cunoscută a defectelor de dezvoltare. La începutul studiului, variațiile în greutate între animalele utilizate trebuie să fie minime și să nu depășească 20 % din greutatea medie pentru fiecare sex.

1.3.2. **Condiții de adăpostire și alimentație**

În spațiul pentru adăpostirea animalelor de experiență, se asigură o temperatură de 22 °C (± 3 °C). Se asigură o umiditate relativă de 50-60 %, cu o valoare minimă de 30 % și o valoare maximă 70 %, cu excepția momentelor în care se curăță spațiul. Spațiul se iluminează artificial, cu o alternanță de 12 ore lumină, 12 ore întuneric. Pentru alimentație, se poate utiliza hrană convențională de laborator, cu furnizarea unei cantități nelimitate de apă potabilă. Alegerea hranei poate fi influențată de necesitatea de a încorpora în hrană substanța de testat, dacă se administrează prin această metodă.

Animalele se adăpostesc individual sau în grupuri mici de același sex. Procedurile de împerechere se desfășoară în cuști adecvate acestui scop. După constatarea copulației, femelele împerecheate se adăpostesc individual în cuști amenajate pentru fătare și maternitate. Șobolanii împerecheați pot fi adăpostiți în grupuri mici, dar se separă cu una sau două zile înainte de fătare. Când se apropie momentul fătării, animalelor împerecheate li se asigură materialele adecvate și determinate pentru construirea cuibului.

1.3.3. **Pregătirea animalelor**

Se utilizează animale sănătoase, care au fost aclimatizate la condițiile de laborator timp de cel puțin 5 zile înainte și nu au fost supuse anterior altor proceduri experimentale. Pentru animalele de experiență se precizează specia, sușa, sursa, sexul, greutatea și/sau vârsta. Este necesar să se cunoască legăturile colaterale dintre animale, pentru a se evita împerecherea între cosangvini. Animalele se distribuie aleatoriu în grupurile martor și de testare (se recomandă gruparea în funcție de greutate). Cuștile se aranjează astfel încât posibilele efecte cauzate de amplasarea lor să fie reduse la minimum. Fiecărui animal i se atribuie un număr unic de identificare. La animalele din generația P, identificarea se face înainte de începerea tratamentului. La animalele din generația F1, identificarea se face la înțărcare, pentru animalele selectate pentru împerechere. Pentru toate animalele selectate din generația F1 se înregistrează cuibul de origine. În plus, dacă se au în vedere cântărirea individuală a puilor sau orice alte teste funcționale, se recomandă ca identificarea individuală a puilor să se efectueze cât mai curând posibil după fătare.

Animalele din generația P trebuie să aibă circa 5 până la 9 săptămâni la începutul tratamentului. Se recomandă ca animalele din toate grupurile de tratament să aibă, în cea mai mare măsură posibilă, greutăți și vârste apropiate.

1.4. MOD DE LUCRU

1.4.1. **Numărul și sexul animalelor**

Fiecare grup de tratament și grup martor trebuie să conțină un număr suficient de animale pentru a obține, de preferat, cel puțin 20 de femele gestante în momentul sau în apropierea momentului fătării. În cazul substanțelor care cauzează efecte nedorite corelate tratamentului (de exemplu, sterilitate, toxicitate excesivă, la cea mai mare doză), există riscul ca acest lucru să nu fie posibil. Obiectivul este obținerea unui număr suficient de femele gestante pentru a asigura o evaluare relevantă a potențialului substanței de a afecta fertilitatea, gestația și comportamentul mamei și alăptarea, creșterea și dezvoltarea descendenților F1 de la concepție până la maturitate, precum și dezvoltarea descendenților acestora (F2), până la înțărcare. Prin urmare, faptul că nu se obține numărul dorit de animale gestante (20) nu invalidează obligatoriu studiul și se evaluează de la caz la caz.

1.4.2. **Pregătirea dozelor**

Se recomandă ca substanța de testat să se administreze oral (în hrană, în apa potabilă sau prin gavaj), cu excepția cazului în care o altă cale de administrare (de exemplu prin absorbție dermică sau inhalare) este considerată a fi mai adecvată.

Dacă este necesar, substanța de testat se dizolvă într-un vehicul adecvat. Se recomandă, ori de câte ori este posibil, să se ia în considerare în primul rând utilizarea unei soluții/suspensii apoase, apoi o soluție/emulsie în ulei (de exemplu ulei de porumb) și ulterior o altă soluție posibilă într-un alt vehicul. Pentru alte vehicule decât apa, este necesar să se cunoască proprietățile toxice ale vehiculului. Se determină stabilitatea substanței de testat în vehicul.

1.4.3. **Dozare**

Se utilizează cel puțin trei niveluri ale dozei și un martor paralel. Cu excepția cazului în care există Limite impuse de natura fizico-chimică sau de efectele biologice ale substanței de testat, doza cea mai mare se alege astfel încât să inducă toxicitate, dar nu decesul sau o suferință profundă. În cazul unei mortalități neașteptate, studiile cu o rată a mortalității mai mică decât circa 10 procente la animalele din generația parentală (P) este totuși acceptabil, în mod normal. Se alege o serie de administrare în ordine descrescătoare a dozelor, pentru a pune în evidență o eventuală relație doză-efect și nivelul dozei fără efect advers vizibil (NOAEL). Intervalul optim pentru determinarea nivelurilor descrescătoare ale dozelor este frecvent un factor de doi sau patru și este deseori de preferat să se adauge un al patrulea grup de tratament în loc să se utilizeze intervale foarte mari (de exemplu un factor mai mare decât 10) între doze. Pentru studiile cu administrare în hrană, intervalul între doze nu trebuie să depășească un factor de trei. Nivelurile dozelor se selectează ținând seama de datele existente privind toxicitatea, în special de rezultatele studiilor cu doze repetate. Se iau, de asemenea, în considerare orice informații disponibile cu privire la metabolismul și cinetica compusului de testat sau ale materialelor înrudite. În plus, informațiile în cauză se utilizează, de asemenea, pentru a demonstra că regimul de dozare este adecvat.

Grupul martor nu este supus tratamentului sau i se administrează exclusiv vehiculul, în cazul în care pentru administrarea substanței de testat se utilizează un vehicul. Cu excepția tratamentului cu substanța de testat, animalele din grupul martor sunt manipulate în același fel ca animalele din grupul de tratament. Dacă se utilizează un vehicul, grupului martor i se administrează cel mai mare volum utilizat de vehicul. Dacă substanța de testat se administrează în amestec cu hrana și provoacă o reducere a aportului și consumului de hrană, poate fi considerată necesară utilizarea unui grup martor hrănit în paralel. Alternativ, se pot utiliza date obținute din studii controlate, concepute pentru evaluarea efectelor unui consum redus de hrană asupra parametrilor reproducerii în locul unui grup martor simultan, hrănit în paralel.

Se iau în considerare următoarele caracteristici ale vehiculului și ale altor aditivi: efectele asupra absorbției, distribuției, metabolismului sau retenției de substanță de testat; efectele asupra proprietăților chimice ale substanței de testat care ar putea modifica caracteristicile sale toxice; și efectele asupra consumului de hrană sau apă sau asupra stării nutriționale a animalelor.

1.4.4. **Testul limită**

Dacă un studiu oral cu o singură doză de cel puțin 1 000 mg/kg greutate corporală/zi sau, în cazul administrării în amestec cu hrana sau apa potabilă, un procentaj echivalent în hrana sau apa potabilă, efectuat conform procedurilor descrise pentru prezentul studiu, nu produce efecte toxice evidente nici la animalele din generația parentală, nici la descendenții acestora și, dacă, pe baza datelor privind compușii înrudiți structural și/sau metabolic, nu se prevede nici un efect toxic, este posibil să nu fie necesar un studiu complet cu mai multe niveluri ale dozei. Se efectuează testul limită, cu excepția cazului în care expunerea umană indică necesitatea de a utiliza un nivel al dozei administrate oral mai ridicat. În cazul altor căi de administrare, precum inhalarea sau aplicarea cutanată, proprietățile fizico-chimice ale substanței de testat, precum solubilitatea, pot indica și limita, deseori, nivelul maxim de expunere posibil de realizat.

1.4.5. **Administrarea dozelor**

Animalelor li se administrează substanța de testat zilnic, 7 zile din 7. Se preferă administrarea pe cale orală (în amestec cu hrana, apa potabilă sau prin gavaj). Alegerea unei alte căi de administrare trebuie justificată și poate impune modificări adecvate. Substanța de testat se administrează prin aceeași metodă tuturor animalelor, pe durata adecvată a experimentului. Dacă substanța de testat se administrează prin gavaj, se utilizează o sondă gastrică. Volumul de lichid administrat o singură dată nu trebuie să depășească 1 ml/100 g greutate corporală (0,4 ml/100 g greutate corporală este volumul maxim pentru uleiul de porumb), cu excepția cazului soluțiilor apoase, din care se pot administra 2 ml/100 g greutate corporală. Cu excepția cazului substanțelor iritante sau corozive, care provoacă, în mod normal, efecte exacerbate la concentrații mai ridicate, se recomandă ca variațiile volumului administrat să fie reduse la minimum prin ajustarea concentrației, pentru a asigura un volum constant la toate nivelurile dozelor. În studiile efectuate prin gavaj, în mod normal puilor li se administrează substanța de testat doar în amestec cu lapte, până la începerea dozării indirecte după înțărcarea lor. În studiile în care se utilizează amestecul în hrană sau apa potabilă, puilor li se administrează substanța de testat direct din momentul în care încep să se hrănească singuri, în ultima săptămână a perioadei de alăptare.

Pentru substanțele administrate în amestec cu hrana sau apa potabilă, este important ca echilibrul nutrițional și hidric normal să nu fie afectat de cantitatea de substanță de testat administrată. Dacă substanța de testat se administrează în amestec cu hrana se poate utiliza fie o concentrație constantă în hrană (ppm), fie o doză constantă raportată la greutatea corporală a animalului; se specifică opțiunea utilizată. În cazul unei substanțe administrate prin gavaj, doza se administrează aproximativ la aceeași oră în fiecare zi și se ajustează cel puțin săptămânal pentru a menține un nivel constant în funcție de greutatea corporală a animalului. La ajustarea în funcție de greutate a dozei administrate prin gavaj, se ține seama de informațiile privind distribuția placentară.

1.4.6. **Programe experimentale**

Administrarea zilnică a substanței de testat la femelele și masculii din generația parentală (P) începe la vârsta de 5-9 săptămâni. Administrarea zilnică a substanței de testat la femelele și masculii din generația F1 începe la înțărcare; se ține seama de faptul că, în cazul substanțelor de testat administrate în amestec cu hrana sau apa potabilă, expunerea directă a puilor din generația F1 la substanța de testat poate începe încă din perioada de alăptare. La ambele sexe (P și F1), tratamentul continuă timp de cel puțin 10 săptămâni înainte de perioada de împerechere. Tratamentul continuă la ambele sexe în cele 2 săptămâni ale perioadei de împerechere. Masculii sunt eutanasiați și examinați în momentul în care nu mai sunt necesari pentru evaluarea efectelor asupra reproducerii. La femelele din generația parentală (P), tratamentul continuă pe întreaga perioadă a gestației și până la înțărcarea descendenților F1. Se ia în considerare modificarea programului de administrare în funcție de informațiile disponibile privind substanța de testat, inclusiv date existente privind toxicitatea, inducția metabolică și bioacumulare. Doza administrată fiecărui animal se calculează, în mod normal, pe greutatea corporală individuală la ultima cântărire. Cu toate acestea, ajustarea dozelor se face cu atenție în ultimul trimestru de gestație.

Tratamentul masculilor și femelelor din generațiile P și F1 continuă până la sacrificare. Toate animalele adulte din generațiile P și F1, masculi și femele, sunt eutanasiate când nu mai sunt necesare pentru evaluarea efectelor asupra reproducerii. Descendenții F1 care nu sunt selectați pentru împerechere și toți descendenții F2 sunt eutanasiați după înțărcare.

1.4.7. **Procedura de împerechere**

1.4.7.1. *Împerecherea generației parentale (P)*

Pentru fiecare împerechere, se adăpostește fiecare femelă cu un singur mascul de la același nivel al dozei (împerechere 1:1), până când are loc copulația sau expiră un termen de 2 săptămâni. În fiecare zi, femele sunt examinate pentru a detecta prezența spermei sau a dopului vaginal. Ziua 0 de gestație se definește ca ziua în care se observă spermă sau un dop vaginal. În cazurile în care împerecherea eșuează, se poate lua în calcul reîmperecherea femelelor în cauză cu masculi care și-au dovedit capacitatea reproductivă. Cuplurile împerecheate se identifică clar în cadrul datelor. Se evită împerecherea cosangvinilor.

1.4.7.2. *Împerecherea generației F1*

Pentru împerecherea descendenților F1 se selectează cel puțin un mascul și o femelă din fiecare cuib, la înțărcare, pentru împerecherea cu alți pui de la același nivel al dozei, dar din cuiburi diferite, pentru producerea generației F2. Selecția puilor din fiecare cuib se face aleatoriu dacă nu există diferențe majore între puii din același cuib din punctul de vedere al greutății corporale și a aspectului fizic. Dacă se observă astfel de diferențe, se selectează cei mai buni reprezentanți din fiecare cuib. Pragmatic, selecția se face cel mai ușor în funcție de greutatea corporală, dar este posibil ca selecția în funcție de aspect să fie mai relevantă. Descendenții F1 nu se împerechează înainte de a fi atins maturitatea sexuală deplină.

Cuplurile fără descendenți sunt evaluate pentru determinarea cauzei aparente a infertilității. Evaluarea include proceduri precum oportunități suplimentare de împerechere cu alți masculi sau femele care și-au dovedit capacitatea reproductivă, examinarea microscopică a organelor de reproducere și analiza ciclurilor estrale și a spermatogenezei.

1.4.7.3. *A doua împerechere*

În anumite situații, precum modificări ale dimensiunii cuibului corelate cu tratamentul sau observarea unor efecte echivoce la prima împerechere, se recomandă a doua împerechere a adulților P sau F1, pentru a produce un al doilea cuib. Se recomandă reîmperecherea femelelor sau masculilor care nu au produs un cuib cu animale de sex opus care și-au dovedit capacitățile reproductive. Dacă se consideră necesară producerea celui de-al doilea cuib la oricare dintre generații, animalele se împerechează din nou la aproximativ o săptămână după înțărcarea cuibului anterior.

1.4.7.4. *Dimensiunea cuibului*

Animalele se lasă să fete normal și să își crească descendenții până la înțărcare. Standardizarea dimensiunii cuibului este opțională. Dacă se recurge la standardizare, se descrie detaliat metoda utilizată.

1.5. OBSERVAȚII

1.5.1. **Observații clinice**

Se efectuează zilnic un examen clinic general, iar în cazul administrării prin gavaj, planificarea examenului clinic ține seama de perioada de vârf a efectelor după administrare. Se înregistrează modificările de comportament, semnele de fătare dificilă sau prelungită și orice semne de toxicitate. Cel puțin o dată pe săptămână fiecare animal este supus unui examen mai detaliat, care se poate efectua, pentru convenință, simultan cu cântărirea animalului. De două ori pe zi, sau o singură dată pe zi la sfârșitul săptămânii, dacă este cazul, fiecare animal este supus unui examen pentru stabilirea morbidității sau decesului.

1.5.2. **Greutatea corporală și consumul de hrană/apă ale animalelor părinți**

Animalele părinți (P și F1) sunt cântărite în prima zi de tratament și, ulterior, cel puțin o dată pe săptămână. Femelele părinți (P și F1) sunt cântărite cel puțin în zilele de gestație 0, 7, 14 și 20 sau 21, iar în perioada de alăptare în zilele în care sunt cântăriți puii și în ziua în care sunt sacrificate. Aceste observații se înregistrează individual pentru fiecare animal adult. În perioada de dinainte de împerechere și în perioada de gestație, consumul de hrană se măsoară cel puțin o dată pe săptămână. Consumul de apă se măsoară cel puțin o dată pe săptămână, dacă substanța de testat se administrează în apă.

1.5.3. **Ciclul estral**

Lungimea și normalitatea ciclului estral se evaluează la femelele P și F1 prin frotiuri vaginale înainte de împerechere și în perioada de împerechere, opțional, până la obținerea de probe ale împerecherii. La prelevarea de celule vaginale/cervicale se evită cu atenție deteriorarea mucoaselor și, prin urmare, inducerea pseudogestației (1).

1.5.4. **Parametrii de evaluare a spermei**

la sacrificarea tuturor masculilor din generațiile P și F1, se înregistrează greutatea testiculelor și a epididimului, păstrându-se câte un exemplar din fiecare organ pentru examenul histopatologic (a se vedea secțiunile 1.5.7, 1.5.8.1). Restul testiculelor și epididimelor de la un subgrup de cel puțin zece masculi din fiecare grup de masculi din generațiile P și F1 se utilizează pentru numărarea spermatidelor rezistente la omogenizare și, respectiv, a rezervelor de spermatozoizi din coada epididimului. De la același subgrup de masculi, se colectează spermă din coada epididimului sau din canalul deferent pentru evaluarea motilității și morfologiei spermatozoizilor. Dacă se observă efecte corelate cu tratamentul sau dacă există doa se vedea din alte studii privind posibilele efecte asupra spermatogenezei, se efectuează o evaluare a spermei tuturor masculilor din grupurile tratate cu diverse niveluri ale dozei; în caz contrar, evaluarea spermei se poate restrânge la masculii din generațiile P și F1 din grupul martor și grupul tratat cu cea mai mare doză.

Se determină numărul total de spermatide testiculare rezistente la omogenizare și numărul de spermatozoizi din coada epididimului (2) (3). Rezervele de spermatozoizi din coada epididimului se pot calcula din concentrația și volumul spermei din suspensia utilizată pentru realizarea evaluărilor calitative și numărul de spermatozoizi recuperați din mărunțirea și/sau omogenizarea ulterioară a țesutului caudal rămas. Evaluarea numerică se efectuează pe subgrupul de masculi selectați din grupurile tratate la toate nivelurile dozei imediat după sacrificarea animalelor, cu excepția cazului în care se fac înregistrări video sau digitale sau a cazului în care eșantioanele sunt înghețate și analizate ulterior. În aceste cazuri, se poate proceda mai întâi la analizarea grupurilor martor și a grupului tratat cu doza cea mai mare. Dacă nu se observă efecte corelate cu tratamentul (de exemplu efecte asupra numărului de spermatozoizi, motilității și morfologiei spermatozoizilor), nu este necesar să se analizeze grupurile tratate cu alte doze. Dacă la grupul tratat cu doza cea mai mare se observă efecte corelate cu tratamentul, se evaluează și grupurile tratate cu doze mai mici.

Motilitatea spermei din epididim (sau canalele deferente) se evaluează sau se înregistrează pe suport video imediat după sacrificare. Sperma se colectează astfel încât să se evite deteriorarea organelor și se diluează pentru analiza motilității utilizând metode acceptabile (4). Procentajul de spermatozoizi cu motilitate progresivă se determină subiectiv sau obiectiv. Dacă se face o analiză a mobilității asistată de computer (5) (6) (7) (8) (9) (10), calculul motilității progresive se bazează pe Limite definite de utilizator pentru viteza medie pe traiectorie, rectiliniaritate și indicele liniar. Dacă eșantioanele sunt înregistrate pe suport video (11) sau se înregistrează imagini în alt mod în momentul autopsiei, analiza ulterioară poate fi restrânsă doar la masculii P și F1 din grupul martor și grupul tratat la cea mai mare doză, cu excepția cazului în care se observă efecte corelate cu tratamentul; în acest caz, se evaluează și grupurile tratate cu doze mai mici. În absența unei imagini video sau digitale, toate eșantioanele prelevate de la toate grupurile de tratament se analizează în momentul autopsiei.

Se efectuează o evaluare morfologică a unui eșantion de spermă colectat din epididim (sau canalul deferent). Spermatozoizii (cel puțin 200 per eșantion) se examinează ca preparate fixe, lichide (12) și clasificați ca normali sau anormali. Printre anomaliile morfologice ale spermatozoizilor se numără fuziunea, capete izolate și capete și/sau cozi malformate. Evaluarea vizează subgrupul selectat de masculi din toate grupurile tratate cu diverse doze și se efectuează fie imediat după sacrificare, fie ulterior, pe baza înregistrărilor video sau digitale. Odată fixate, frotiurile pot fi citite ulterior. În aceste cazuri, se poate proceda mai întâi la analizarea grupurilor martor și a grupului tratat cu doza cea mai mare. Dacă nu se observă efecte corelate cu tratamentul (de exemplu efecte asupra morfologiei spermatozoizilor), nu este necesar să se analizeze grupurile tratate cu alte doze. Dacă la grupul tratat cu doza cea mai mare se observă efecte corelate cu tratamentul, se evaluează și grupurile tratate cu doze mai mici.

Dacă oricare dintre parametrii de evaluare a spermei menționați anterior a fost analizat în cadrul unui studiu de toxicitate sistemică de cel puțin 90 de zile, nu este obligatoriu ca acesta să fie reevaluat în cadrul studiului pe două generații. Cu toate acestea, se recomandă păstrarea de eșantioane sau înregistrări digitale ale spermei din generația P, pentru a permite efectuarea unor evaluări ulterioare, dacă este cazul.

1.5.5. **Descendenți**

Se examinează fiecare cuib, cât mai curând posibil după fătare (ziua de alăptare 0) pentru stabilirea numărului de pui și a sexului acestora, a numărului de pui fătați morți, a numărului de pui vii și a prezenței unor anomalii macroscopice. Este de preferat ca puii găsiți morți în ziua 0, dacă nu sunt macerați, să fie examinați pentru detectarea posibilelor anomalii și determinarea cauzei morții și conservați. Puii vii se numără și se cântăresc individual, la naștere (ziua de alăptare 0) sau în ziua 1 și, ulterior, în zilele normale de cântărire, de exemplu în zilele 4, 7, 14 și 21 de alăptare. Se înregistrează orice anormalități fizice sau comportamentale observate la femele sau descendenți.

Se urmărește dezvoltarea fizică a descendenților, în special prin creșterea greutății corporale. Alți parametri fizici (de exemplu deschiderea urechilor și a ochilor, erupția dinților, creșterea blănii) pot oferi informații suplimentare, dar aceste date se evaluează, de preferință, în contextul datelor privind maturitatea sexuală (de exemplu vârsta și greutatea corporală la deschiderea vaginului sau separarea balano-prepuțială) (13). Se recomandă efectuarea unor investigații funcționale (de exemplu activitatea motorie, funcțiile senzoriale, ontogeneza reflexelor) asupra descendenților F1 înainte și/sau după înțărcare, în special a celor legate de maturizarea sexuală, dacă astfel de investigații nu sunt incluse în studii separate. La puii înțărcați din generația F1 selectați pentru împerechere se determină vârsta la care survine deschiderea vaginului sau separarea prepuțială. În ziua 0 după fătare se măsoară distanța ano-genitală la puii din generația F2, dacă se constantă modificări ale proporției de masculi și femele sau ale momentului maturizării sexuale la generația F1.

Se pot omite observațiile funcționale la grupurile care prezintă semne clare ale unor efecte adverse (de exemplu o scădere semnificativă a greutății corporale etc.). Dacă se efectuează investigații funcționale, acestea nu se efectuează asupra puilor selectați pentru împerechere.

1.5.6. **Autopsia macroscopică**

În momentul sacrificării sau al decesului în cursul studiului, toate animalele din generațiile parentale (P și F1), toți puii care prezintă anormalități externe sau semne clinice, precum și câte un pui/sex/cuib selectat aleatoriu din generațiile F1 și F2 sunt supuși unei autopsii macroscopice pentru determinarea anomaliilor structurale sau a modificărilor patologice. Se acordă o atenție specială organelor sistemului de reproducere. Puii care sunt eutanasiați în stare muribundă sau puii decedați, dacă nu sunt macerați, sunt examinați pentru determinarea posibilelor defecte și/sau a cauzei decesului și conservați.

Se examinează uterele tuturor femelelor primipare, astfel încât să nu se compromită examenul histopatologic, pentru determinarea prezenței și a numărului de locuri de implantare.

1.5.7. **Greutatea organelor**

În momentul sacrificării, se stabilește greutatea corporală și greutatea următoarelor organe ale tuturor animalelor din generațiile parentale P și F1 (organele pereche se cântăresc individual):

— uter, ovare;

— testicule, epididime (greutate totală și greutatea cozii);

— prostată;

— vezicule seminale cu glande coagulante și fluidele lor și prostată (împreună);

— creier, ficat, rinichi, splină, glandele pituitare, tiroidă și suprarenale, precum și organele țintă cunoscute.

Se stabilește greutatea corporală la sacrificare a puilor din generațiile F1 și F2 selectați pentru autopsie. Se cântăresc următoarele organe ale puiului/sexului/cuibului selectat aleatoriu (a se vedea secțiunea 1.5.6): creier, splină și timus.

Dacă este posibil, rezultatele autopsiei macroscopice și greutatea organelor se analizează în corelație cu observațiile altor studii cu doze repetate.

1.5.8. **Histopatologie**

1.5.8.1 *Animale din generațiile parentale*

Se fixează și se conversă într-un mediu adecvat pentru examenul histopatologic următoarele organe și țesuturi ale animalelor din generațiile parentale (P și F1), sau eșantioane reprezentative ale acestora:

— vagin, uter cu cervix și ovare (conservate într-un fixativ adecvat);

— un testicul (conservat în fixator Bouin sau fixator analog), un epididim, vezicule seminale, prostată și glanda coagulantă;

— organul sau organele țintă identificate anterior de la toate animalele P și F1 selectate pentru împerechere.

Se efectuează un examen histopatologic complet asupra organelor și țesuturilor conservate enumerate anterior de la toate animalele P și F1 selectate pentru împerechere din grupul martor și grupul tratat cu cea mai mare doză. Examinarea ovarelor animalelor P este opțională. Se examinează, de asemenea, organele care prezintă modificări corelate cu tratamentul de la grupurile tratate cu doza cea mai mică și o doză intermediară, pentru a facilita determinarea NOAEL. În plus, se efectuează un examen histopatologic asupra organelor de reproducere ale animalelor tratate cu doza cea mai mică și o doză intermediară care sunt suspectate de fertilitate scăzută, de exemplu, cele care nu s-au împerecheat, nu au conceput, nu au generat sau nu au fătat descendenți sănătoși sau la care au fost afectate ciclul estral sau numărul, motilitatea sau morfologia spermatozoizilor. Se examinează toate leziunile macroscopice, precum atrofia sau tumorile.

Se efectuează un examen histopatologic detaliat al testiculelor (utilizând, de exemplu, fixator Bouin, încapsulare în parafină și secțiuni transversale de 4-5 μm grosime), pentru a identifica efectele corelate cu tratamentul, precum retenția de spermatide, straturi sau tipuri de celule germinale absente, celule multinucleate gigant sau inserția celulelor spermatogene în lumen (14). Examinarea epididimului intact vizează capul, corpul și coada și se poate realiza prin examinarea unei secțiuni longitudinale. Se examinează epididimul pentru detectarea infiltrației de leucocite, modificarea tipurilor de celule preponderente, tipuri de celule aberante și fagocitoza spermatozoizilor. Pentru examinarea organelor masculine de reproducere se poate utiliza colorarea cu periodic acid Schiff (PAS) și hematoxilină.

În perioada de după alăptare, ovarul trebuie să conțină foliculi primordiali și foliculi în creștere, precum și marile corpuri galbene ale lactației. Examenul histopatologic relevă o scădere calitativă a populației de foliculi primordiali. Se efectuează o analiză cantitativă a foliculilor primordiali la femelele F1; numărul de animale, selectarea secțiunii ovariene și dimensiunea eșantionului de secțiuni trebuie să corespundă din punct de vedere statistic procedurii de evaluare utilizate. Examenul include numărarea foliculilor primordiali, care pot fi amestecați cu foliculi mici în creștere, pentru compararea uterelor tratate cu uterele martor (15) (16) (17) (18) (19).

1.5.8.2. *Pui înțărcați*

Se fixează și se conservă într-un mediu adecvat pentru examenul histopatologic țesuturile care prezintă anormalități macroscopice și organele țintă de la toți puii care prezintă anomalii externe sau semne clinice, precum și de la puiul/sexul/cuibul selectat aleatoriu din generațiile F1 și F2 care nu au fost selectați pentru împerechere. Se face o descriere histopatologică a țesuturilor conservate, acordându-se o atenție specială organelor sistemului de reproducere.

2. **DATE**

2.1. PRELUCRAREA REZULTATELOR

Datele se prezintă individual și sub forma unui rezumat tabelar, prezentându-se, pentru fiecare grup de tratament și fiecare generație, numărul de animale la începutul testului, numărul de animale găsite moarte în cursul testului sau eutanasiate, data decesului sau a eutanasierii, numărul de animale fertile, numărul de femele gestante, numărul de animale care prezintă semne de toxicitate, o descriere a semnelor de toxicitate observate, inclusiv momentul declanșării, durata și gravitatea efectelor toxice, tipul de observații asupra animalelor parentale și descendenților, tipul de modificări histopatologice și toate datele relevante privind cuiburile.

Datele numerice se evaluează printr-o metodă statistică adecvată, general acceptată; metodele statistice se selectează în etapa de concepere a studiului și se justifică. Modelele statistice doză-reacții pot fi utile pentru analiza datelor. Raportul trebuie să includă informații suficiente privind metoda de analiză și programul computerizat utilizate pentru ca un revizor/statistician independent să poată reevalua și reface analiza.

2.2. EVALUAREA REZULTATELOR

Rezultatele acestui studiu de toxicitate asupra reproducerii pe două generații se evaluează în funcție de efectele observate, inclusiv rezultatele autopsiei și ale examenului microscopic. Evaluarea include relația sau absența unei relații între doza de substanță de testat și prezența sau absența, incidența și gravitatea unor anomalii, inclusiv leziuni macroscopice, organe țintă identificate, efecte asupra fertilității, anomalii clinice, efecte asupra producerii și asupra performanțelor descendenților, modificări ale greutății corporale, efecte asupra mortalității și orice alte efecte toxice. La evaluarea rezultatelor se iau în considerare proprietățile fizico-chimice ale substanței de testat și, dacă sunt disponibile, date privind toxicocinetica.

Un test de toxicitate efectuat corespunzător generează o estimare satisfăcătoare a nivelului la care nu se observă efecte și permite înțelegerea efectelor adverse asupra reproducerii, fătării, alăptării și dezvoltării postnatale, inclusiv asupra creșterii și dezvoltării sexuale.

2.3. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Un studiu de toxicitate asupra reproducerii pe două generații furnizează informații privind efectele expunerii repetate la o substanță în toate etapele ciclului de reproducere. Studiul furnizează în special informații privind parametrii reproducerii și asupra dezvoltării, creșterii, maturizării și supraviețuirii descendenților. Rezultatele studiului se interpretează în strânsă legătură cu rezultatele studiilor de toxicitate subcronică, de toxicitate asupra dezvoltării intrauterine, de toxicocinetică și ale altor studii disponibile. Rezultatele acestui studiu pot fi utilizate pentru a se determina necesitatea efectuării altor teste asupra unei substanțe. Extrapolarea rezultatelor studiului la om este valabilă într-o măsură restrânsă. Rezultatele studiului sunt mai utile pentru a furniza informații privind nivelurile fără efecte adverse și nivelul admisibil de expunere umană (20) (21) (22) (23).

3. **RAPORTARE**

3.1. RAPORTUL TESTULUI

Raportul testului include următoarele informații.

Substanța de testat:

— natura fizică și, dacă sunt relevante, proprietățile fizico-chimice;

— date de identificare;

— puritate.

Vehicul (dacă este cazul):

— justificarea vehiculului ales, în cazul unui vehicul altul decât apa.

Animalele de experiență:

— specie/sușă utilizată;

— numărul, vârsta și sexul animalelor;

— sursă, condiții de adăpostire, hrană, materiale pentru construirea cuibului etc.;

— greutatea fiecărui animal la începutului testului.

Condiții de testare:

— motivație pentru nivelul selectat al dozei;

— detalii privind formula/includerea în hrană a substanței de testat, concentrația obținută;

— stabilitatea și omogenitatea preparatului;

— detalii privind administrarea substanței de testat;

— transformarea concentrației de substanță de testat în hrană/apa potabilă (ppm) în doza reală (mg/kg greutate corporală/zi), dacă este cazul;

— detalii privind calitatea hranei și a apei.

Rezultate:

— consumul de hrană și consumul de apă, dacă este disponibil, eficiența hranei (creștere a greutății corporale per gram de hrană consumată) și consumul de material testat la animalele P și F1, exceptând perioada de coabitare și cel puțin ultima treime a perioadei de alăptare;

— date privind absorbția (dacă sunt disponibile);

— date privind greutatea corporală a animalelor P și F1 selectate pentru împerechere;

— date privind greutatea cuibului și a puilor;

— greutatea corporală la sacrificare și date privind greutatea absolută și relativă a organelor la animalele parentale;

— natura, gravitatea și durata semnelor clinice (dacă sunt reversibile sau nu);

— data decesului în cursul studiului sau date privind animalele care au supraviețuit până la sacrificare;

— date privind reacția toxică în funcție de sex și doză, inclusiv indici de împerechere, fertilitate, gestație, fătare, viabilitate și alăptare; raportul prezintă cifrele utilizate pentru calcularea indicilor;

— efecte toxice sau de altă natură asupra reproducerii, descendenților, creșterii postnatale etc.;

— concluziile autopsiei;

— o descriere detaliată a tuturor observațiilor histopatologice;

— numărul de femele P și F1 cu ciclul normal și durata ciclului;

— numărul total de spermatozoizi în coada epididimului, procentul de spermatozoizi cu motilitate progresivă, procentajul de spermatozoizi normali din punct de vedere morfologic și procentajul de spermatozoizi pentru fiecare anomalie identificată;

— perioada până la împerechere, inclusiv numărul de zile până la împerechere;

— durata gestației;

— numărul de implantări, corpuri galbene, dimensiunea cuiburilor;

— numărul de pui născuți vii și pierderi după implantare;

— numărul de pui cu anomalii macroscopice, numărul de pui mai mici decât normal, dacă se determină;

— date privind reperele fizice la pui și alte date privind dezvoltarea postnatală; reperele fizice evaluate se justifică;

— date privind investigațiile funcționale la pui și adulți, după caz;

— prelucrarea statistică a rezultatelor, dacă este cazul.

Discutarea rezultatelor.

Concluzii, inclusiv valorile NOAEL pentru efectele asupra femelelor gestante și descendenți.

4. **REFERINȚE BIBLIOGRAFICE:**

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

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

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

(4) Klinefelter, G.R. et al., (1991). The Method of Sperm Collection Significantly Influences Sperm Motion Parameters Following Ethane Dimethanesulfonate Administration in the Rat. *Reproductive Toxicology* 5:39-44

(5) Seed, J. et al. (1996). Methods for Assessing Sperm Motility, Morphology, and Counts in the Rat, Rabbit, and Dog: a Consensus Report. *Reproductive Toxicology* 10(3):237-244.

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

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

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

(9) Slott, V.L. and Perreault, S.D., (1993). Computer-Assisted Sperm Analysis of Rodent Epididymal Sperm Motility Using the Hamilton-Thorn Motility Analyzer. In: *Methods in Toxicology*, Part A., Academic, Orlando, Florida, pp. 319-333.

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

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

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

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

(14) Russel1, L.D. et al., (1990). Histological and Histopathological Evaluation of the Testis, Cache River Press, Clearwater, Florida.

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

(16) Heindel, J.J. et al., (1989) Histological Assessment of Ovarian Follicle Number in Mice As a Screen of Ovarian Toxicity. In: Growth Factors and the Ovary, A.N. Hirshfield (ed.), Plenum, New York, pp. 421-426.

(17) Manson, J.M. and Y.J. Kang, (1989). Test Methods for Assessing Female Reproductive and Developmental Toxicology. In: Principles and Methods of Toxicology, A.W. Hayes (ed.), Raven, New York.

(18) Smith, B.J. et al,. (1991). Comparison of Random and Serial Sections in Assessment of Ovarian Toxicity. Reproductive Toxicology 5:379-383.

(19) Heindel, J.J. (1999). Oocyte Quantitation and Ovarian Histology. In: An Evaluation and Interpretation of Reproductive Endpoints for Human Health Risk Assessment, G. Daston,. and C.A. Kimmel, (eds.), ILSI Press, Washington, DC.

(20) Thomas, J. A. (1991). Toxic Responses of the Reproductive System. In: Casarett and Doull's Toxicology, M.O. Amdur, J. Doul1, and C.D. Klaassen (eds.), Pergamon, New York.

(21) Zenick, H. and E.D. Clegg, (1989). Assessment of Male Reproductive Toxicity: A Risk Assessment Approach. In: Principles and Methods of Toxicology, A.W. Hayes (ed.), Raven Press, New York.

(22) Palmer, A.K. (1981). In: Developmental Toxicology, Kimmel, C.A. and J. Buelke-Sam (eds.), Raven Press, New York.

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

ANEXA 2H

B.42. SENSIBILIZAREA DERMICĂ: TESTUL LOCAL PE GANGLIONII LIMFATICI

1. METODĂ

Această metodă de testare este echivalentă cu OCDE TG 429 (2002).

1.1. INTRODUCERE

Validarea și acceptarea testului local pe ganglionii limfatici (LLNA) sunt suficiente pentru a justifica adoptarea acestuia ca nouă metodă (1) (2) (3). Acesta reprezintă a doua metodă de evaluare a potențialului de sensibilizare dermică al substanțelor chimice la animale. Cealaltă metodă (B.6) implică teste pe cobai, în special testul de maximizare la cobai și testul Buehler (4).

LLNA reprezintă o metodă alternativă de identificare a substanțelor chimice care produc o sensibilizare dermică și de confirmare a faptului că substanțele chimice nu au un potențial semnificativ de sensibilizare dermică. Acest lucru nu înseamnă în mod necesar că LLNA trebuie utilizat întotdeauna în locul testului pe cobai, ci că acest test este de aceeași calitate și că poate fi utilizat ca o alternativă pentru care rezultatele pozitive sau negative nu necesită în general confirmări suplimentare.

LLNA oferă anumite avantaje atât legate de progresul științific, cât și în ceea ce privește bunăstarea animală. În cadrul testului se studiază etapa de inducere a sensibilizării dermice și sunt furnizate date cantitative adecvate pentru evaluarea relației doză-efect. Detaliile privind validarea LLNA și o prezentare a lucrărilor asociate sunt publicate (5) (6) (7) (8). În plus, trebuie avut în vedere faptul că agenții de sensibilizare slabi/moderați, recomandați ca substanțe martor pozitiv adecvate pentru metodele de testare pe cobai, sunt adecvați și pentru utilizarea în cadrul LLNA (6) (8) (9).

LLNA este o metodă *in vivo* și, în consecință, nu elimină utilizarea animalelor pentru evaluarea activității de sensibilizare prin contact. Cu toate acestea, metoda oferă posibilitatea de a reduce numărul de animale necesare în acest scop. În plus, LLNA permite îmbunătățirea considerabilă a modului în care sunt utilizate animalele pentru testele de sensibilizare prin contact. LLNA se bazează pe evaluarea evenimentelor imunologice stimulate de substanțele chimice pe parcursul etapei de inducere a sensibilizării. Spre deosebire de testele pe cobai, LLNA nu impune inducerea unor reacții de hipersensibilitate dermică provocate de o probă declanşatoare. În plus, spre deosebire de testul de maximizare la cobai, pentru LLNA nu este necesară utilizarea unui adjuvant. Astfel, LLNA reduce suferința animalelor. În ciuda avantajelor oferite de LLNA în comparație cu testele tradiționale pe cobai, trebuie avute în vedere și anumite limitări care pot face necesară utilizarea testelor tradiționale pe cobai (de exemplu rezultatele fals negative la LLNA pentru anumite metale, rezultatele fals pozitive pentru anumiți agenți iritanți dermici) (10).

A se vedea și Introducere partea B.

1.2. PRINCIPIUL METODEI DE TESTARE

LLNA se bazează pe principiul conform căruia agenții de sensibilizare induc o proliferare primară a limfocitelor din ganglionul limfatic care drenează zona în care a fost aplicată substanța chimică. Această proliferare este proporțională cu doza aplicată (și cu puterea alergenului) și constituie o metodă simplă pe baza căreia se pot efectua măsurători cantitative obiective ale sensibilizării. Prin LLNA această proliferare este evaluată ca relație doză-efect, comparându-se proliferarea la grupul tratat cu cea de la grupul martor tratat cu vehicul. Se determină raportul dintre proliferarea produsă la grupul tratat și cea produsă la grupul martor tratat cu vehicul, numit indice de stimulare, care trebuie să aibă cel puțin valoarea trei pentru ca o substanță de testat să poată fi evaluată în continuare ca potențial agent de sensibilizare dermică. Metodele descrise în prezentul document se bazează pe utilizarea marcării radioactive pentru măsurarea proliferării celulare. Cu toate acestea, pentru evaluarea proliferării se pot utiliza și alte criterii, cu condiția să existe justificări și dovezi științifice adecvate, inclusiv citări și descrieri complete ale metodologiei.

1.3. DESCRIEREA METODEI DE TESTARE

1.3.1 **Pregătire**

1.3.1.1. *Condiții de adăpostire și de hrănire*

Animalele se adăpostesc în incinte individuale. Temperatura sălii în care se află animalele de experiență trebuie să fie de 22 °C (±3 °C). Deși umiditatea relativă trebuie să fie de cel puțin 30 % și preferabil să nu depășească 70 % decât în timpul operațiunilor de curățare a sălii, obiectivul pentru umiditate este ca aceasta să fie de 50-60 %. Iluminatul trebuie să fie artificial și se alternează 12 ore de lumină cu 12 ore de întuneric. Ca hrană se pot utiliza regimuri alimentare convenționale de laborator și o cantitate de apă nelimitată.

1.3.1.2. *Pregătirea animalelor*

Animalele se selectează aleatoriu, se marchează pentru a putea fi identificate individual (dar nu se folosește nici un tip de crotalie) și se țin în cuștile lor timp de cel puțin 5 zile înainte de a se începe administrarea dozei astfel încât să se aclimatizeze la condițiile de laborator. Toate animalele sunt examinate înainte de începerea tratamentului, pentru a se stabili că nu prezintă leziuni observabile la nivel dermic.

1.3.2. **Condiții de testare**

1.3.2.1. *Animalele de experiență*

Specia preferată pentru acest test este șoarecele. Se folosesc femele adulte din rasa CBA/Ca sau CBA/J, nulipare și care nu sunt însărcinate. La începutul studiului, animalele trebuie să aibă între 8-12 săptămâni, iar diferențele de greutate dintre ele trebuie să fie minime și să nu depășească 20 % din greutatea medie. Se pot utiliza și alte soiuri și masculi dacă se generează suficiente date pentru a demonstra că nu există diferențe semnificative în răspunsul la llNA specifice rasei și/sau sexului.

1.3.2.2. *Verificarea fiabilității*

Grupul martor pozitiv se folosește pentru a demonstra că testul a fost realizat corect și că laboratorul îl poate realiza cu succes. Grupul martor pozitiv trebuie să prezinte un răspuns pozitiv la LLNA la un nivel de expunere care se consideră că determină o creștere a indicelui de stimulare (IS) > 3 față de grupul martor negativ. Doza administrată grupul martor pozitiv trebuie aleasă astfel încât inducerea răspunsului să fie evidentă, dar nu excesivă. Substanțele preferate sunt aldehida hexil-cinamică (nr. CAS 101-86-0, nr. EINECS 202-983-3) și mercaptobenzotiazolul (nr. CAS 149-30-4, nr. EINECS 205-736-8). În unele situații și pe bază de justificări adecvate se pot utiliza alte substanțe martor care îndeplinesc criteriile menționate anterior. Deși de obicei pentru fiecare test este necesar un grup martor pozitiv, este posibil ca în anumite situații laboratoarele de testare să aibă la dispoziție date istorice privind grupurile martor pozitiv care să ateste obținerea constantă a unui răspuns satisfăcător pe parcursul unei perioade de șase luni sau mai mare. În astfel de situații se pot efectua teste cu o frecvență mai redusă pe grupul martor pozitiv, dar la intervale de cel mult 6 luni. Deși substanța martor pozitiv trebuie testată împreună cu un vehicul despre care se știe că va provoca un răspuns constant (de exemplu acetonă, ulei de măsline), este posibil să existe și situații prevăzute de lege în care este necesară și testarea cu un vehicul non-standard (preparat cu relevanță clinică/chimică). În astfel de situații trebuie testată posibila interacțiune dintre substanța martor pozitiv și acest vehicul neconvențional.

1.3.2.3. *Numărul de animale, nivelurile dozelor și selectarea vehiculului*

Fiecare grup tratat trebuie să fie format din minimum patru animale și se folosesc cel puțin trei concentrații ale substanței de testat plus un grup martor negativ tratat numai cu vehiculul utilizat împreună cu substanța de testat și, dacă este cazul, un martor pozitiv. Dacă se colectează date individuale privind animalele se folosesc cel puțin cinci animale în fiecare grup tratat. Animalele din grupul martor trebuie manipulate și tratate în mod identic cu animalele din grupurile tratate, cu excepția faptului că nu li se administrează tratamentul cu substanța de testat.

Doza și vehiculul se aleg pe baza recomandărilor din cadrul referințelor (1). Dozele se aleg din gama de concentrații de 100 %, 50 %, 25 %, 10 %, 5 %, 2,5 %, 0,5 % etc. Dacă există, datele privind toxicitatea acută și iritația dermică trebuie avute în vedere la alegerea celor trei concentrații consecutive astfel încât cea mai mare să maximizeze expunerea evitând în același timp toxicitatea sistemică și iritația dermică locală excesivă (2) (11).

Vehiculul trebuie selectat astfel încât să maximizeze concentrațiile de testare și solubilitatea, producând în același timp și o soluție/suspensie adecvată pentru aplicarea substanței de testat. În ordinea preferințelor, vehiculele recomandate sunt: acetonă/ulei de măsline (4:1 v/v), dimetilformamidă, metil etil cetonă, propilen glicol și dimetil sulfoxid (2)(10), dar se pot utiliza și altele dacă sunt furnizate justificări științifice suficiente. În anumite situații este posibil să fie necesară utilizarea unui solvent cu relevanță clinică sau a unui preparat comercial sub forma căruia este comercializată substanța de testat ca martor suplimentar. Trebuie acordată o atenție specială pentru ca materialele hidrofile să fie încorporate într-un sistem vehicul care să umezească pielea și să nu curgă imediat. Astfel, vehiculele formate numai din apă trebuie evitate.

1.3.3. **Procedura de testare**

1.3.3.1. *Programarea experimentului*

Pentru acest test programarea experimentului este următoarea:

- *Ziua 1:*

  Se determină și se identifică greutatea fiecărui animal în parte. Se aplică 25 µl de substanță de test diluată în mod adecvat, numai sistemul vehicul sau martorul pozitiv (după caz) în regiunea dorsală a fiecărei urechi.

- *Zilele 2 și 3:*

  Se repetă procedura de aplicare efectuată în ziua 1.

- *Zilele 4 și 5:*

  Nu se aplică tratament.

- *Ziua 6:*

  Se înregistrează greutatea fiecărui animal. Li se injectează 250 µl de ser fiziologic tamponat cu fosfat (PBS) conținând 20 µCi (7,4e + 8 Bq) de ^{3}H-metil timidină tuturor șoarecilor de experiență și celor din grupul martor prin vena codală. Alternativ, tuturor șoarecilor li se injectează 250 µl PBS conținând 2 µCi (7,4e + 8 Bq) de ^{125}I-iododeoxiuridină și 10^{-5} M fluorodeoxiuridină prin vena codală.

  După cinci ore, animalele sunt sacrificate. Se excizează ganglionii limfatici auriculari de drenare de la fiecare ureche de la toate animalele dintr-un grup experimental și se păstrează împreună în PBS (metodă colectivă la nivel de grup tratat); alternativ, se pot exciza perechi de ganglioni limfatici de la fiecare animal care se păstrează separat în PBS (metodă individuală la nivel de animal). Anexa I, referința 10 conține detalii și diagrame privind identificarea și disecția ganglionilor.

1.3.3.2. *Prepararea suspensiilor celulare*

Se prepară o singură suspensie celulară conținând celule din ganglionii limfatici fie de la un întreg grup tratat, fie de la un singur animal, printr-o separare mecanică ușoară realizată cu ajutorul unei site din oțel inoxidabil cu ochiuri de 200 μm. Celulele din ganglionii limfatici se spală de două ori cu PBS în exces și se precipită cu o soluție de acid tricloracetic (TCA) 5 % la 4 °C timp de 18 h (2). Granulele se suspendă din nou în 1 ml de soluție de acid tricloracetic și se transferă în flacoane de scintilație conținând 10 ml de fluid de scintilație pentru determinarea tritiului ^{3}H, sau se transferă direct în tuburile cu raze gama pentru determinarea iodului ^{125}I.

1.3.3.3. *Determinarea proliferării celulare (radioactivitate încorporată)*

Încorporarea de ^{3}H-metil timidină se măsoară prin determinarea β-scintilației, în dezintegrări pe minut (DPM). Încorporarea de ^{125}I-iododeoxiuridină se măsoară prin determinarea ^{125}I-iododeoxiuridinei și se exprimă de asemenea în DPM. În funcție de metoda utilizată, încorporarea se exprimă ca DPM/grup tratat (metoda colectivă la nivel de grup) sau în DPM/animal (metoda individuală la nivel de animal).

1.3.3.4. *Observații*

1.3.3.4.1. Observații clinice

Animalele se examinează atent o dată pe zi pentru identificarea oricăror semne clinice, fie iritații la locul aplicării, fie toxicitate sistemică. Toate observațiile se consemnează sistematic în înregistrările individuale pentru fiecare animal.

1.3.3.4.2. Greutatea corporală

După cum se arată în secțiunea 1.3.3.1, greutatea corporală a fiecărui animal se măsoară la începutul testului și în momentul prevăzut pentru sacrificare.

1.3.4. **Calcularea rezultatelor**

Rezultatele se exprimă ca indice de stimulare (IS). Dacă se folosește metoda colectivă, IS se obține prin împărțirea încorporării radioactive colective înregistrate de fiecare grup tratat la încorporarea înregistrată de grupul martor tratat cu vehicul; astfel se calculează un IS mediu. Dacă se folosește metoda individuală, IS se determină prin împărțirea valorii medii a DPM/animal din fiecare grup tratat cu substanța de testat și a valorii medii pentru grupul martor pozitiv la valoarea medie a DPM/animal din grupul martor tratat cu vehicul. Indicele de stimulare mediu pentru grupul martor tratat cu vehicul are valoarea 1.

Utilizarea metodei individuale de calculare a IS permite efectuarea unei analize statistice a datelor. Pentru alegerea metodei adecvate de analiză statistică, experimentatorul trebuie să aibă în vedere posibilele inegalități la nivelul variațelor și alte probleme conexe care ar putea impune transformarea datelor sau o analiză statistică non-parametrică. O bună modalitate de interpretare a datelor constă din evaluarea tuturor datelor individuale obținute pentru grupurile tratate și pentru grupurile martor tratate cu vehicul urmată de determinarea celei mai adecvate curbe care descrie relația doză-efect, având în vedere pragurile de încredere (8) (12) (13). Cu toate acestea, experimentatorul trebuie să acorde atenție posibilelor reacții „excepționale" prezentate de unele animale dintr-un grup, care ar putea impune utilizarea unui mod alternativ de măsurare a reacțiilor (de exemplu mediana în locul mediei) sau eliminarea reacției excepționale.

O reacție este considerată pozitivă dacă indicele de stimulare este ≥ 3, luându-se în considerare relația doză-efect și, dacă este cazul, semnificația statistică (3) (6) (8) (12) (14).

Dacă rezultatele obținute nu sunt suficient de concludente, trebuie examinate diversele proprietăți ale substanței de testat, inclusiv dacă prezintă similitudini structurale cu agenți cunoscuți de sensibilizare dermică și dacă provoacă iritații cutanate excesive, precum și relația doză-efect observată. Aceste considerații, precum și altele, sunt discutate în detaliu în alt document (7).

2. **DATE**

Datele trebuie recapitulate sub formă de tabel, precizându-se valorile DPM medii și individuale și indicii de stimulare pentru fiecare grup tratat (inclusiv grupul martor tratat cu vehicul).

3. **RAPORTARE**

3.1 RAPORTUL TESTULUI

Raportul testului trebuie să conțină următoarele informații.

Substanța de testat:

— date de identificare (de exemplu numărul CAS, dacă se cunoaște; sursa; puritatea; impuritățile cunoscute; numărul grupului);

— starea fizică și proprietățile fizice și chimice (de exemplu volatilitatea, stabilitatea, solubilitatea);

— în cazul amestecurilor, compoziția și procentul fiecărui constituent.

Vehiculul:

— date de identificare [puritate; concentrație (dacă este cazul); volum utilizat];

— justificarea alegerii vehiculului.

Animale de experiență

— linia de șoareci utilizată;

— statutul microbiologic al animalelor, dacă se cunoaște;

— numărul, vârsta și sexul animalelor;

— sursa animalelor, condițiile de adăpostire, regimul alimentar etc.

Condiții de testare

— detalii privind prepararea și aplicarea substanței de testat;

— justificarea dozei alese, inclusiv rezultatele studiului prin care a fost stabilit intervalul de dozare, dacă este cazul; concentrațiile vehiculului și ale substanței de testat utilizate și cantitatea totală de substanță aplicată;

— detalii privind calitatea hranei și a apei (inclusiv tipul/sursa regimului alimentar, sursele de apă).

Verificarea fiabilității

— un rezumat al rezultatelor obținute la ultima verificare a fiabilității, inclusiv informații privind substanța, concentrația și vehiculul utilizat;

— date concomitente și/sau istorice privind martorii pozitivi și negativi utilizate de laboratorul de testare.

Rezultate:

— greutatea fiecărui animal la începutul testului și în momentul prevăzut pentru sacrificare;

— tabloul valorilor DPM medii (pentru metoda colectivă) și individuale (metoda individuală) precum și intervalul de valori pentru ambele metode și indicii de stimulare pentru fiecare grup tratat (inclusiv grupul martor tratat cu vehicul);

— analiza statistică, dacă este cazul;

— momentul declanșării și semnele de toxicitate, inclusiv iritația dermică la locul administrării, dacă este cazul, pentru fiecare animal.

Discutarea rezultatelor:

— un scurt comentariu privind rezultatele, analiza relației doză-efect și analize statistice, dacă este cazul, și o concluzie care să indice dacă substanța de testat trebuie considerată agent de sensibilizare dermică.

4. **REFERINȚE BIBLIOGRAFICE:**

(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 inter laboratory exercise. Journal of Toxicology and Environmental Health, 53, 563-79.

(4) Metoda de testare 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, T. and loveless, S.E (1 996). 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: employement of a regression method that includes determination of uncertainty margins. Toxicology, 146, 49-59.

(9) Dearman, R.J., Hilton, J., Evans, P., Harvey, P., Basketter, D.A. 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) Metoda de testare 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 sensitisers in the maximisation, Buehler and local lymph node assays. Food and Chemical Toxicology, 31, 63-67.

(13) Basketter D.A., Lea L.J., Dickens A., Briggs D., Pate I., Dearman R.J., Kimber I. (1999). A comparison of statistical approaches to the derivation of EC_3 values from local lymph node assay dose responses. J. Appl. Toxicology, 19, 261-266.

(14) Basketter DA, Blaikie L, Derman RJ, Kimber T, Ryan CA, Gerberick GF, Harvey P, Evans P, White IR and Rycroft RTG (2000). Use of local lymph node assay for the estimation of relative contact allergenic potency. Contact Dermatitis 42, 344-48.

B.43. STUDII DE NEUROTOXICITATE PE ROZĂTOARE

1. METODĂ

Această metodă de testare este echivalentă cu OCDE TG 424 (1997).

Această metodă de testare a fost elaborată în vederea obținerii informațiilor necesare pentru a confirma sau pentru a caracteriza mai eficient potențiala neurotoxicitate a unei substanțe la animale adulte. Poate fi utilizată împreună cu alte metode de testare în cadrul studiilor de toxicitate cu doză repetată sau în cadrul unui studiu separat. Se recomandă consultarea orientărilor OCDE privind strategiile și metodele de testare a neurotoxicității (1) pentru elaborarea studiilor bazate pe această metodă de testare. Acest lucru este deosebit de important dacă se anticipează modificarea observațiilor și a procedurilor de testare recomandate în mod obișnuit pentru această metodă. Orientările au fost elaborate pentru facilita alegerea altor proceduri de testare care urmează să fie utilizate în împrejurări speciale. Această metodă nu este destinată evaluării neurotoxicității asupra dezvoltării.

1.1. INTRODUCERE

Pentru evaluarea caracteristicilor toxice ale produselor chimice trebuie avute în vedere posibilele efecte neurotoxice. Metoda de testare a toxicității sistemice cu doză repetată permite o primă triere a substanțelor care ar putea fi neurotoxice. Această metodă de testare poate fi utilizată pentru elaborarea unui studiu destinat obținerii de informații suplimentare privind efectele neurotoxice observate în cadrul studiilor de toxicitate sistemică cu doză repetată sau confirmării acestora. Cu toate acestea, în unele cazuri, potențiala neurotoxicitate a anumitor categorii de substanțe chimice poate fi evaluată în mod mai adecvat direct prin aplicarea acestei metode, fără colectarea în prealabil a indicațiilor care pot fi oferite de studiile de toxicitate sistemică cu doză repetată. Aici sunt incluse, de exemplu, cazurile în care:

- sunt observate semne de neurotoxicitate sau leziuni neuropatologice în cadrul studiilor de toxicitate, altele decât studiile de toxicitate sistemică cu doză repetată sau
- substanțele prezintă asemănări de structură sau există alte informații privind existența unor caracteristici comune cu substanțe neurotoxice cunoscute.

În plus, utilizarea acestei metode poate fi adecvată și în alte cazuri; pentru mai multe informații a se vedea (1).

Această metodă a fost elaborată astfel încât să poată fi adaptată în funcție de diverse nevoi specifice privind confirmarea neurotoxicității histopatologice și comportamentale a unei substanțe chimice, precum și pentru a oferi o caracterizare și o cuantificare a reacției neurotoxice.

În trecut, neurotoxicitatea era asimilată unei neuropatii implicând leziuni neuropatologice sau disfuncții neurologice, cum ar fi convulsiile, paralizia sau tremurul. Deși neuropatia reprezintă o manifestare importantă a neurotoxicității, în prezent este evident că mai există multe alte semne de toxicitate la nivelul sistemului nervos (de exemplu pierderea coordonării motorii, deficiențe senzoriale, diminuarea capacității de învățare și a memoriei) care nu sunt întotdeauna evidențiate de studiile asupra neuropatiei sau de alte tipuri de studii.

Această metodă de testare a neurotoxicității a fost elaborată în vederea detectării efectelor neurocomportamentale și neuropatologice importante la rozătoare adulte. Deși efectele la nivelul comportamentului pot indica un impact negativ asupra organismului chiar și în absența unor modificări morfologice, nu toate modificările la nivelul comportamentului sunt specifice sistemului nervos. În consecință, toate modificările observate trebuie evaluate având în vedere și datele histopatologice, hematologice sau biochimice corespondente, precum și datele privind alte tipuri de toxicitate sistemică. Testele care trebuie realizate în cadrul acestei metode pentru caracterizarea și cuantificarea reacțiilor neurotoxice cuprind proceduri histopatologice și comportamentale specifice care pot fi completate prin investigații electrofiziologice și/sau biochimice (1) (2) (3) (4).

Substanțele neurotoxice pot acționa asupra mai multor ținte din cadrul sistemului nervos prin mai multe mecanisme. Deoarece nu se poate elabora o singură serie de teste care să permită o evaluare aprofundată a potențialului neurotoxic al tuturor substanțelor, poate fi necesară și efectuarea altor teste *in vivo* sau *in vitro* specifice tipurilor de neurotoxicitate studiate sau preconizate.

Această metodă de testare poate fi utilizată de asemenea împreună cu indicațiile prevăzute în orientările OCDE privind strategiile și metodele de testare a neurotoxicității (1) în vederea elaborării de studii destinate unei mai bune caracterizări și cuantificări a relației doză-efect pentru o mai bună estimare a nivelului concentrației la care nu se observă nici un efect advers sau pentru a pune în evidență pericolele cunoscute sau potențiale prezentate de substanța respectivă. De exemplu pot fi elaborate studii destinate identificării și evaluării mecanismului sau mecanismelor neurotoxice sau completării datelor deja obținute prin protocoalele de observație neurocomportamentale și neuropatologice de bază. Prin aceste studii nu trebuie să se încerce obținerea acelorași date care ar fi obținute oricum prin utilizarea protocoalelor standard recomandate pentru această metodă dacă datele respective sunt deja disponibile și nu sunt considerate necesare pentru interpretarea rezultatelor studiului.

Informațiile oferite de acest test de neurotoxicitate, efectuat independent sau în combinație cu alte teste, permit:

- determinarea caracterului permanent sau reversibil al efectelor substanței chimice asupra sistemului nervos;
- o mai bună caracterizare a alterărilor de la nivelul sistemului nervos asociate expunerii la substanța chimică și o mai bună înțelegere a mecanismelor care stau la baza acestora;
- determinarea relației doză-efect și timp-efect în vederea estimării nivelului concentrației la care nu se observă nici un efect advers (care se poate utiliza pentru stabilirea criteriilor de siguranță pentru substanța chimică respectivă).

În cadrul acestei metode de testare, substanța de testat se administrează pe cale orală. Dacă sunt mai adecvate alte căi de administrare (de exemplu dermică sau prin inhalare), este posibil să se impună și modificarea procedurilor recomandate. Alegerea căii de administrare depinde de tipul expunerii la om și de informațiile toxicologice și cinetice disponibile.

1.2. DEFINIȚII

Efect advers: orice alterare față de nivelul de referință provocată de tratament și care reduce capacitatea de supraviețuire, de reproducere sau de adaptare la mediu a organismului.

Doză: cantitatea de substanță de testat administrată. Doza se exprimă ca greutate (g, mg) a substanței de testat sau ca greutate a substanței de testat pe unitatea de greutate corporală a animalului de experiență (de exemplu mg/kg) sau sub formă de concentrație alimentară constantă (ppm).

Dozare: termen general care desemnează doza administrată, frecvența și durata administrării.

Neurotoxicitate: modificare adversă a structurii sau a funcției sistemului nervos provocată de expunerea la un agent chimic, biologic sau fizic.

Substanță neurotoxică: orice agent chimic, biologic sau fizic care poate provoca neurotoxicitate.

NOAEL: abrevierea pentru nivelul dozei fără efect advers vizibil; reprezintă nivelul cel mai mare al dozei la care nu se observă nici un efect advers provocat de tratament.

1.3. PRINCIPIUL METODEI DE TESTARE

Substanța de testat se administrează pe cale orală sub forma mai multor doze mai multor grupuri de rozătoare de experiență. În general, se administrează doze repetate, în cadrul unui regim de dozare de 28 de zile, subcronic (90 de zile) sau cronic (1 an sau mai mult). Procedura descrisă în cadrul acestei metode poate fi utilizată și pentru studiile de neurotoxicitate acută. Animalele sunt testate în vederea detectării sau a caracterizării anomaliilor comportamentale și/sau neurologice. Pe parcursul fiecărei perioade de observație se evaluează diferite aspecte ale comportamentului care pot fi afectate de substanțe neurotoxice. La sfârșitul testului se perfuzează *in situ* animale de fiecare sex din fiecare grup și li se recoltează în vederea preparării și a examinării secțiuni din creier, din măduva spinării și din nervii periferici.

Dacă studiul se realizează independent în vederea depistării neurotoxicității sau a caracterizării efectelor neurotoxice, animalele din fiecare grup care nu sunt utilizate pentru perfuzare și pentru examenul histopatologic ulterior (a se vedea tabelul 1) pot fi utilizate pentru diferite proceduri neurocomportamentale, neurochimice sau electrofiziologice pe baza cărora se pot completa datele colectate în cadrul examinărilor standard impuse de această metodă (1). Aceste examinări suplimentare pot fi deosebit de utile în cazurile în care observațiile empirice sau efectele anticipate sugerează un tip specific de neurotoxicitate sau o țintă a neurotoxicității substanței. Restul animalelor pot fi de asemenea utilizate pentru evaluări de tipul celor din cadrul metodelor de testare din studiile de toxicitate cu doză repetată pe rozătoare.

Dacă procedurile din cadrul acestei metode sunt combinate cu cele din cadrul altor metode, trebuie să se prevadă un număr de animale suficient pentru realizarea observațiilor impuse de ambele studii.

1.4. DESCRIEREA METODEI DE TESTARE

1.4.1. **Alegerea speciei de animale**

Specia preferată de rozătoare este șobolanul, deși se pot utiliza și alte specii, dacă se justifică alegerea. Se folosesc rase de experiență, alegându-se animale adulte tinere și sănătoase. Femelele trebuie să fie nulipare și să nu fie însărcinate. Administrarea dozelor trebuie să înceapă cât mai curând posibil după înțărcare, preferabil înainte ca animalele să împlinească vârsta de șase săptămâni și în orice caz înainte de atingerea vârstei de nouă săptămâni. Cu toate acestea, dacă acest studiu se realizează în combinație cu altele, este posibil să fie necesară ajustarea acestei Limite de vârstă. La începutul studiului diferențele de greutate dintre animalele utilizate nu trebuie să depășească ± 20 % din greutatea medie a fiecărui sex. Dacă se realizează un studiu de scurtă durată cu doză repetată ca test preliminar pentru un studiu pe termen lung, în ambele studii se folosesc animale din aceeași sușă și din aceeași sursă.

1.4.2. **Condiții de adăpostire și de hrănire**

Temperatura sălii în care se află animalele de experiență trebuie să fie de 22 °C (±3 °C). Deși umiditatea relativă trebuie să fie de cel puțin 30 % și preferabil să nu depășească 70 % decât în timpul operațiunilor de curățare a sălii, obiectivul pentru umiditate este ca aceasta să fie de 50-60 %. Iluminatul trebuie să fie artificial, și se alternează 12 ore de lumină și 12 ore de întuneric. Sunetele puternice intermitente trebuie reduse la minimum. Ca hrană se pot utiliza regimuri alimentare convenționale de laborator și o cantitate nelimitată de apă potabilă. Alegerea regimului alimentar poate fi influențată de faptul că în acesta trebuie adăugată și substanța de testat, dacă se administrează prin această metodă. Animalele pot fi găzduite în cuști fie individual, fie în grupuri mici de același sex.

1.4.3. **Pregătirea animalelor**

Se aleg aleatoriu animal tinere și sănătoase care se împart în grupul tratat și în grupul martor. Cuștile trebuie aranjate astfel încât să se reducă la minimum posibilele efecte provocate de această aranjare. Animalele se marchează individual astfel încât să poată fi identificate și se păstrează în cuști timp de cel puțin 5 (cinci) zile înainte de începerea studiului pentru a permite aclimatizarea la condițiile de laborator.

1.4.4. **Calea de administrare și pregătirea dozelor**

În cadrul acestei metode substanța de testat se administrează pe cale orală. Substanța de testat se poate administra prin gavaj, prin alimentație, prin apa potabilă sau prin capsule. Se pot utiliza și alte căi de administrare (de exemplu dermică sau prin inhalare), dar este posibil să fie necesară modificarea procedurilor recomandate. Alegerea căii de administrare depinde de tipul expunerii la om și de informații toxicologice și cinetice disponibile. Alegerea căii de administrare precum și eventualele modificări aduse procedurilor din cadrul acestei metode de testare trebuie justificate.

Dacă este necesar, substanța de testat se poate dizolva sau suspenda într-un vehicul adecvat. Se recomandă utilizarea de soluții sau suspensii apoase, și numai dacă acest lucru nu este posibil, utilizarea de soluții/suspensii în ulei (de exemplu ulei de porumb) sau, ca soluție de ultimă instanță, utilizarea de soluții/suspensii în care se folosesc alte vehicule. Proprietățile toxice ale vehiculului trebuie să fie cunoscute. În plus, trebuie avute în vedere și următoarele caracteristici ale vehiculului: efectele acestuia asupra absorbției, distribuției, metabolismului sau retenției substanței de testat care i-ar putea afecta caracteristicile toxice și efectele asupra consumului de hrană sau de apă sau asupra stării de nutriție a animalului.

1.5. PROCEDURI

1.5.1. **Numărul și sexul animalelor**

Dacă studiul se realizează independent, se folosesc cel puțin 20 de animale (10 femele și 10 masculi) pentru fiecare grup tratat sau grup martor pe care se vor realiza observații clinice și funcționale. La sfârșitul studiului, dintre cei zece masculi și cele zece femele se selectează cel puțin cinci masculi și cinci femele care sunt perfuzați *in situ* și supuși unui examen neuro-histopatologic detaliat. Dacă se observă doar un număr limitat de animale dintr-un grup tratat în vederea detectării efectelor neurotoxice, animalele în cauză trebuie să fie printre cele perfuzate. Dacă studiul se realizează împreună cu un studiu de toxicitate cu doză repetată, se folosește un număr adecvat de animale care permite îndeplinirea obiectivelor ambelor studii. În tabelul 1 este indicat numărul minim de animale din fiecare grup necesar pentru diferite combinații de studii. Dacă este prevăzută scarificarea unor animale înainte de finalizarea studiului sau constituirea unor grupuri pe care să se observe reversibilitatea efectelor, persistența sau survenirea efectelor toxice cu întârziere după tratare, sau dacă se preconizează realizarea unor observații suplimentare, numărul de animale trebuie majorat astfel încât să fie suficient pentru efectuarea observațiilor și a examenelor histopatologice.

1.5.2. **Grupul tratat şi grupul martor**

Ca regulă generală, trebuie să existe cel puțin trei grupuri tratate, dar dacă din evaluarea altor date disponibile rezultă că administrarea repetată a unei doze de 1 000 mg/kg greutate corporală/zi nu are nici un efect, se poate realiza un test limită. Dacă nu sunt disponibile date adecvate, se poate realiza un studiu preliminar destinat stabilirii nivelurilor dozelor care trebuie utilizate. Exceptând tratamentul cu substanța de testat, animalele din grupul martor se tratează în mod identic cu animalele din grupul tratat. Dacă substanța de testat se administrează cu ajutorul unui vehicul, grupul martor trebuie să primească, de asemenea, un volum de vehicul egal cu cel mai mare volum utilizat pentru grupul tratat.

1.5.3. **Verificarea fiabilității**

Laboratorul care realizează studiul trebuie să prezinte date care demonstrează capacitatea sa de a realiza studiul și sensibilitatea metodelor utilizate. Aceste date trebuie să dovedească posibilitatea de detectare și cuantificare, după caz, a diferitelor criterii recomandate, de exemplu reacții neurovegetative, reactivitate senzorială, forță de prehensiune și activitate motorie. Referințele (2)-(9) conțin informații privind substanțele care provoacă diferite tipuri de reacții neurotoxice și care pot fi utilizate ca substanțe martor pozitiv. Se pot utiliza și date istorice, cu condiția ca elementele principale ale procedurilor experimentale să rămână aceleași. Se recomandă actualizarea periodică a datelor istorice. De fiecare dată când laboratorul modifică un element esențial al testelor sau al metodelor trebuie să se obțină date noi care să demonstreze că sensibilitatea procedurii se menține.

1.5.4. **Alegerea dozei**

Nivelurile dozelor trebuie alese având în vedere toate datele disponibile privind toxicitatea și cinetica substanței de testat sau ale substanțele înrudite. Se alege cea mai mare doză pentru a provoca efecte neurotoxice sau efecte de toxicitate sistemică evidente. În continuare se alege o serie de doze descrescătoare pentru a se pune în evidență o eventuală relație doză-efect și absența nivelului dozei fără efect advers vizibil (NOAEL) la cel mai mic nivel al dozei. În principiu nivelurile dozelor trebuie alese astfel încât efectele neurotoxice primare de la nivelul sistemului nervos să poată fi deosebite de efectele legate de toxicitatea sistemică. Cea mai bună soluție constă de multe ori din alegerea a două sau trei intervale, iar adăugarea unui al patrulea interval este adesea preferabilă utilizării unor intervale foarte mari (de exemplu care depășesc factorul 10) între dozaje. Dacă există estimări realiste privind expunerea umană, acestea trebuie, de asemenea, luate în considerare.

1.5.5. **Testul limită**

Dacă un studiu cu o doză de cel puțin 1 000 mg/kg greutate corporală/zi realizat în conformitate cu metoda descrisă anterior nu provoacă nici un efect neurotoxic observabil și dacă datele privind compușii cu structură asemănătoare sugerează că este puțin probabil ca substanța să fie toxică, se poate considera că nu este necesară realizarea unui studiu cu trei niveluri de dozare. În funcție de expunerea umană anticipată, este posibil să fie necesară mărirea dozei orale administrate în cadrul testului limită. Pentru celelalte căi de administrare, cum sunt inhalarea și aplicarea dermică, nivelul maxim posibil de expunere este adesea determinat de proprietățile fizice și chimice ale substanței de testat. Pentru studiile orale acute, doza din cadrul testului limită trebuie să fie de cel puțin 2 000 mg/kg.

1.5.6. **Administrarea dozelor**

Animalelor li se administrează substanța de testat în fiecare zi, șapte zile pe săptămână, timp de cel puțin 28 de zile; administrarea timp de cinci zile pe săptămână sau alegerea unei perioade mai scurte de expunere trebuie justificate. Dacă substanța de testat se administrează prin gavaj, animalele trebuie să primească o doză unică, introdusă cu ajutorul unei sonde gastrice sau al unei canule de intubație adecvate. Volumul maxim de lichid care poate fi administrat o dată depinde de dimensiunea animalelor de experiență. Acest volum nu trebuie să depășească 1 ml/100 g greutate corporală. Cu toate acestea, în cazul soluțiilor apoase se pot utiliza până la 2 ml/100 g greutate corporală. Cu excepția cazului substanțelor iritante sau corozive care produc efecte exacerbate în concentrații mai mari, variațiile volumului administrat trebuie reduse la minimum prin ajustarea concentrației astfel încât să se mențină un volum constant la toate nivelurile dozei.

În cazul substanțelor administrate prin intermediul hranei sau al apei de potabile este important ca bilanțul nutrițional sau hidric normal să nu fie afectat de cantitatea de substanță utilizată. Dacă substanța de testat se administrează prin hrană fie sub forma unei concentrații constante în alimentație (ppm), fie sub forma unei doze constante în raport cu greutatea corporală a animalului, există două posibilități; trebuie să se precizeze alternativa utilizată. Dacă substanța se administrează prin gavaj, doza se administrează în fiecare zi aproximativ la aceeași oră, și se ajustează după cum este necesar pentru a menține un nivel constant al dozei în raport cu greutatea corporală a animalului. Dacă se realizează un studiu cu doză repetată ca studiu preliminar în vederea realizării unui studiu pe termen lung, în cadrul ambelor studii trebuie să se folosească regimuri alimentare similare. În cadrul studiilor de toxicitate acută, dacă nu se poate administra o doză unică, aceasta poate fi administrată în părți mai mici pe parcursul unei perioade de cel mult 24 de ore.

1.6. OBSERVAȚII

1.6.1. **Frecvența observațiilor și a testelor**

În cadrul studiilor cu doză repetată, perioada de observație trebuie să acopere întreaga perioadă de tratament. În cadrul studiilor de toxicitate acută, observațiile se realizează pe parcursul unei perioade de 14 zile post-tratament. Și animalele din grupurile satelit care nu sunt expuse pe parcursul unei perioade post-tratament trebuie observate pe parcursul aceleiași perioade.

Observațiile trebuie să fie suficient de frecvente pentru a maximiza probabilitatea de detectare a oricăror anomalii comportamentale și/sau neurologice. Observațiile se realizează de preferință în fiecare zi la aceeași oră, având în vedere și perioada pe parcursul căreia se estimează că efectele anticipate ale tratamentului sunt mai pronunțate. Tabelul 2 conține informații privind frecvența observațiilor clinice și a testelor funcționale. Dacă există date cinetice sau de altă natură obținute în cadrul unor studii anterioare care sugerează că sunt mai adecvate alte momente ale zilei pentru observații, teste sau pentru observațiile post-tratament, se adoptă un alt program care să permită colectarea cât mai multor informații posibil. Modificările programului trebuie justificate.

1.6.1.1. *Supravegherea stării generale de sănătate și a mortalității/morbidității*

Se examinează minuțios toate animalele cel puțin o dată pe zi, verificându-se starea lor de sănătate, iar mortalitatea și morbiditatea se verifică de două ori pe zi.

1.6.1.2. *Observații clinice detaliate*

Toate animalele selectate pentru a fi supuse unor examinări clinice detaliate (a se vedea tabelul 1) sunt supuse acestei examinări o dată înainte de prima expunere (pentru a permite realizarea de comparații pe același individ) și în continuare la diferite intervale, în funcție de durata studiului (a se vedea tabelul 2). Grupurile satelit pe care se studiază reversibilitatea efectelor sunt supuse unei examinări detaliate la sfârșitul perioadei de recuperare. Aceste examinări se efectuează într-o zonă standard, situată în afara cuștii în care se află animalele de obicei. Rezultatele se consemnează cu atenție, prin utilizarea unor sisteme de cotare incluzând criterii sau scale de cotare pentru fiecare dintre măsurătorile efectuate. Criteriile și scalele utilizate trebuie definite în mod explicit de către laboratorul care efectuează testul. Sunt necesare eforturi pentru a reduce la minimum variațiile condițiilor de testare (cu excepția celor legate de tratament) și pentru ca examinările să fie realizate de observatori experimentați care nu au fost informați cu privire la tratamentul administrat.

Se recomandă o abordare structurată, în cadrul căreia fiecărui animal studiat să i se aplice sistematic criterii clar definite (inclusiv definiția „intervalului" normal) la fiecare examinare. „Intervalul normal" se documentează în mod adecvat. Se înregistrează toate semnele observate. Dacă este posibil, se înregistrează și magnitudinea semnelor observate. Observațiile clinice vizează, dar nu în mod limitativ, modificările la nivelul pielii, blănii, ochilor, mucoaselor, apariția unor secreții și excreții și reacțiile neurovegetative (de exemplu secreții lacrimale, piloerecție, dimensiunea pupilei, respirație neobișnuită și/sau respirație pe gură, urinare și/sau defecație neobișnuită, de exemplu decolorarea urinei).

Se consemnează și toate reacțiile neobișnuite legate de poziția corpului, de nivelul de activitate (de exemplu explorarea mai intensă sau mai redusă a zonei standard) și de coordonarea mișcărilor. Se consemnează, de asemenea, modificările mersului (de exemplu, mers legănat, ataxie), modificările posturii (de exemplu, cocoașe) și reacțiile la manipulare, la locul în care se află și la alți stimuli din mediu, precum și prezența unor mișcări clonice sau tonice, a convulsiilor sau a tremurului, comportamentul stereotip (de exemplu curățarea excesivă, mișcări neobișnuite ale capului, mișcări circulare repetate) precum și comportamentele bizare (de exemplu mușcături, lins excesiv, automutilare, mers înapoi, emiterea de sunete) sau agresivitatea.

1.6.1.3. *Teste funcționale*

Ca și observațiile clinice detaliate, testele funcționale se realizează pe toate animalele selecționate în acest scop (a se vedea tabelul 1) o dată înainte de expunere, iar apoi periodic. Frecvența testelor funcționale depinde și de durata studiului (a se vedea tabelul 2). Pe lângă perioadele de observare prevăzute în tabelul 2, se realizează și observații funcționale pe grupurile satelit, cât mai aproape de momentul sacrificării. Testele funcționale studiază reactivitatea senzorială la diferiți stimuli [de exemplu auditivi, vizuali și proprioceptivi (5) (6) (7)], forța de prehensiune (8) și activitatea motorie (9). Activitatea motorie se măsoară cu ajutorul unui dispozitiv automat care poate detecta atât intensificarea, cât și reducerea activității. Dacă se folosește un alt sistem anume, acesta trebuie să fie cantitativ, și să aibă o sensibilitate și o fiabilitate demonstrate. Fiecare dispozitiv se testează pentru a asigura fiabilitatea sa în timp și coerența rezultatelor obținute cu ajutorul diferitelor dispozitive. Referințele relevante conțin informații suplimentare privind procedurile care pot fi utilizate. Dacă nu există date (de exemplu informații privind legătura dintre structură și activitate, date epidemiologice, alte studii toxicologice) privind potențialele efecte neurotoxice, trebuie avute în vedere teste mai specializate pentru explorarea funcțiilor senzorială și motorie sau a memoriei și a capacității de învățare. Referința (1) conține informații suplimentare privind teste mai specializate și utilizarea acestora.

În mod excepțional, animalele care prezintă semne marcate de toxicitate care ar putea afecta considerabil testul funcțional pot fi eliminate din cadrul acestui test. Eliminarea animalelor din cadrul unui test funcțional trebuie justificată.

1.6.2. **Greutatea corporală și consumul de hrană/apă**

În cadrul studiilor cu o durată de până la 90 de zile, toate animalele se cântăresc cel puțin o dată pe săptămână și se măsoară, de asemenea, și consumul de hrană (sau consumul de apă, dacă substanța de testat se administrează pe această cale) cel puțin săptămânal. În cadrul studiilor pe termen lung, toate animalele sunt cântărite cel puțin o dată pe săptămână pe parcursul primelor 13 săptămâni, iar apoi cel puțin o dată la 4 săptămâni. Se măsoară și consumul de hrană (sau consumul de apă, dacă substanța de testat se administrează pe această cale) cel puțin săptămânal pe parcursul primelor 13 săptămâni, iar apoi la intervale de aproximativ trei luni, cu excepția cazurilor în care trebuie procedat altfel din cauza stării de sănătate sau a greutății corporale.

1.6.3. **Examenul oftalmologic**

În cadrul studiilor cu o durată de peste 28 de zile, înainte de administrarea substanței de testat și la sfârșitul studiului, se realizează un examen oftalmologic cu ajutorul unui oftalmoscop sau al unui instrument echivalent adecvat, de preferință la toate animalele sau cel puțin la animalele din grupul căruia i-a fost administrată doza cea mai mare și la animalele din grupurile martor. Dacă se detectează modificări la nivelul ochilor sau, dacă semnele clinice sugerează că este necesar, se examinează toate animalele. În cadrul studiilor pe termen lung se realizează și un examen oftalmologic la 13 săptămâni. Examenele oftalmologice nu sunt necesare dacă există deja date disponibile obținute în cadrul altor studii cu durată și doze similare.

1.6.4. **Hematologie și biochimie clinică**

În cazul studiilor de neurotoxicitate realizate în combinație cu un studiu de toxicitate sistemică cu doză repetată, examinările hematologice și determinările biochimice clinice se realizează în conformitate cu metoda utilizată în cadrul studiului de toxicitate sistemică. Probele se prelevează astfel încât să se reducă la minimum orice potențiale efecte asupra comportamentului neurologic.

1.6.5. **Histopatologie**

Examenul neuropatologic trebuie elaborat astfel încât să vină în completarea observațiilor realizate în etapa *in vivo* a studiului și să le aprofundeze. Se fixează *in situ* țesuturi de la cel puțin 5 animale/sex/grup (a se vedea tabelul 1 și paragraful următor) utilizându-se tehnicile obișnuite de perfuzare și de fixare (a se vedea referința 3, capitolul 5 și referința 4, capitolul 50). Se înregistrează toate modificările observabile importante. Dacă studiul se realizează independent în vederea depistării neurotoxicității sau pentru caracterizarea efectelor neurotoxice, restul animalelor pot fi utilizate fie pentru examinarea comportamentului neurologic (10) (11), pentru examinări neuropatologice (10) (11) (12) (13), neurochimice (10) (11) (14) (15) sau electrofiziologice (10) (11) (16) (17) în completarea procedurilor și a examinărilor descrise, sau pot fi incluse între animalele supuse examenului histopatologic, mărind numărul acestora. Aceste proceduri suplimentare sunt deosebit de utile în cazurile în care observațiile empirice sau efectele anticipate sugerează un tip specific de neurotoxicitate sau o țintă a neurotoxicității (2) (3). Restul animalelor pot fi de asemenea utilizate pentru evaluările patologice de rutină din cadrul metodei utilizate în studiile cu doză repetată.

Toate probele de țesut acoperite cu parafină sunt supuse unei proceduri obișnuite de colorație, de exemplu colorație hematoxilin-eozină și examinate la microscop. Dacă se observă semne de neuropatii periferice, sau dacă există suspiciuni în acest sens, se examinează probe de țesut nervos periferic acoperite cu plastic. Semnele clinice pot recomanda, de asemenea, examinarea altor zone sau utilizarea unor proceduri speciale de colorație. Referințele (3) (4) conțin informații privind alte zone care pot fi examinate suplimentar. Coloranții speciali pot fi utili și pentru evidențierea unor tipuri specifice de modificări patologice (18).

Se realizează și un examen histologic pe secțiuni reprezentative din sistemul nervos central și periferic (a se vedea referința 3, capitolul 5 și referința 4, capitolul 50). În mod normal zonele examinate includ: creierul anterior, centrul emisferelor cerebrale, inclusiv o secțiune din hipocamp, creierul central, cerebelul, puntea lui Varolio, bulbul rahidian, ochiul împreună cu nervul optic și retina, măduva spinării și protuberanțele cervicale și lombare, ganglionii din rădăcina posterioară, fibrele din rădăcinile posterioară și anterioară, nervul sciatic proximal, nervul tibial proximal (la nivelul genunchiului) și ramificațiile nervului tibial în mușchii gambei. Secțiunile din măduva spinării și din nervii periferici trebuie să fie atât transversale cât și longitudinale. Se acordă o atenție specială vascularizării sistemului nervos. Trebuie examinată și o probă de mușchi scheletici, în special de la nivelul gambei. Se acordă o atenție specială regiunilor din sistemul nervos central și din sistemul nervos periferic care au o structură celulară și fibroasă despre care se știe că sunt afectate în mod special de substanțele neurotoxice.

Referințele (3) și (4) conțin informații privind alterările neuropatologice tipice provocate de expunerea la substanțe neurotoxice. Se recomandă o examinare în etape a probelor de țesut, în cadrul căreia probele prelevate de la grupul căruia i s-a administrat doza cea mai mare sunt comparate cu probele prelevate de la grupul martor. Dacă nu este identificată nici o alterare neuropatologică pe baza probelor de la aceste grupuri, nu mai sunt necesare alte analize. Dacă se observă alterări neurologice la grupul căruia i s-a administrat doza cea mai mare, trebuie codate și examinat succesiv probe din toate țesuturile care pot fi afectate prelevate de la grupurile cărora li s-au administrat doza intermediară și doza cea mai redusă.

Dacă prin examinarea calitativă se evidențiază alterări neuropatologice, se realizează o a doua examinare a tuturor regiunilor sistemului nervos care prezintă astfel de alterări. Se realizează secțiuni din toate regiunile care pot fi afectate de la toate grupurile tratate, și se examinează aleatoriu fără a se cunoaște codul. Se înregistrează frecvența și gravitatea tuturor leziunilor. După evaluarea tuturor regiunilor pentru toate grupurile tratate, se poate realiza decodarea și se efectuează o analiză statistică în vederea determinării relației doză-răspuns. Trebuie descrise diversele niveluri de gravitate pentru fiecare leziune.

Rezultatele examenului neuropatologic se evaluează având în vedere observațiile și măsurătorile privind comportamentul, precum și alte date obținute prin studii de toxicitate sistemică anterioare sau concomitente asupra substanței de testat.

2. DATE

2.1. PRELUCRAREA REZULTATELOR

Rezultatele sunt indicate pentru fiecare animal în parte. Pe lângă aceasta, toate rezultatele sunt recapitulate într-un tabel care indică, pentru fiecare test sau grup martor, numărul de animale de la începutul testului, numărul de animale care au murit în timpul testului sau care au fost sacrificate în conformitate cu principiul minimei suferințe, momentul morții sau al sacrificării cu minimă suferință, numărul animalelor care prezentau semne de toxicitate, descrierea semnelor de toxicitate observate, inclusiv momentul apariției, durata, tipul și gravitatea efectelor toxice, numărul de animale care au prezentat leziuni, inclusiv tipul și gravitatea acestora.

2.2. EVALUAREA ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

Rezultatele studiului se evaluează în vederea stabilirii frecvenței, a gravității și pentru corelarea efectelor neuropatologice și de comportament (și a efectelor neurochimice și electrofiziologice dacă se realizează examinări suplimentare) și a altor efecte adverse observate. Dacă este posibil, rezultatele numerice se evaluează cu ajutorul unei metode statistice adecvate și general acceptate. Metodele statistice se aleg în etapa în care este conceput studiul.

3. **RAPORTARE**

3.1 RAPORTUL TESTULUI

Raportul testului trebuie să conțină următoarele informații.

Substanța de testat:

— natura fizică (inclusiv izomerizare, puritate, proprietăți fizice și chimice);

— date de identificare.

Vehiculul (dacă este cazul):

— justificarea alegerii vehiculului.

Animale de experiență:

— specia/rasa utilizată;

— numărul, vârsta și sexul animalelor;

— sursa animalelor, condițiile de adăpostire, aclimatizare, regimul alimentar;

— greutatea fiecărui animal la începutul testului.

Condiții de testare:

— detalii privind prepararea substanței de testat/prepararea hranei, concentrația obținută, stabilitatea și omogenitatea preparatului;

— precizări privind dozele administrate, inclusiv privind vehiculul, volumul și forma fizică a materialului administrat;

— detalii privind administrarea substanței de testat;

— justificarea dozei alese;

— justificarea căii și a duratei de expunere alese;

— transformarea concentrației substanței de testat administrate prin hrană/apa potabilă (ppm) în doză efectivă (mg/kilogram greutate corporală/zi), dacă este cazul;

— detalii privind calitatea hranei și a apei.

Proceduri de observație și de test:

— detalii privind repartizarea de animale din fiecare grup în sub-grupul perfuzat;

— detalii privind sistemele de evaluare, inclusiv criterii și scale de evaluare utilizate pentru fiecare măsurătoare din cadrul observațiilor clinice detaliate;

— detalii privind testele funcționale de explorare a reactivității senzoriale la diverși stimuli (de exemplu auditivi, vizuali și proprioceptivi); detalii privind evaluarea forței de prehensiune; detalii privind evaluarea activității motorii (inclusiv privind dispozitivele automate pentru detectarea activității) și detalii privind celelalte proceduri utilizate;

— date privind examenul oftalmologic și, dacă este cazul, examenele hematologice și testele de biochimie clinică, cu indicarea nivelurilor de referință relevante;

— detalii privind procedurile specifice de cercetare a modificărilor neurocomportamentale, neuropatologice, neurochimice sau electrofiziologice.

Rezultate:

— greutatea corporală/modificările acesteia, inclusiv greutatea la sacrificare;

— consumul de alimente și, după caz, de apă;

— reacția toxică pe sexe și pe doză, inclusiv semnele de toxicitate sau mortalitatea;

— natura, gravitatea și durata (momentul apariției și durata ulterioară) efectelor clinice observate (indiferent dacă sunt sau nu reversibile);

— descrierea detaliată a rezultatelor tuturor testelor funcționale;

— rezultatele autopsiei;

— descrierea detaliată a tuturor modificărilor neurocomportamentale, neuropatologice, neurochimice sau electrofiziologice, dacă există;

— date privind absorbția și metabolismul, dacă există;

— tratamentul statistic aplicat rezultatelor, dacă este cazul.

Discutarea rezultatelor

— informații privind relația doză-răspuns;

— legătura dintre orice alte efecte toxice și concluzia privind potențialul neurotoxic al substanței de testat;

— nivelul concentrației la care nu se observă nici un efect advers.

Concluzii:

— se încurajează furnizarea unei aprecieri privind neurotoxicitatea globală a substanței de testat.

4. **REFERINȚE BIBLIOGRAFICE:**

(1) OECD Guidance Document on Neurotoxicity Testing Strategies and Test Methods. OECD, Paris. In preparation.

(2) Test Guideline for a Developmental Neurotoxicity Study. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. In preparation.

(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 Schauraburg, H.H. (1980). Experimental and Clinical Neurotoxicology. Eds. Spencer, P.S. and Schaumburg, H.H. eds., Williams and Wilkins Co., 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). Neuropathology as a screen for Neurotoxicity Assessement. 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 Rcsults 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.

Tabelul 1

Numărul minim de animale necesare pe grup pentru studiile de neurotoxicitate realizate separat sau în combinație cu alte studii

	STUDIU DE NEUROTOXICITATE REALIZAT:			
	Separat	**În combinație cu un studiu de 28 de zile**	**În combinație cu un studiu de 90 de zile**	**În combinație cu un studiu de toxicitate cronică**
Număr total de animale pe grup	10 masculi și 10 femele	10 masculi și 10 femele	15 masculi și 15 femele	25 masculi și 25 femele
Număr de animale selectate pentru testele funcționale, inclusiv pentru observații clinice detaliate	10 masculi și 10 femele	10 masculi și 10 femele	10 masculi și 10 femele	10 masculi și 10 femele
Număr de animale selectate pentru perfuzarea *in situ* și examinare neurohistopatologică	5 masculi și 5 femele	5 masculi și 5 femele	5 masculi și 5 femele	5 masculi și 5 femele
Număr de animale selectate pentru studii cu doză repetată/subcronică/de toxicitate cronică, examinări hematologice, de biochimie clinică, histopatologie etc. conform dispozițiilor din *orientarea relevantă*		5 masculi și 5 femele	10 masculi (+) și 10 femele (+)	20 masculi (+) și 20 femele (+)
Observații suplimentare, după caz	5 masculi și 5 femele			

(+) **Aici sunt incluse cinci animale selectate pentru teste funcționale și observații clinice detaliate din cadrul studiului de neurotoxicitate.**

Tabelul 2

Frecvența observațiilor clinice și a testelor funcționale

Tipul observațiilor		**Durata studiului**			
		Acut	**28 de zile**	**90 de zile**	**Cronic**
La toate animalele	**Stare generală de sănătate**	zilnic	zilnic	zilnic	zilnic
	Mortalitate/morbiditate	de două ori pe zi	de două ori pe zi	de două ori pe zi	de două ori pe zi
La animalele selectate pentru observații funcționale	**Observații clinice detaliate**	— înainte de prima expunere — în termen de 8 ore de la administrarea dozei, în momentul estimat al efectului maxim — în zilele 7 și 14 după administrarea dozei	— înainte de prima expunere — săptămânal în continuare	— înainte de prima expunere — o dată în prima sau a doua săptămână de după expunere — lunar în continuare	— înainte de prima expunere — o dată la sfârșitul primei luni de expunere — la fiecare trei luni în continuare
	Teste funcționale	— înainte de prima expunere — în termen de 8 ore de la administrarea dozei, în momentul estimat al efectului maxim — în zilele 7 și 14 după administrarea dozei	— înainte de prima expunere — în a patra săptămână de tratament, cât mai aproape posibil de sfârșitul perioadei de expunere	— înainte de prima expunere — o dată în prima sau a doua săptămână de după expunere — lunar în continuare	— înainte de prima expunere — o dată la sfârșitul primei luni de expunere — la fiecare trei luni în continuare

ANEXA 2I

C.21. MICROORGANISMELE DIN SOL: TESTUL DE TRANSFORMARE A AZOTULUI

1. METODĂ

Această metodă de testare reia testul OCDE TG 216 (2000).

1.1. INTRODUCERE

Această metodă de testare constă dintr-o metodă de laborator elaborată pentru studierea efectelor pe termen lung ale substanțelor chimice, după o singură expunere, asupra activității de transformare a azotului de către microorganismele din sol. Testul se bazează în principal pe recomandările emise de Organizația Europeană și Mediteraneană pentru Protecția Plantelor (1). Cu toate acestea, au fost avute în vedere și alte orientări, inclusiv cele emise de Biologische Bundesanstalt din Germania (2), de Agenția pentru protecția mediului a Statelor Unite (3) din cadrul SETAC (4) și de Organizația Internațională de Standardizare (ISO) (5). Numărul și tipul solurilor utilizate în cadrul acestui test au fost definite cu ocazia unui atelier de lucru al OCDE privind selectarea solului/sedimentelor care a avut loc la Belgirate, Italia, în 1995 (6). Recomandările privind prelevarea, manipularea și depozitarea probelor de sol au la bază orientările (ISO) (7) și recomandările atelierului de la Belgirate. Pentru determinarea și evaluarea caracteristicilor toxice ale substanțelor de testat este posibil să fie necesară determinarea efectelor acestora asupra activității microbiene din sol, de exemplu dacă sunt necesare date privind potențialele efecte secundare ale produselor fitosanitare asupra microflorei din sol sau în cazul riscurilor de expunere a microorganismelor din sol la alte substanțe chimice decât cele din produsele fitosanitare. Testul de transformare a azotului se efectuează pentru a determina efectele acestor substanțe chimice asupra microflorei din sol. Dacă se testează produse agrochimice (de exemplu produse fitosanitare, îngrășăminte, produse chimice de uz silvic) se efectuează atât testul de transformare a azotului cât și testul de transformare a carbonului. Dacă se testează alte produse decât cele agrochimice este suficient testul de transformare a azotului. Cu toate acestea, dacă valorile CE_{50} obținute în cadrul testului de transformare a azotului pentru substanțele în cauză se încadrează în intervalul de valori caracteristice inhibitorilor de nitrificare disponibili comercial (de exemplu nitrapirin), se poate efectua și un test de transformare a carbonului în vederea obținerii de informații suplimentare.

Solurile sunt formate din componente vii și din componente non-vii care formează amestecuri complexe și eterogene. Microorganismele joacă un rol important în descompunerea și transformarea materiei organice în sol fertil, multe specii aducându-și contribuția la diferitele aspecte ale fertilizării solurilor. Orice interferență pe termen lung în aceste procese biochimice riscă să perturbe ciclul elementelor nutritive și, în consecință, să altereze fertilitatea solului. De și coloniile microbiene care determină aceste procese diferă de la un sol la altul, căile de transformare sunt în mare aceleași.

Prezenta metodă de testare descrisă a fost elaborată în vederea detectării efectelor adverse pe termen lung ale unei substanțe asupra procesului de transformare a azotului asupra solurilor aerobe de suprafață. Metoda de test permite și estimarea efectelor substanțelor asupra transformării carbonului de către microflora din sol. Nitratul se formează ca urmare a degradării legăturilor carbon-azot. De aceea, dacă ratele de producere a azotatului pentru solurile tratate și pentru solurile martor sunt identice, este foarte probabil ca principalele căi de degradare a carbonului să fie intacte și funcționale. Raportul carbon-azot din substratul ales pentru test (praf de făină de lucernă) este adecvat (în general între 12/1 și 16/1). Astfel, carențele de carbon sunt reduse pe parcursul testului, iar în cazul în care comunitățile microbiene sunt afectate de o substanță chimică, ele se pot reface în termen de 100 de zile.

Testele pe baza cărora a fost elaborată această metodă de testare au fost concepute în primul rând pentru cazurile în care cantitatea de substanță care pătrunde în sol poate fi estimată. Este, de exemplu, cazul produselor fitosanitare a căror doză de aplicare pe sol este cunoscută. Pentru produsele agrochimice este suficient un test cu două doze reprezentative pentru aplicarea pe sol anticipată sau estimată. Produsele agrochimice pot fi testate ca principii active (p.a.) sau ca produse preparate. Cu toate acestea, testul nu se Limitează la produse agrochimice. Modificând atât cantitatea de substanță de testat aplicată pe sol cât și modul de evaluare a datelor, testul poate fi utilizat și pentru cazurile în care nu se cunoaște cantitatea de substanță care pătrunde în sol. Astfel, în cazul altor substanțe chimice decât cele din produsele agrochimice, se determină efectele unei serii de concentrații asupra transformării azotului. Datele obținute în cadrul acestor teste se folosesc pentru trasarea curbei doză-efect și pentru calcularea valorilor CE_{50} unde x se definește ca fiind efectul procentual.

1.2. DEFINIȚII

Transformare a azotului: degradarea finală a materiei organice care conține azot de către microorganisme prin procesele de amonificare și de nitrificare până la produsul final, nitratul anorganic.

CE_x (Concentrația efectivă): este concentrația substanței de testat în sol care inhibă cu x la sută transformarea azotului în nitrat.

CE_{50} (Concentrația mediană efectivă): este concentrația substanței de testat în sol care inhibă cu 50 la sută (50 %) transformarea azotului în nitrat.

1.3. SUBSTANȚE DE REFERINȚĂ

Nici una.

1.4. PRINCIPIUL METODEI DE TESTARE

Se adaugă praf de făină vegetală în solul cernut, iar apoi fie se tratează cu substanța de testat, fie se lasă netratat (martor). Dacă testul vizează produse agrochimice, se recomandă utilizarea a cel puțin două concentrații, care trebuie alese în funcție de concentrația maximă previzibilă de pe teren. După 0, 7, 14 zile și după 28 de zile de incubare, probele de sol tratate și probele martor sunt supuse extracției cu un solvent adecvat și se determină cantitățile de nitrat din extrase. Rata de formare a nitratului pentru probele tratate se compară cu cea a probelor martor și se calculează deviația procentuală dintre probele tratate și probele martor. Toate testele durează cel puțin 28 de zile. Dacă în a 28-a zi diferențele dintre solurile tratate și cele netratate sunt mai mari sau egale cu 25 % , se continuă măsurătorile timp de cel mult 100 de zile. Dacă se testează alte produse decât cele agrochimice, în probele de sol se adaugă o serie de concentrații ale substanței de testat și se măsoară cantitățile de nitrat formate după 28 de zile de incubare. Rezultatele testelor cu mai multe concentrații se analizează cu ajutorul unui model bazat pe regresie și se calculează valorile CE_x (de exemplu CE_{50}, CE_{25} și/sau CE_{10}). A se vedea definițiile.

1.5. VALABILITATEA TESTULUI

Evaluarea rezultatelor testelor efectuate asupra produselor agrochimice se bazează pe diferențe relativ mici (adică valori medii de ± 25 %) dintre concentrațiile de nitrat din probele martor și din probele de sol tratate, fapt care poate determina obținerea unor rezultate false dacă există variații mari între probele martor. De aceea variațiile dintre probele martor trebuie să fie mai mici de ± 15 %.

1.6. DESCRIEREA METODEI DE TESTARE

1.6.1. **Aparatură**

Se folosesc recipiente de testare confecționate din materiale inerte din punct de vedere chimic. Aceste recipiente trebuie să aibă o capacitate adecvată procedurii de incubare a solului utilizate, de exemplu incubare în vrac sau sub forma unei serii de probe individuale (a se vedea secțiunea 1.7.1.2). Pierderile de apă trebuie reduse la minimum și trebuie să se poată realiza schimbul de gaze (de exemplu recipientele de testare se pot acoperi cu folie perforată de polietilenă). Dacă se testează substanțe volatile, se folosesc recipiente ermetice și etanșe la gaz. Dimensiunea recipientelor se alege astfel încât numai un sfert din volumul acestora să fie ocupat de proba de sol.

Se folosește echipament standard de laborator, inclusiv următoarele articole:

— agitator: dispozitiv mecanic de amestecare sau echipament echivalent;

— centrifugă (3 000 g) sau dispozitiv de filtrare (cu hârtie de filtru fără nitrați);

— instrument pentru analiza nitraților cu sensibilitate și reproductibilitate adecvată.

1.6.2. **Selectarea solurilor și numărul acestora**

Se folosește un singur sol. Caracteristicile recomandate ale acestuia sunt următoarele:

— conținut de nisip: cel puțin 50 % dar nu mai mult de 75 %;

— pH: 5,5-7,5;

— conținut de carbon organic: 0,5-1,5 %;

— se măsoară biomasa microbiană (8) (9), al cărei conținut de carbon trebuie să reprezinte cel puțin 1 % din carbonul organic total din sol.

În majoritatea cazurilor, un sol cu caracteristicile descrise anterior reprezintă cele mai nefavorabile condiții posibil, deoarece adsorbția substanței de testat este minimă, iar expunerea acesteia la microfloră este maximă. De aceea în general nu este necesar să se efectueze teste pe alte soluri. Cu toate acestea, în anumite situații, dacă principala utilizare preconizată a substanței de testat vizează în special soluri forestiere acide, sau în cazul substanțelor chimice cu sarcină electrostatică, poate fi necesară utilizarea unui sol suplimentar.

1.6.3. **Prelevarea și depozitarea probelor de sol**

1.6.3.1. *Prelevare*

Se furnizează informații detaliate privind istoricul locului din care se prelevează solul testat. Aceste informații includ localizarea exactă, acoperirea vegetală, date privind tratamentele cu produse fitosanitare, cu îngrășăminte organice și anorganice, adaosurile de material biologic sau contaminările accidentale. Locul ales pentru prelevarea solului trebuie să poată fi utilizat pe termen lung. Pășunile permanente, câmpurile plantate cu cereale anuale (cu excepția porumbului) sau semănături dese cu îngrășăminte vegetale sunt adecvate în acest sens. Locul de prelevare selectat trebuie să nu fi fost tratat cu produse fitosanitare timp de cel puțin un an înainte de prelevarea probelor. De asemenea, trebuie să nu fi fost aplicat nici un îngrășământ organic cel puțin pe parcursul ultimelor șase luni. Utilizarea îngrășămintelor minerale este acceptabilă numai dacă respectă cerințele de cultivare și dacă nu se prelevează probe de sol mai repede de trei luni de la aplicarea îngrășământului. Trebuie evitată utilizarea unor soluri tratate cu îngrășăminte cu efecte biocide cunoscute (de exemplu cianamidă de calciu).

Se va evita prelevarea de probe în timpul sau imediat după perioadele lungi (de peste 30 de zile) de secetă sau de saturare cu apă. În cazul solurilor arate, probele se recoltează de la o adâncime situată între 0 și 20 cm. În cazul pășunilor sau al altor soluri care nu sunt arate pe parcursul unor perioade lungi (cel puțin pe parcursul unei perioade de creștere), adâncimea maximă de prelevare poate fi puțin mai mare de 20 cm (de exemplu 25 cm).

Probele de sol se transportă în recipiente și în condiții de temperatură de natură să garanteze că proprietățile inițiale ale solului nu se modifică în mod semnificativ.

1.6.3.2. *Depozitare*

Este preferabil ca solurile utilizate să fie proaspăt prelevate de pe teren. Dacă nu se poate evita depozitarea în laborator, solurile se depozitează la întuneric, la temperaturi de 4 ± 2 °C timp de maximum trei luni. Pe parcursul depozitării solurilor trebuie asigurate condiții aerobe. Dacă solurile sunt prelevate dintr-o zonă în care sunt afectate de îngheț timp de cel puțin trei luni per an, se poate avea în vedere depozitarea acestora timp de șase luni la temperaturi între minus 18 °C și minus 22 °C. Biomasa microbiană a solurilor depozitate se măsoară înaintea fiecărui experiment, iar conținutul de carbon din biomasă trebuie să fie de cel puțin 1 % din conținutul total de carbon organic al solului (a se vedea secțiunea 1.6.2).

1.6.4. **Manipularea și pregătirea solului pentru test**

1.6.4.1. *Preincubarea*

Dacă solul a fost depozitat (a se vedea secțiunea 1.6.3.2), se recomandă preincubarea timp de 2 până la 28 de zile. Temperatura și conținutul de umiditate al solului din perioada de preincubare trebuie să fie similare cu cele din cadrul testului (a se vedea secțiunile 1.6.4.2 și 1.7.1.3).

1.6.4.2. *Proprietăți fizice și chimice*

Se curăță manual solul de obiectele mari (de exemplu pietre, resturi vegetale etc.) apoi se cerne umed fără uscare excesivă pentru a se obține particule cu o dimensiune mai mică sau egală cu 2 mm. Conținutul de apă al probei de sol se ajustează cu apă distilată sau deionizată până la o valoare cuprinsă între 40 % și 60 % din capacitatea maximă de reținere a apei.

1.6.4.3. *Adiționarea cu substrat organic*

Solul se adiționează cu un substrat organic adecvat, de exemplu praf de făină de lucernă verde (component principal: *Medicago sativa*) cu un raport C/N între 12/1 și 16/1. Raportul lucernă-sol recomandat este de 5 g lucernă per kilogram de sol (greutate uscată).

1.6.5. **Pregătirea substanței de testat pentru aplicarea pe sol**

Substanța de testat se aplică de obicei cu ajutorul unui excipient. Excipientul poate fi reprezentat de apă (în cazul substanțelor solubile în apă) sau de o substanță solidă inertă cum este nisipul cuarțos fin (dimensiunea particulelor: 0,1-0,5 mm). Se vor evita excipienții lichizi alții decât apa (de exemplu solvenții organici cum sunt acetona și cloroformul) deoarece pot afecta microflora. Dacă se folosește nisip ca excipient, acesta poate fi tratat cu substanța de testat dizolvată sau în suspensie într-un solvent adecvat. În acest caz, solventul se elimină prin evaporare înainte de amestecarea excipientului în sol. Pentru distribuirea optimă a substanței de testat în sol, se recomandă un raport de 10 g de nisip per kilogram de sol (greutate uscată). Probele martor se tratează numai cu o cantitate echivalentă de apă și/sau de nisip cuarțos.

Pentru testarea substanțelor chimice volatile, se evită în cea mai mare măsură posibilă pierderile din perioada tratamentului și se încearcă repartizarea omogenă în sol (de exemplu substanța de testat se injectează în sol în mai multe locuri).

1.6.6. **Concentrațiile de testare**

Dacă se testează produse agrochimice se folosesc cel puțin două concentrații. Concentrația mai mică trebuie să fie cel puțin egală cu cantitatea maximă susceptibilă să ajungă în sol în condiții reale, iar concentrația maximă trebuie să fie un multiplu al concentrației mai mici. Concentrațiile substanței de testat adăugate în sol se calculează presupunând că încorporarea se realizează uniform, la o adâncime de 5 cm, și că densitatea aparentă a solului este de 1,5. Pentru produsele agrochimice aplicate direct pe sol, sau în cazurile în care cantitatea de substanță chimică ce pătrunde în sol este previzibilă, concentrațiile de testare recomandate sunt concentrația maximă anticipată în mediu (PEC) și o concentrație de cinci ori mai mare. Pentru substanțele care se aplică pe sol de mai multe ori în același sezon, se testează concentrații calculate prin înmulțirea PEC cu numărul maxim de aplicări anticipate. Cu toate acestea, cea mai mare concentrație testată nu trebuie să depășească de mai mult de zece ori doza maximă aplicată o dată. Dacă se testează alte produse decât cele agrochimice, se folosește o serie geometrică de cel puțin cinci concentrații. Concentrațiile testate trebuie să acopere intervalul necesar pentru determinarea valorilor CE_x.

1.7. EFECTUAREA TESTULUI

1.7.1. **Condiții de expunere**

1.7.1.1. *Lotul tratat și lotul martor*

Dacă se testează produse agrochimice, solul se împarte în trei părți cu greutate egală. Două părți se amestecă cu excipient conținând produsul, iar cealaltă se amestecă cu excipient fără produs (martor). Se recomandă pregătirea a cel puțin trei duplicate, atât pentru solul tratat, cât și pentru cel netratat. Dacă se testează alte produse decât cele agrochimice, solul se împarte în șase părți cu greutate egală. Cinci probe se amestecă cu excipient conținând produsul, iar a șasea se amestecă cu excipient fără substanță. Se recomandă pregătire a trei duplicate atât pentru probele tratate cât și pentru probele martor. Se va acorda atenție repartizării omogene a substanței de testat în probele de sol tratate. În timpul amestecării se va evita comprimarea sau compactarea solului.

1.7.1.2. *Incubarea probelor de sol*

Incubarea probelor de sol se poate realiza în două moduri: în vrac pentru probele de sol tratat și netratat sau sub forma unor serii de subprobe individuale de dimensiuni identice de sol tratat și netratat. Cu toate acestea, dacă se testează substanțe volatile, testul se efectuează numai pe o serie de subprobe individuale. Dacă solul se incubează în vrac, se prepară cantități mari de sol tratat și netratat și se prelevează subprobe după cum este necesar pe parcursul testului. Cantitatea pregătită inițial atât pentru probele tratate cât și pentru probele martor depinde de dimensiunea subprobelor, de numărul de duplicate utilizate pentru analiză și de numărul maxim de prelevări preconizat. Solurile incubate în vrac se amestecă bine înainte de prelevarea subprobelor. Dacă solurile se incubează sub forma unor serii de probe individuale, atât solul tratat cât și solul martor se împart în numărul de subprobe necesare, care se folosesc după cum este necesar. Pentru experimentele pentru care se preconizează mai mult de două prelevări se pregătește o cantitate de subprobe suficientă pentru toate duplicatele și pentru toate prelevările. Se incubează în mediu aerob cel puțin trei probe duplicat din solul testat (a se vedea secțiunea 1.7.1.1). În cadrul tuturor testelor se utilizează recipiente adecvate care asigură suficient spațiu liber pentru a evita apariția unor condiții anaerobe. Dacă se testează substanțe volatile, testul se realizează pe o singură serie de subprobe individuale.

1.7.1.3. *Condițiile și durata testului*

Testul se realizează la întuneric și la o temperatură a camerei de 20 ± 2 °C. Pe parcursul testului conținutul de apă al probei de sol se menține la o valoare cuprinsă între 40 % și 60 % din capacitatea maximă de reținere a apei a solului respectiv (a se vedea secțiunea 1.6.4.2), cu o marjă de ± 5 %. Se poate adăuga apă distilată, deionizată, după cum este necesar.

Toate testele durează cel puțin 28 de zile. Dacă se testează produse agrochimice, se compară ratele de formare de nitrați în probele tratate și în probele martor. Dacă în a 28-a zi aceste diferențe sunt mai mari de 25 %, testul se continuă până la obținerea unei diferențe de 25 % sau mai mică, sau timp de cel mult 100 de zile. Pentru alte produse decât cele agrochimice, testul este oprit după 28 de zile. În ziua 28 se măsoară cantitățile de nitrat formate în probele de sol tratate și în probele de sol martor și se calculează valorile CE_x.

1.7.2. **Prelevarea și analiza solurilor**

1.7.2.1. *Programul de prelevare a probelor de sol*

Dacă se testează produse agrochimice, se analizează nitratul din probele de sol în zilele 0, 7, 14 și 28. Dacă este necesară prelungirea testului, după ziua 28 se efectuează măsurători suplimentare la intervale de 14 zile.

Dacă se testează alte produse decât cele agrochimice se folosesc cel puțin cinci concentrații și se analizează probele de sol în vederea măsurării nitratului la începutul (ziua 0) și la sfârșitul perioadei de expunere (28 de zile). Dacă se consideră necesar, se poate realiza o măsurătoare suplimentară, de exemplu în ziua 7. Datele obținute în ziua 28 se folosesc pentru determinarea valorii CE_x a substanței chimice. Datele din ziua 0 privind probele martor pot fi utilizate pentru raportarea cantității inițiale de nitrat din sol.

1.7.2.2. *Analiza probelor de sol*

Cantitatea de nitrat formată în fiecare probă tratată și martor duplicat se determină la fiecare prelevare. Nitratul se extrage din sol prin agitarea probelor în prezența unui solvent de extracție, de exemplu o soluție 0,1 M de clorură de potasiu. Se recomandă utilizarea a 5 ml de soluție de KCl per gram echivalent de greutate uscată de sol. Pentru optimizarea extracției, recipientele care conțin sol și soluție de extracție nu trebuie umplute mai mult de jumătate. Amestecul se agită la 150 rpm timp de 60 de minute. Amestecurile se centrifughează sau se filtrează și se analizează prezența nitratului în faza lichidă. Extractele lichide din care au fost eliminate particulele se pot depozita înainte de a fi supuse analizei la minus 20 ± 5 °C timp de până la șase luni.

2. **DATE**

2.1. PRELUCRAREA REZULTATELOR

Dacă se testează produse agrochimice, se înregistrează cantitatea de nitrat formată în fiecare probă de sol duplicat și se furnizează valorile medii pentru toate duplicatele într-un tabel. Ratele de transformare a azotului se evaluează prin metode statistice adecvate și general acceptate (de exemplu testul F, nivelul semnificativ de 5 %). Cantitățile de nitrat formate se exprimă în mg nitrat/kg greutate uscată/zi. Se compară rata formării de nitrat din fiecare probă tratată cu rata pentru proba martor și se calculează deviația procentuală față de această valoare.

Dacă se testează alte produse decât cele agrochimice, se determină cantitatea de nitrat formată în fiecare duplicat și se trasează curba doză-răspuns în vederea determinării valorilor CE_x. Cantitățile de nitrat (adică mg nitrat/kg greutate uscată de sol) determinate în probele tratate după 28 de zile se compară cu cele determinate pentru proba martor. Pe baza acestor date se calculează valorile de inhibare exprimate procentual pentru fiecare concentrație de testare. Aceste procente sunt reprezentate în funcție de concentrație și se folosesc proceduri statistice pentru calcularea valorilor CE_x. Se determină și pragurile de încredere ($p = 0,95$) pentru CE_x calculate cu ajutorul procedurilor standard (10) (11) (12).

Substanțele de testat care conțin cantități mari de azot pot contribui la formarea de nitrat în timpul testului. Dacă aceste substanțe se testează în concentrații mari (de exemplu în cazul substanțelor chimice care se anticipează că vor fi utilizate pentru aplicații repetate) trebuie incluse în cadrul testului martori adecvați (de exemplu sol plus substanță de testat, dar nu și făină vegetală). Datele obținute pentru aceste probe martor trebuie luate în considerare la calcularea CE_x.

2.2. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Dacă la evaluarea rezultatelor testelor pe substanțe agrochimice se constată că diferența dintre ratele de formare a nitratului pentru proba tratată cu concentrația cea mai mică (concentrația maximă previzibilă) și pentru proba martor este, după 28 de zile, mai mică sau egală cu 25 % indiferent de momentul recoltării se consideră că produsul în cauză nu influențează pe termen lung transformarea azotului în sol. Pentru evaluarea rezultatelor testelor pe substanțe chimice altele decât produsele agrochimice se folosesc valorile CE_{50}, CE_{25} și/sau CE_{10}.

3. **RAPORTARE**

Raportul testului trebuie să conțină următoarele informații:

date complete de identificare a solului utilizat, inclusiv:

— coordonatele geografice ale locului (latitudine, longitudine);

— informații privind istoricul locului (de exemplu acoperirea vegetală, date privind tratamentele cu produse fitosanitare, cu îngrășăminte organice și anorganice, contaminările accidentale etc.);

— tipul de utilizare (de exemplu sol agricol, forestier etc.);

— adâncimea de prelevare a probelor (cm);

— conținutul de nisip/aluviuni/argilă (% greutate uscată);

— pH (în apă);

— conținut de carbon organic (% greutate uscată);

— conținut de azot (% greutate uscată);

— concentrație inițială de nitrat (mg nitrat/kg greutate uscată);

— capacitate de schimb de cationi (mmol/kg);

— biomasă microbiană ca procent de carbon organic total;

— metode de referință utilizate pentru determinarea fiecărui parametru;

— toate informațiile privind prelevarea și depozitarea probelor de sol;

— detalii privind preincubarea solului, dacă este cazul.

Substanța de testat:

— natura fizică și, dacă este cazul, proprietățile fizice și chimice;

— date de identificare a substanțelor chimice, dacă este cazul, inclusiv formula structurală, puritatea (pentru produsele fitosanitare procentul reprezentat de ingredientul activ), conținutul de azot.

Substrat:

— sursa substratului;

— compoziție (făină de lucernă, făină de lucernă verde);

— conținut de carbon, de azot (% greutate uscată);

— dimensiunea sitei (mm).

Condiții de testare:

— detalii privind adiționarea solului cu substrat organic;

— numărul de concentrații ale substanței de testat utilizate și, dacă este cazul, justificarea concentrațiilor selectate;

— detalii privind aplicarea substanței de testat pe sol;

— temperatura de incubare;

— conținutul de apă al solului la începutul testului și pe parcursul derulării acestuia;

— metoda de incubare a solului utilizată (de exemplu în vrac sau sub forma unei serii de subprobe individuale);

— numărul de duplicate;

— numărul de prelevări;

— metoda utilizată pentru extragerea nitratului din sol.

Rezultate:

— procedura analitică și echipamentul utilizate pentru analizarea nitratului;

— date sub formă de tabel privind valorile individuale și medii ale măsurătorilor privind nitratul;

— variațiile la nivelul duplicatelor probelor tratate și al duplicatelor probelor martor;

— explicații privind ajustările calculelor, dacă este cazul;

— variația procentuală a ratelor de formare a nitratului la fiecare prelevare sau, dacă este cazul, valoarea CE_{50} cu un prag de încredere de 95 la sută, celelalte valori CE_x (CE_{25} sau CE_{10}) cu pragurile de încredere, și un grafic al curbei doză-răspuns;

— tratamentul statistic aplicat rezultatului;

— toate informațiile și observațiile utile pentru interpretarea rezultatelor.

4. **REFERINȚE BIBLIOGRAFICE:**

(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 (2nd eds., 1990).

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

(4) SETAC-Europe (1995). Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides, Ed. M.R. Lynch, Pub. SETAC - Europe, Brussels.

(5) ISO/DIS 14238 (1995). Soil Quality – Determination of Nitrogen Mineralisation and Nitrification in Soils and the Influence of Chemicals on these Processes. Technical Committee IO/TC 190/SC 4: *Soil Quality – Biological Methods*.

(6) OECD (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/Sediments, Belgirate, Italy, January 18-20 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, 3rd ed., Cambridge, London and New-York.

(12) Finney, D.J. (1978). Statistical Methods in biological Assay. Griffin, Weycombe, UK.

C.22. MICROORGANISMELE DIN SOL: TESTUL DE TRANSFORMARE A CARBONULUI

1. METODĂ

Această metodă de testare reia testul OCDE TG 217 (2000).

1.1. INTRODUCERE

Această metodă de testare constă dintr-o metodă de laborator elaborată pentru studierea efectelor pe termen lung ale produselor fitosanitare și ale substanțelor chimice, după o singură expunere, asupra activității de transformare a carbonului de către microorganismele din sol. Testul se bazează în principal pe recomandările emise de Organizația europeană și mediteraneană pentru protecția plantelor (1). Cu toate acestea, au fost avute în vedere și alte orientări, inclusiv cele emise de Biologische Bundesanstalt din Germania (2) și de Agenția pentru protecția mediului a Statelor Unite (3) din cadrul SETAC (4). Numărul și tipul solurilor utilizate în cadrul acestui test au fost definite cu ocazia unui atelier de lucru al OCDE privind selectarea solului/sedimentelor care a avut loc la Belgirate, Italia, în 1995 (5). Recomandările privind prelevarea, manipularea și depozitarea probelor de sol au la bază orientările (ISO) (6) și recomandările atelierului de la Belgirate.

Pentru determinarea și evaluarea caracteristicilor toxice ale substanțelor de testat, este posibil să fie necesară determinarea efectelor acestora asupra activității microbiene din sol, de exemplu dacă sunt necesare date privind potențialele efecte secundare ale produselor fitosanitare asupra microflorei din sol sau în cazul riscurilor de expunere a microorganismelor din sol la alte substanțe chimice decât cele din produsele fitosanitare. Testul de transformare a carbonului se efectuează pentru a determina efectele acestor substanțe chimice asupra microflorei din sol. Dacă se testează produse agrochimice (de exemplu produse fitosanitare, îngrășăminte, produse chimice de uz silvic) se efectuează atât testul de transformare a carbonului cât și testul de transformare a azotului. Dacă se testează alte produse decât cele agrochimice este suficient testul de transformare a azotului. Cu toate acestea, dacă valorile CE_{50} obținute în cadrul testului de transformare a azotului pentru substanțele în cauză se încadrează în intervalul de valori caracteristice inhibitorilor de nitrificare disponibili comercial (de exemplu nitrapirin), se poate efectua și un test de transformare a carbonului în vederea obținerii de informații suplimentare.

Solurile sunt formate din componente vii și din componente non-vii care formează amestecuri complexe și eterogene. Microorganismele joacă un rol important în descompunerea și transformarea materiei organice în sol fertil, multe specii aducându-și contribuția la diferitele aspecte ale fertilizării solurilor. Orice interferență pe termen lung în aceste procese biochimice riscă să perturbe ciclul elementelor nutritive și, în consecință, să altereze fertilitatea solului. Transformarea azotului și transformarea carbonului se produc în toate solurile fertile. Deși coloniile microbiene care determină aceste procese diferă de la un sol la altul, căile de transformare sunt în mare aceleași.

Prezenta metodă de testare a fost elaborată în vederea detectării efectelor adverse pe termen lung ale unei substanțe asupra procesului de transformare a carbonului în solurilor aerobe de suprafață. Testul este sensibil la modificările dimensiunilor și activității coloniilor microbiene care determină transformarea carbonului deoarece supune aceste colonii atât unui stres chimic cât și unor carențe de carbon. Se folosește un sol nisipos sărac în substanțe organice. Acesta se tratează cu substanța de testat și se incubează în condiții care permit un metabolismul microbian rapid. În aceste condiții, sursele de carbon prezente în sol se epuizează rapid. Astfel sunt provocate carențe de carbon care produc moartea celulelor microbiene și induc o stare latentă/sporogeneză. Dacă durata testului depășește 28 de zile, se poate măsura suma acestor reacții la nivelul probelor martor (sol netratat) prin măsurarea dispariției progresive a biomasei microbiene cu activitate metabolică (7). Dacă biomasa dintr-un sol cu carențe de carbon este afectată în cadrul testului de prezența unei substanțe chimice, este posibil ca aceasta să nu ajungă la același nivel ca și proba martor. De aceea este adesea posibil ca perturbările provocate de substanța de testat în orice moment de pe parcursul testului să se mențină până la finalul testului.

Testele pe baza cărora a fost elaborată această metodă de testare au fost concepute în primul rând pentru cazurile în care cantitatea de substanță care pătrunde în sol poate fi estimată. Este, de exemplu, cazul produselor fitosanitare a căror doză de aplicare pe sol este cunoscută. Pentru produsele agrochimice este suficient un test cu două doze reprezentative pentru aplicarea pe sol anticipată sau estimată. Produsele agrochimice pot fi testate ca principii active (p.a.) sau ca produse preparate. Cu toate acestea, testul nu se Limitează la produse cu concentrații anticipate în mediu previzibile. Modificând atât cantitatea de substanță de testat aplicată pe sol cât și modul de evaluare a datelor, testul poate fi utilizat și pentru cazurile în care nu se cunoaște cantitatea de substanță care pătrunde în sol. Astfel, în cazul altor substanțe chimice decât produsele agrochimice, se determină efectele unei serii de concentrații asupra transformării carbonului. Datele obținute în cadrul acestor teste se folosesc pentru trasarea curbei doză-efect și pentru calcularea valorilor CE_x unde x se definește ca fiind efectul procentual.

1.2. DEFINIȚII

Transformare a carbonului: degradarea materiei organice de către microorganisme până la formarea produsului final, dioxidul de carbon.

CE_x (Concentrația efectivă): este concentrația substanței de testat în sol care inhibă cu x la sută transformarea carbonului în dioxid de carbon.

CE_{50} (Concentrația mediană efectivă): este concentrația substanței de testat în sol care inhibă cu 50 la sută (50 %) transformarea carbonului în dioxid de carbon.

1.3. SUBSTANȚE DE REFERINȚĂ

Nici una.

1.4. PRINCIPIUL METODEI DE TESTARE

Solul cernut se tratează cu substanța de testat sau se lasă netratat (martor). Dacă testul vizează produse agrochimice, se recomandă utilizarea a cel puțin două concentrații, care trebuie alese în funcție de concentrația maximă previzibilă de pe teren. După 0, 7, 14 zile și 28 de zile de incubație, probele de sol tratate și probele martor se amestecă cu glucoză și se măsoară rata respirației induse de glucoză timp de 12 ore consecutiv. Rata respirației se exprimă ca dioxid de carbon degajat (mg dioxid de carbon/kg sol uscat/h) sau ca oxigen consumat (mg oxigen/kg sol/h). Rata medie de respirație a probelor de sol tratate se compară cu cea a probelor martor și se calculează deviația procentuală dintre probele tratate și probele martor. Toate testele durează cel puțin 28 de zile. Dacă în a 28-a zi diferențele dintre solurile tratate și cele netratate sunt mai mari sau egale cu 25 %, se continuă efectuarea de măsurători la intervale de 14 zile timp de cel mult 100 de zile. Dacă se testează alte produse decât cele agrochimice, în probele de sol se adaugă o serie de concentrații ale substanței de testat și se măsoară ratele de respirație induse de glucoză (de exemplu cantitățile medii de dioxid de carbon format sau de oxigen consumat) după 28 de zile. Rezultatele testelor cu mai multe concentrații se analizează cu ajutorul unui model bazat pe regresie și se calculează valorile CE_x (de exemplu CE_{50}, CE_{25} și/sau CE_{10}). A se vedea definițiile.

1.5. VALABILITATEA TESTULUI

Evaluarea rezultatelor testelor efectuate asupra produselor agrochimice se bazează pe diferențe relativ mici (adică valori medii de ± 25 %) dintre dioxidul de carbon eliberat sau oxigenul consumat în (sau de către) probele martor și probele tratate de sol, fapt care poate determina obținerea unor rezultate false dacă există variații mari între probele martor. De aceea variațiile dintre probele martor trebuie să fie mai mici de ± 15 %.

1.6. DESCRIEREA METODEI DE TESTARE

1.6.1. **Aparatură**

Se folosesc recipiente de testare confecționate din materiale inerte din punct de vedere chimic. Aceste recipiente trebuie să aibă o capacitate adecvată procedurii de incubare a solului utilizate, de exemplu incubare în vrac sau sub forma unei serii de probe individuale (a se vedea secțiunea 1.7.1.2). Pierderile de apă trebuie reduse la minimum și trebuie să se poată realiza schimbul de gaze (de exemplu recipientele de testare se pot acoperi cu folie perforată de polietilenă). Dacă se testează substanțe volatile, se folosesc recipiente ermetice și etanșe la gaz. Dimensiunea recipientelor se alege astfel încât numai un sfert din volumul acestora să fie ocupat de proba de sol.

Pentru determinarea respirației induse de glucoză sunt necesare sisteme de incubare și instrumente de măsurare a producției de dioxid de carbon și a consumului de oxigen. În literatură există exemple de astfel de sisteme și instrumente (8) (9) (10) (11).

1.6.2. **Selectarea solurilor și numărul acestora**

Se folosește un singur sol. Caracteristicile recomandate ale acestuia sunt următoarele:

— conținut de nisip: cel puțin 50 % dar nu mai mult de 75 %;

— pH: 5,5-7,5;

— conținut de carbon organic: 0,5-1,5 %;

— se măsoară biomasa microbiană (12) (13), al cărei conținut de carbon trebuie să reprezinte cel puțin 1 % din carbonul organic total din sol.

În majoritatea cazurilor, un sol cu caracteristicile descrise anterior reprezintă cele mai nefavorabile condițiile posibil, deoarece adsorbția substanței de testat este minimă, iar expunerea acesteia la microfloră este maximă. De aceea în general nu este necesar să se efectueze teste pe alte soluri. Cu toate acestea, în anumite situații, dacă principala utilizare preconizată a substanței de testat vizează în special soluri de tipul solurilor forestiere acide, sau în cazul substanțelor chimice cu sarcină electrostatică, poate fi necesară utilizarea unui sol suplimentar.

1.6.3. **Prelevarea și depozitarea probelor de sol**

1.6.3.1. *Prelevare*

Se furnizează informații detaliate privind istoricul locului din care se prelevează solul testat. Aceste informații includ localizarea exactă, acoperirea vegetală, date privind tratamentele cu produse fitosanitare, cu îngrășăminte organice și anorganice, adaosurile de material biologic sau contaminările accidentale. Locul ales pentru prelevarea solului trebuie să poată fi utilizat pe termen lung. Pășunile permanente, câmpurile plantate cu cereale anuale (cu excepția porumbului) sau semănături dese cu îngrășăminte vegetale sunt adecvate în acest sens. Locul de prelevare selectat trebuie să nu fi fost tratat cu produse fitosanitare timp de cel puțin un an înainte de prelevarea probelor. De asemenea, trebuie să nu fi fost aplicat nici un îngrășământ organic cel puțin pe parcursul ultimelor șase luni. Utilizarea îngrășămintelor minerale este acceptabilă numai dacă respectă cerințele de cultivare și dacă nu se prelevează probe de sol mai repede de trei luni de la aplicarea îngrășământului. Trebuie evitată utilizarea unor soluri tratate cu îngrășăminte cu efecte biocide cunoscute (de exemplu cianamidă de calciu).

Se va evita prelevarea de probe în timpul sau imediat după perioadele lungi (de peste 30 de zile) de secetă sau de saturare cu apă. În cazul solurilor arate, probele se recoltează de la o adâncime situată între 0 și 20 cm. În cazul pășunilor sau al altor soluri care nu sunt arate pe parcursul unor perioade lungi (cel puțin pe parcursul unei perioade de creștere), adâncimea maximă de prelevare poate fi puțin mai mare de 20 cm (de exemplu 25 cm). Probele de sol se transportă în recipiente și în condiții de temperatură de natură să garanteze că proprietățile sale inițiale nu se modifică în mod semnificativ.

1.6.3.2. *Depozitare*

Este preferabil ca solurile utilizate să fie proaspăt prelevate de pe teren. Dacă nu se poate evita depozitarea în laborator, solurile se depozitează la întuneric, la temperaturi de 4 ± 2 °C timp de maximum trei luni. Pe parcursul depozitării solurilor trebuie asigurate condiții aerobe. Dacă solurile sunt prelevate dintr-o zonă în care sunt afectate de îngheț timp de cel puțin trei luni per an, se poate avea în vedere depozitarea acestora timp de șase luni la minus 18 °C. Biomasa microbiană a solurilor depozitate se măsoară înaintea fiecărui experiment, iar conținutul de carbon din biomasă trebuie să fie de cel puțin 1 % din conținutul total de carbon organic al solului (a se vedea secțiunea 1.6.2).

1.6.4. **Manipularea și pregătirea solului pentru test**

1.6.4.1. *Preincubarea*

Dacă solul a fost depozitat (a se vedea secțiunile 1.6.4.2 și 1.7.1.3), se recomandă preincubarea timp de 2 până la 28 de zile. Temperatura și conținutul de umiditate al solului în perioada de preincubare trebuie să fie similare cu cele din cadrul testului (a se vedea secțiunile 1.6.4.2 și 1.7.1.3).

1.6.4.2. *Proprietăți fizice și chimice*

Se curăță manual solul de obiectele mari (de exemplu pietre, resturi vegetale etc.) apoi se cerne umed fără uscare excesivă pentru a se obține particule cu o dimensiune mai mică sau egală cu 2 mm. Conținutul de apă al probei de sol se ajustează cu apă distilată sau deionizată până la o valoare cuprinsă între 40 % și 60 % din capacitatea maximă de reținere a apei.

1.6.5. **Pregătirea substanței de testat pentru aplicarea pe sol**

Substanța de testat se aplică de obicei cu ajutorul unui excipient. Excipientul poate fi reprezentat de apă (în cazul substanțelor solubile în apă) sau de o substanță solidă inertă cum este nisipul cuarțos fin (dimensiunea particulelor: 0,1-0,5 mm). Se vor evita excipienții lichizi alții decât apa (de exemplu solvenții organici cum sunt acetona și cloroformul) deoarece pot afecta microflora. Dacă se folosește nisip ca excipient, acesta poate fi tratat cu substanța de testat dizolvată sau în suspensie într-un solvent adecvat. În acest caz, solventul se elimină prin evaporare înainte de amestecarea excipientului în sol. Pentru distribuirea optimă a substanței de testat în sol, se recomandă un raport de 10 g de nisip per kilogram de sol (greutate uscată). Probele martor se tratează numai cu o cantitate echivalentă de apă și/sau de nisip cuarțos.

Pentru testarea substanțelor chimice volatile, se evită în cea mai mare măsură posibilă pierderile din perioada tratamentului și se încearcă repartizarea omogenă în sol (de exemplu substanța de testat se injectează în sol în mai multe locuri).

1.6.6. **Concentrațiile de testare**

Dacă se testează produse fitosanitare sau alte produse chimice cu concentrații anticipate în mediu previzibile, se folosesc cel puțin două concentrații. Concentrația mai mică trebuie să fie cel puțin egală cu cantitatea maximă susceptibilă să ajungă în sol în condiții reale, iar concentrația maximă trebuie să fie un multiplu al concentrației mai mici. Concentrațiile substanței de testat adăugate în sol se calculează presupunând că încorporarea se realizează uniform, la o adâncime de 5 cm, și că densitatea aparentă a solului este de 1,5. Pentru produsele agrochimice aplicate direct pe sol, sau în cazurile în care cantitatea de substanță chimică ce pătrunde în sol este previzibilă, concentrațiile de testare recomandate sunt concentrația anticipată în mediu (PEC) și o concentrație de cinci ori mai mare. Pentru substanțele care se aplică pe sol de mai multe ori în același sezon, se testează concentrații calculate prin înmulțirea PEC cu numărul maxim de aplicări anticipate. Cu toate acestea, cea mai mare concentrație testată nu trebuie să depășească de mai mult de zece ori doza maximă aplicată o dată.

Dacă se testează alte produse decât cele agrochimice, se folosește o serie geometrică de cel puțin cinci concentrații. Concentrațiile testate trebuie să acopere intervalul necesar pentru determinarea valorilor CE_x.

1.7. EFECTUAREA TESTULUI

1.7.1. **Condiții de expunere**

1.7.1.1. *Lotul tratat și lotul martor*

Dacă se testează produse agrochimice, solul se împarte în trei părți cu greutate egală. Două părți se amestecă cu excipient conținând produsul, iar cealaltă se amestecă cu excipient fără produs (martor). Se recomandă pregătirea a cel puțin trei duplicate, atât pentru solul tratat, cât și pentru cel netratat. Dacă se testează alte produse decât cele agrochimice, solul se împarte în șase părți cu greutate egală. Cinci probe se amestecă cu excipient conținând substanța de testat, iar a șasea se amestecă cu excipient fără substanță. Se recomandă pregătire a trei duplicate atât pentru probele tratate cât și pentru probele martor. Se va acorda atenție repartizării omogene a substanței de testat în probele de sol tratate. În timpul amestecării se va evita comprimarea sau compactarea solului.

1.7.1.2. *Incubarea probelor de sol*

Incubarea probelor de sol se poate realiza în două moduri: în vrac pentru probele de sol tratat și netratat sau sub forma unor serii de subprobe individuale de dimensiuni identice de sol tratat și netratat. Cu toate acestea, dacă se testează substanțe volatile, testul se efectuează numai pe o serie de subprobe individuale. Dacă solul se incubează în vrac, se prepară cantități mari de sol tratat și netratat și se prelevează subprobe după cum este necesar pe parcursul testului. Cantitatea pregătită inițial atât pentru probele tratate cât și pentru probele martor depinde de dimensiunea subprobelor, de numărul de duplicate utilizate pentru analiză și de numărul maxim de prelevări preconizat. Solurile incubate în vrac se amestecă bine înainte de prelevarea subprobelor. Dacă solurile se incubează sub forma unor serii de probe individuale, atât solul tratat cât și solul martor se împart în numărul de subprobe adecvat, care se folosesc după cum este necesar. Pentru experimentele pentru care se preconizează mai mult de două prelevări se pregătește o cantitate de subprobe suficientă pentru toate duplicatele și pentru toate prelevările. Se incubează în mediu aerob cel puțin trei probe duplicat din solul testat (a se vedea secțiunea 1.7.1.1). În cadrul tuturor testelor se utilizează recipiente adecvate care asigură suficient spațiu liber pentru a evita apariția unor condiții anaerobe. Dacă se testează substanțe volatile, testul se realizează pe o singură serie de subprobe individuale.

1.7.1.3. *Condițiile și durata testului*

Testul se realizează la întuneric și la o temperatură a camerei de 20 ± 2 °C. Pe parcursul testului conținutul de apă al probei de sol se menține la o valoare cuprinsă între 40 % și 60 % din capacitatea maximă de reținere a apei a solului respectiv (a se vedea secțiunea 1.6.4.2), cu o marjă de ± 5 %. Se poate adăuga apă distilată, deionizată, după cum este necesar.

Toate testele durează cel puțin 28 de zile. Dacă se testează produse agrochimice, se compară cantitățile de dioxid de carbon eliberat de probele tratate și de probele martor. Dacă în a 28-a zi aceste diferențe sunt mai mari de 25 %, testul se continuă până la obținerea unei diferențe de 25 % sau mai mică, sau timp de cel mult 100 de zile. Pentru alte produse decât cele agrochimice, testul este oprit după 28 de zile. În ziua 28 se măsoară cantitățile de dioxid de carbon eliberate sau de oxigen consumat de probele de sol tratate și de probele de sol martor și se calculează valorile EC_x.

1.7.2. **Prelevarea și analiza solurilor**

1.7.2.1 *Programul de prelevare a probelor de sol*

Dacă se testează produse agrochimice, se analizează ratele respirației induse de glucoză în probele din sol în zilele 0, 7, 14 și 28. Dacă este necesară prelungirea testului, după ziua 28 se efectuează măsurători suplimentare la intervale de 14 zile.

Dacă se testează alte produse decât cele agrochimice se folosesc cel puțin cinci concentrații și se analizează probele de sol în vederea măsurării nitratului la începutul (ziua 0) și la sfârșitul perioadei de expunere (28 de zile). Dacă se consideră necesar, se poate realiza o măsurătoare suplimentară, de exemplu în ziua 7. Datele obținute în ziua 28 se folosesc pentru determinarea valorii CE_x a substanței chimice. Datele din ziua 0 privind probele martor pot fi utilizate pentru estimarea cantității inițiale de biomasă microbiană cu activitate metabolică din sol (12).

1.7.2.2. *Măsurarea ratelor de respirație induse de glucoză*

Rata respirației induse de glucoză se determină pentru fiecare probă de sol tratat și pentru fiecare probă martor la fiecare prelevare. Probele de sol se amestecă cu o cantitate de glucoză suficientă pentru a antrena o reacție respiratorie maximă imediată. Cantitatea de glucoză necesară pentru provocarea unei reacții respiratorii maxime într-un anumit sol se poate determina cu ajutorul unui test preliminar cu mai multe concentrații de glucoză (14). Cu toate acestea, în cazul solurilor nisipoase cu un conținut de carbon organic de 0,5-1,5 % sunt de obicei suficiente 2 000 mg până la 4 000 mg de glucoză per kg greutate uscată de sol. Glucoza se poate măcina în pulbere cu nisip cuarțos fin (10 g nisip/kg greutate uscată) și se amestecă omogen în sol.

Probele de sol adiționate cu glucoză se incubează într-un aparat adaptat pentru măsurarea continuă a ratei de respirație la fiecare oră sau la fiecare două ore (a se vedea secțiunea 1.6.1) la 20 ± 2 °C. Se măsoară dioxidul de carbon degajat sau oxigenul consumat timp de 12 ore consecutive, iar măsurătorile se inițiază cât mai repede posibil, adică după 1 până la 2 ore de la adăugarea glucozei. Se măsoară cantitatea totală de dioxid de carbon degajat sau de oxigen consumat pe parcursul a 12 ore și se determină ratele medii de respirație.

2. **DATE**

2.1. PRELUCRAREA REZULTATELOR

Dacă se testează produse agrochimice, se înregistrează cantitatea de dioxid de carbon eliberat sau de oxigen consumat de fiecare probă de sol duplicat și se furnizează valorile medii pentru toate duplicatele într-un tabel. Rezultatele se evaluează prin metode statistice adecvate și general acceptate (de exemplu testul F, nivelul semnificativ de 5 %). Rata de respirație indusă de glucoză se exprimă în mg dioxid de carbon/kg greutate uscată de sol/h sau în mg oxigen/greutate uscată de sol/h. Se compară rata medie a formării dioxidului de carbon sau rata medie a consumului de oxigen pentru fiecare probă tratată cu rata pentru proba martor și se calculează deviația procentuală față de această valoare.

Dacă se testează alte produse decât cele agrochimice, se determină cantitatea de dioxid de carbon eliberat sau de oxigen consumat de fiecare duplicat și se trasează curba doză-răspuns în vederea determinării valorilor CE_x. Ratele de respirație induse de glucoză (în mg dioxid de carbon/kg greutate uscată de sol/h sau în mg oxigen/greutate uscată de sol/h) determinate în probele tratate după 28 de zile se compară cu cele determinate pentru proba martor. Pe baza acestor date se calculează valorile de inhibare exprimate procentual pentru fiecare concentrație de testare. Aceste procente sunt reprezentate în funcție de concentrație, iar pentru calcularea valorilor CE_x se folosesc proceduri statistice. Se determină și pragurile de încredere (p = 0,95) pentru CE_x calculate cu ajutorul procedurilor standard (15) (16) (17).

2.2. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Dacă la evaluarea rezultatelor testelor pe substanțe agrochimice se constată că diferența dintre ratele de respirație induse de glucoză pentru proba tratată cu concentrația cea mai mică (concentrația maximă previzibilă) și pentru proba martor este, după 28 de zile, mai mică sau egală cu 25 % indiferent de momentul recoltării se consideră că produsul în cauză nu influențează pe termen lung transformarea carbonului în sol. Pentru evaluarea rezultatelor testelor pe substanțe chimice altele decât produsele agrochimice se folosesc valorile CE_{50}, CE_{25} și/sau CE_{10}.

3. **RAPORTARE**

3.1 RAPORTUL TESTULUI

Raportul testului trebuie să conțină următoarele informații:

date complete de identificare a solului utilizat, inclusiv:

— coordonatele geografice ale locului (latitudine, longitudine);

— informații privind istoricul locului (de exemplu acoperirea vegetală, date privind tratamentele cu produse fitosanitare, tratamentele cu îngrășăminte, contaminările accidentale etc.);

— tipul de utilizare (de exemplu sol agricol, forestier etc.);

— adâncimea de prelevare a probelor (cm);

— conținutul de nisip/aluviuni/argilă (% greutate uscată);

— pH (în apă);

— conținut de carbon organic (% greutate uscată);

— conținut de azot (% greutate uscată);

— capacitate de schimb de cationi (mmol/kg);

— biomasă microbiană inițială ca procent de carbon organic total;

— metode de referință utilizate pentru determinarea fiecărui parametru;

— toate informațiile privind prelevarea și depozitarea probelor de sol;

— detalii privind preincubarea solului, dacă este cazul.

Substanța de testat:

— natura fizică și, dacă este cazul, proprietățile fizice și chimice;

— date de identificare a substanțelor chimice, dacă este cazul, inclusiv formula structurală, puritatea (pentru produsele fitosanitare procentul de ingredient activ), conținutul de azot.

Condiții de testare:

— detalii privind adiționarea solului cu substrat organic;

— numărul de concentrații ale substanței de testat utilizate și, dacă este cazul, justificarea concentrațiilor selectate;

— detalii privind aplicarea substanței de testat pe sol;

— temperatura de incubație;

— conținutul de apă al solului la începutul testului și pe parcursul derulării acestuia;

— metoda de incubare a solului utilizată (de exemplu în vrac sau sub forma unei serii de subprobe individuale);

— numărul de duplicate;

— numărul de prelevări.

Rezultate:

— metoda și echipamentul utilizate pentru măsurarea ratelor de respirație;

— date sub formă de tabel privind cantitățile individuale și medii de dioxid de carbon sau de oxigen;

— variațiile la nivelul duplicatelor probelor tratate și al duplicatelor probelor martor;

— explicații privind ajustările calculelor, dacă este cazul;

— variația procentuală a ratelor de respirație induse de glucoză la fiecare prelevare sau, dacă este cazul, valoarea CE_{50} cu un prag de încredere de 95 la sută, celelalte valori CE_x (CE_{25} sau CE_{10}) cu praguri de încredere și un grafic al curbei doză-răspuns;

— tratamentul statistic aplicat rezultatului, dacă este cazul;

— toate informațiile și observațiile utile pentru interpretarea rezultatelor.

4. **REFERINȚE BIBLIOGRAFICE:**

(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 (2nd eds., 1990).

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

(4) SETAC-Europe (1995). Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides, Ed. M.R. Lynch, Pub. SETAC-Europe, Brussels.

(5) OECD (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/Sediments, Belgirate, Italy, 18-20 January 1995.

(6) ISO 10381-6 (1993). Soil quality – Sampling. Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in the laboratory.

(7) Anderson, J.P.E. (1987). Handling and Storage of Soils for Pesticide Experiments, in „Pesticide Effects on Soil Microflora". Eds. L. Somerville and M.P. Greaves, Chap. 3:45-60.

(8) Anderson, J.P.E. (1982). Soil Respiration, in „Methods of Soil Analysis – Part 2: Chemical and Microbiological Properties". Agronomy Monograph N° 9. Eds. A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney. 41:831-871.

(9) ISO 11266-1. (1993). Soil Quality – Guidance on laboratory Tests for Biodegradation in Soil: Part 1. Aerobic Conditions.

(10) ISO 14239 (1997). 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, Dargestel1t 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). Nachrichtenb1. 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, 3rd. ed., Cambridge, London and New-York.

(17) Finney, D.J. (1978). Statistical Methods in biological Assay. Griffin, Weycombe, UK.

C.23. TRANSFORMĂRI AEROBE ȘI ANAEROBE ÎN SOL

1. METODĂ

Această metodă de testare reia testul OCDE TG 307 (2002).

1.1. INTRODUCERE

Această metodă de testare se bazează pe orientările existente (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9). Metoda descrisă în continuare a fost elaborată pentru măsurarea transformărilor aerobe și anaerobe ale substanțelor chimice în sol. Scopul experimentelor este acela de a determina (i) rata de transformare a substanței de testat și (ii) natura și ratele de formare și de epuizare ale produșilor de transformare la care pot fi expuse plantele și organismele din sol. Aceste studii sunt necesare pentru substanțele chimice aplicate direct pe sol sau susceptibile să ajungă în mediul din sol. Rezultatele acestor studii de laborator pot fi, de asemenea, utilizate pentru elaborarea de protocoale de prelevare de probe și de analiză pentru studii din domenii înrudite.

În general, pentru evaluarea căilor de transformare este suficientă realizarea de studii aerobe și anaerobe pe un singur tip de sol (8) (10) (11). Ratele de transformare se determină pentru încă cel puțin trei alte soluri (8) (10).

Numărul și tipul solurilor utilizate în cadrul acestui test au fost definite cu ocazia unui atelier de lucru al OCDE privind selectarea solului și a sedimentelor care a avut loc la Belgirate, Italia, în 1995 (10). Tipurile de sol testate trebuie să fie reprezentative pentru condițiile de mediu în care va fi utilizată sau eliberată substanța. De exemplu substanțele chimice eliberate într-un climat subtropical sau tropical se testează cu Ferrasols sau Nitosols (sistemul FAO). În cadrul atelierului de lucru au fost de asemenea formulate recomandări privind prelevarea, manipularea și depozitarea probelor de sol bazate pe orientările ISO (15). În cadrul acestei metode se studiază și utilizarea solurilor de orezărie.

1.2. DEFINIȚII

Substanță de testat: orice substanță, indiferent dacă este vorba despre substanța mamă sau despre produșii de transformare relevanți.

Produși de transformare: toate substanțele rezultate din reacțiile biotice sau abiotice de transformare a substanței de testat, în special CO_2 și produșii din reziduurile legate.

Reziduuri legate: „reziduurile legate" sunt compuși vegetali sau animali din sol, care persistă în matrice după extracție sub forma substanței mamă sau a metabolitului (metaboliților)/produșilor de transformare ai acesteia. Metoda de extracție nu trebuie să modifice considerabil compușii înșiși sau structura matricei. Natura legăturii poate fi determinată parțial prin metode de extracție care modifică matricea și prin tehnici analitice complexe. Până în prezent a fost identificată în acest mod natura legăturilor covalente, ionice, de sorbție și de captare. În general, formarea reziduurilor legate reduce bioaccesibilitatea și biodisponibilitatea în mod considerabil (12) [modificare IUPAC 1984 (13)].

Transformare aerobă: reacție care se produce în prezența oxigenului molecular (14).

Transformare anaerobă: reacție care se produce în absența oxigenului molecular (14).

Sol: este un amestec de constituenți chimici minerali și organici, aceștia din urmă conținând compuși cu un conținut ridicat de carbon și azot și cu masă moleculară mare, care conțin mici organisme (în special microorganisme). Solul poate fi manipulat în două forme:

(a) nederanjat, așa cum s-a format în timp, în straturile caracteristice unui număr mare de tipuri de sol;

(b) deranjat, așa cum se găsește de obicei pe terenurile arabile când probele se prelevează prin săpare și se folosesc în cadrul prezentei metode de testare (14).

Mineralizare: degradarea completă a unui compus organic în CO_2 și H_2O în condiții aerobe și în CH_4, CO_2 și H_2O în condiții anaerobe. În cadrul prezentei metode de testare, dacă se folosește un compus marcat cu ^{14}C, mineralizare înseamnă o degradare considerabilă pe parcursul căreia un atom de carbon marcat este oxidat, degajându-se o cantitate adecvată de $^{14}CO_2$ (14).

Timp de înjumătățire: $t_{0,5}$ este timpul necesar pentru transformarea a 50 % dintr-o substanță de testat în cazul transformărilor care pot fi descrise printr-o cinetică de prim ordin; nu depinde de concentrație.

DT_{50} (timp de degradare 50): este timpul în care concentrația substanței de testat se reduce cu 50 %; diferă de timpul de înjumătățire $t_{0,5}$ dacă transformarea nu respectă o cinetică de prim ordin.

DT_{75} (timp de degradare 75): este timpul în care concentrația substanței de testat se reduce cu 75 %.

DT_{90} (timp de degradare 90): este timpul în care concentrația substanței de testat se reduce cu 90 %.

1.3. SUBSTANȚE DE REFERINȚĂ

Substanțele de referință se folosesc pentru caracterizarea și/sau identificarea produșilor de transformare prin metode spectroscopice și cromatografice.

1.4. APLICABILITATEA TESTULUI

Metoda se aplică tuturor substanțelor chimice (nemarcate sau marcate radioactiv) pentru care se poate utiliza o metodă analitică cu o precizie și o sensibilitate suficientă. Se aplică pentru compușii ușor volatili, nevolatili, solubili sau insolubili în apă. Testul nu se aplică substanțelor chimice puternic volatile în sol (de exemplu fumiganți, solvenți organici) care de aceea nu pot fi menținute în sol în condițiile experimentale din cadrul acestui test.

1.5. INFORMAȚII PRIVIND SUBSTANȚA DE TESTAT

Pentru măsurarea ratei de transformare se poate utiliza o substanță de testat marcată sau nemarcată. Materialul marcat este necesar pentru studierea căilor de transformare și pentru stabilirea bilanțului masic. Se recomandă marcarea cu ^{14}C dar poate fi utilă și utilizarea altor izotopi cum sunt ^{13}C, ^{15}N, ^{3}H, ^{32}P. În măsura în care este posibil, marcajul se amplasează în partea (părțile) cea (cele) mai stabilă(e) ale moleculei [1]. Puritatea substanței de testat trebuie să fie de cel puțin 95 %.

Înainte de efectuarea unui test de transformare aerobă sau anaerobă în sol, sunt necesare următoarele informații privind substanța de testat:

(a) solubilitatea în apă (Metoda A.6);

(b) solubilitatea în solvenți organici;

(c) presiunea vaporilor (Metoda A.4) și constanta lui Henry;

(d) coeficientul de împărțire n-octanol/apă (Metoda A.8);

(e) stabilitatea chimică la întuneric (hidroliză) (Metoda C.7);

(f) coeficientul pK_a dacă este posibil ca o moleculă să fie supusă unei protonări sau deprotonări (Orientarea 112 a OECD) (16).

Este posibil să fie utile și informații privind toxicitatea substanței de testat asupra microorganismelor din sol (Metodele de testare C.21 și C.22) (16).

Trebuie să fie disponibile metode analitice (inclusiv metode de extracție și de purificare) necesare pentru cuantificarea și identificarea substanței de testat și a produșilor de transformare ai acesteia.

[1] De exemplu, dacă substanța de testat conține un ciclu, acesta trebuie marcat; dacă substanța de testat conține două sau mai multe cicluri, este posibil să fie necesare studii separate pentru evaluarea evoluției fiecărui ciclu și pentru a obține informații fiabile privind formarea produșilor de transformare.

1.6. PRINCIPIUL METODEI DE TESTARE

Probele de sol se tratează cu substanța de testat și se incubează la întuneric în baloane de tip biometric sau în sisteme cu circulație continuă în condiții de laborator controlate (la temperatură și umiditate constantă). După un interval de timp adecvat, se extrag și se analizează probele de sol în vederea măsurării substanței mamă și a produșilor de transformare. Și produșii volatili se colectează în vederea efectuării unei analize cu ajutorul unor dispozitive de absorbție adecvate. Cu ajutorul materialului marcat cu ^{14}C se pot măsura diferitele rate de mineralizare a substanței de testat prin captarea $^{14}CO_2$ degajat și se poate stabili bilanțul masic, inclusiv formarea reziduurilor legate de sol.

1.7. CRITERII DE CALITATE

1.7.1. **Recuperare**

Extracția și analizarea probelor de sol, cel puțin în duplicat, imediat după adăugarea substanței de testat, oferă o primă indicație privind repetabilitatea metodei analitice și uniformitatea procedurii de aplicare a substanței de testat. Ratele de recuperare din etapele ulterioare ale experimentelor sunt furnizate de bilanțurile masice respective. Aceste rate de recuperare variază între 90 % și 110 % pentru substanțele chimice marcate (8) și între 70 % și 110 % pentru substanțele chimice nemarcate (3).

1.7.2. **Repetabilitatea şi sensibilitatea metodei analitice**

Repetabilitatea metodei analitice (cu excepția randamentului extracției inițiale) în ceea ce privește cuantificarea substanței de testat și a produșilor de transformare se poate controla prin efectuarea unei analize duplicat pe același extract de sol, incubat suficient timp pentru a se forma produșii de transformare.

Pragul de detecție (LOD) a substanței de testat și a produșilor de transformare din cadrul metodei analitice trebuie să fie de cel puțin 0,01 $mg \cdot kg^{-1}$ (substanță de testat) în sol sau de 1 % din doza aplicată, respectiv valoarea mai mică dintre acestea. Se precizează și pragul de cuantificare (LOQ).

1.7.3. **Precizia datelor privind transformarea**

Analiza de regresie a concentrațiilor substanței de testat în funcție de timp oferă informații adecvate privind fiabilitatea curbei de transformare și calcularea pragurilor de încredere pentru timpii de înjumătățire (în cazurile de cinetică de pseudo prim ordin) sau a valorilor DT_{50} și, dacă este cazul, a valorilor DT_{75} și DT_{90}.

1.8. DESCRIEREA METODEI DE TESTARE

1.8.1. **Echipament și reactivi chimici**

Incubatoarele sunt formate din circuite statice închise sau din sisteme cu circulație continuă (7) (17). În figurile 1 și 2 sunt prezentate exemple de incubatoare cu circulație continuă și de baloane de tip biometric. Ambele tipuri de incubatoare prezintă avantaje și inconveniente (7) (17).

Este necesar echipament standard de laborator, în special următoarele:

— Instrumente de analiză cum sunt: cromatografie în fază gazoasă sau lichidă (G1C), cromatografie în fază lichidă de înaltă performanță (HP1C), echipament T1C, inclusiv sisteme adecvate pentru analiza substanțelor marcate radioactiv și a substanțelor nemarcate sau metoda diluției izotopice inverse;

— Instrumente de identificare (de exemplu MS, GC-MS, HP1C-MS, RMN etc.).

— Contor de scintilație lichid;

— Aparat de oxidare pentru combustia materialului radioactiv;

— Centrifugă;

— Aparat de extracție (de exemplu tuburi de centrifugare pentru extracția la rece și aparat Soxhlet pentru extracția continuă sub reflux);

— Instrumente pentru concentrarea soluțiilor și a extractelor (evaporator rotativ);

— Baie de aburi;

— Dispozitiv mecanic de amestecare (de exemplu malaxor, amestecător rotativ).

Printre reactivii chimici utilizați se numără, de exemplu:

— NaOH, puritate analitică, 2 moli · dm^{-3}, sau altă bază adecvată (de exemplu KOH, etanolamină);

— H_2SO_4, puritate analitică, 0,05 moli · dm^{-3};

— Etilen glicol, puritate analitică;

— Materiale de absorbție solide, de exemplu var sodat sau tampoane poliuretanice;

— Solvenți organici, puritate analitică, cum sunt acetona, metanolul etc.;

— Lichid de scintilație.

1.8.2. **Aplicarea substanței de testat**

Substanța de testat se poate dizolva în apă (deionizată sau distilată) în vederea încorporării sau a distribuirii în sol, sau, dacă este necesar, se poate dizolva într-o cantitate minimă de acetonă sau de alți solvenți organici (6) dacă este suficient de solubilă și de stabilă. Cu toate acestea, cantitatea de solvent selectată nu trebuie să aibă o influență semnificativă asupra activității microbiene din sol (a se vedea secțiunile 1.5 și 1.9.2-1.9.3). Trebuie evitată utilizarea unor solvenți care inhibă activitatea microbiană cum sunt cloroformul, diclormetanul și alți solvenți halogenați.

Substanța de testat se poate adăuga și sub formă solidă, amestecată cu nisip cuarțos (6) sau într-o subprobă de sol uscat cu aer și sterilizată de mici dimensiuni. Dacă substanța de testat se adaugă cu ajutorul unui solvent, acesta se lasă să se evaporeze înainte ca subproba tratată să fie adăugată în proba inițială de sol nesterilă.

În cazul substanțelor chimice obișnuite, pentru care principala cale de pătrundere în sol este prin nămolul de epurare sau prin tratamente agricole, se începe prin adăugarea substanței de testat în nămol, care se introduce apoi în proba de sol. (a se vedea secțiunile 1.9.2 și 1.9.3)

Nu se recomandă utilizarea de materiale preparate în mod sistematic. Cu toate acestea, de exemplu în cazul substanțelor puțin solubile, utilizarea de materiale preparate poate fi o soluție bună.

1.8.3. **Soluri**

1.8.3.1. *Selectarea solurilor*

Pentru determinarea căii de transformare se poate utiliza un sol reprezentativ; se recomandă argila nisipoasă sau lutul nisipos fin sau argila sau nisipul lutos [conform clasificării FAO și USDA (18)] cu un pH de 5,5-8,0, cu conținut de carbon organic de 0,5-2,5 % și cu o biomasă microbiană de cel puțin 1 % din carbonul organic total (10).

Pentru studiile privind ratele de transformare se folosesc cel puțin trei soluri suplimentare reprezentative pentru gama de soluri în cauză. Solurile trebuie să aibă pH-uri, conținuturi de argilă și biomase microbiene diferite (10).

Toate solurile se clasifică, cel puțin din punctul de vedere al texturii (% nisip, % aluviuni, % argilă) [conform clasificării FAO și USDA (18)], al pH-ului, al capacității de schimb de cationi, al densității aparente, al caracteristicilor de reținere a apei ([1]) și al biomasei microbiene (numai pentru studiile aerobe). Pentru interpretarea rezultatelor pot fi utile informații suplimentare privind proprietățile solului. Pentru determinarea caracteristicilor solului se pot utiliza metodele recomandate la referințe (19) (20) (21) (22) (23). Masa microbiană se determină prin metoda respirației induse de substrat (SIR) (25) (26) sau prin metode alternative (20).

([1]) Caracteristica de reținere a apei a unui sol se poate măsura ca fiind capacitatea câmpului, ca fiind capacitatea de reținere a apei sau ca potențial de sucțiune (pF). Pentru explicații a se vedea anexa 1. În raportul testului se precizează dacă densitatea aparentă și caracteristica de reținere a apei au fost determinate pe probe de sol nederanjat sau deranjat (prelucrat).

1.8.3.2. *Prelevarea, manipularea și depozitarea solurilor*

Se furnizează informații detaliate privind istoricul locului din care se prelevează solul testat. Aceste informații includ localizarea exactă, acoperirea vegetală, date privind tratamentele cu substanțe chimice, cu îngrășăminte organice și anorganice, adaosurile de material biologic sau alte contaminări. Solurile tratate cu substanța de testat sau cu substanțe cu structură analogă pe parcursul ultimilor patru ani nu se folosesc în studiile de transformare (10) (15).

Solurile utilizate trebuie să fie proaspăt prelevate de pe teren (din orizontul A sau din stratul de 20 cm de la suprafață) și trebuie să aibă un conținut de apă care facilitează cernerea. Pentru alte soluri decât cele de orezărie, se va evita prelevarea de probe în tipul sau imediat după perioadele lungi (> 30 zile) de secetă, de îngheț sau de inundații (14). Probele se transportă astfel încât să se reducă la minimum modificările conținutului de apă din sol și se păstrează la întuneric, asigurându-se circulația liberă a aerului în cea mai mare măsură posibil. În acest sens este în general adecvată o pungă de polietilenă care nu se închide ermetic.

Solul se prelucrează cât mai repede posibil după prelevare. Se scot resturile vegetale, animale și pietrele mari înainte de cernerea solului printr-o sită cu ochiuri de 2 mm care reține pietrele și resturile vegetale și animale de mici dimensiuni. Se va evita uscarea și măcinarea solului înainte de cernere (15).

În timpul iernii, când prelevarea de pe teren este dificilă (sol înghețat sau acoperit cu straturi de zăpadă) probele se pot preleva dintr-un lot de sol depozitat într-o seră cu acoperire vegetală (de exemplu un amestec de iarbă și trifoi). Sunt preferate în mod evident studiile efectuate pe sol proaspăt prelevat, dar dacă solul prelevat și prelucrat trebuie depozitat înainte de inițierea studiului, condițiile de depozitare trebuie să fie adecvate iar depozitarea să se realizeze pe parcursul unei perioade limitate (4 ± 2 °C timp de maximum trei luni) pentru menținerea activității microbiene ([1]). Referințele (8) (10) (15) (26) (27) conțin instrucțiuni detaliate privind prelevarea, manipularea și depozitarea solurilor utilizate în cadrul experimentelor de biotransformare.

Înainte de a fi utilizat în cadrul acestui test, solul tratat se pre-incubează pentru a permite germinarea și eliminarea semințelor și restabilirea echilibrului metabolismului microbian după trecerea de la condițiile de prelevare sau de depozitare la condițiile de incubare. În general este adecvat să se prevadă o perioadă de preincubare de 2 până la 28 de zile, aproximativ în condițiile de temperatură și de umiditate din cadrul testului real (15). În general durata de depozitare și de preincubare însumate nu trebuie să depășească trei luni.

1.9. EFECTUAREA TESTULUI

1.9.1. **Condiții de testare**

1.9.1.1. *Temperatura de testare*

Pe parcursul întregii perioade de testare, solurile se incubează la întuneric, la o temperatură constantă reprezentativă pentru condițiile climatice în care va fi utilizată sau eliberată substanța. Pentru toate substanțele testate care ajung în sol în climat temperat se recomandă o temperatură de 20 ± 2 °C. Temperatura se monitorizează.

În cazul substanțelor aplicate sau eliberate într-un climat mai rece (de exemplu în țările nordice, în perioade de toamnă/iarnă), se incubează probe suplimentare de sol la o temperatură mai mică (de exemplu 10 ± 2 °C).

([1]) Cercetări recente au arătat că solurile din zonele cu climat temperat se pot depozita la −20 °C timp de peste trei luni (18) (29) fără pierderi semnificative la nivelul activității microbiene.

1.9.1.2. *Conținutul de umiditate*

Pentru testele de transformare în mediu aerob, conținutul de umiditate al solului ([1]) se ajustează și se menține la un pF cuprins între 2,0 și 2,5 (3). Conținutul de umiditate al solului se exprimă ca masă de apă pe masă de sol uscat și se controlează în mod regulat (de exemplu la intervale de 2 săptămâni) prin cântărirea balonului de incubare, iar pierderile de apă se compensează prin adăugarea de apă (de preferință apă de la robinet sterilizată prin filtrare). Pierderile de substanță de testat și/sau de produși de transformare prin volatilizare și/sau fotodegradare (dacă este cazul) produse când se adaugă apă se vor evita sau se vor reduce la minimum.

Pentru testele de transformare în condiții aerobe și de orezărie solul se saturează cu apă prin inundare.

1.9.1.3. *Condiții aerobe de incubare*

În sistemele cu circulație continuă condițiile aerobe se mențin prin spălare intermitentă sau ventilare cu aer umezit. În baloanele de tip biometric, schimbul de aer se realizează prin difuziune.

1.9.1.4. *Condiții aerobe sterile*

Pentru obținerea de informații privind importanța transformării abiotice a unei substanțe de testat probele de sol pot fi sterilizate (pentru metode de sterilizare a se vedea referințele 16 și 29), tratate cu o substanță de testat sterilă (de exemplu prin adăugarea de soluție printr-un filtru steril) și aerate cu aer steril umed după cum se arată în secțiunea 1.9.1.3. În cazul solurilor de orezărie, solul și apa se sterilizează, iar incubarea se efectuează după cum se arată în secțiunea 1.9.1.6.

1.9.1.5. *Condiții anaerobe de incubare*

Pentru crearea și menținerea condițiilor anaerobe, solul tratat cu substanța de testat și incubat în condiții aerobe timp de 30 de zile sau pe parcursul unei perioade egale cu timpul de înjumătățire sau cu DT_{50} (aceea dintre ele care este mai scurtă) se acoperă apoi cu apă (strat de apă de 1-3 cm), iar sistemul de incubare se clătește cu un gaz inert (de exemplu azot sau argon) ([2]). Sistemul de testare trebuie să permită măsurarea pH-ului, a concentrației de oxigen și a potențialului redox și să conțină dispozitive de captare a produșilor volatili. Sistemul de tip biometric trebuie să fie închis pentru a evita orice intrare a aerului prin difuziune.

1.9.1.6. *Condiții de incubare în solurile de orezărie*

Pentru studierea transformării în solurile de orezărie, solul se inundă cu un strat de apă de 1-5 cm iar substanța de testat se introduce în faza apoasă (9). Se recomandă ca adâncimea stratului de sol să fie de cel puțin 5 cm. Sistemul se ventilează cu aer ca și în condiții aerobe. Se supraveghează și se înregistrează pH-ul, concentrația de oxigen și potențialul redox al stratului de apă. Înainte de începerea studiilor de transformare este necesară o perioadă de preincubare de cel puțin două săptămâni (a se vedea secțiunea 1.8.3.2).

([1]) Solul nu trebuie să fie nici prea umed, nici prea uscat, astfel încât să se asigure condiții adecvate de aerare și de nutriție pentru microflora din sol. Conținuturile de umiditate recomandat pentru o creștere microbiană optimă variază între 40-60 % din capacitatea de reținere de apă (WHC) și între 0,1-0,33 bari (6). Acest ultim interval corespunde unui interval de pF de 2,0-2,5. În anexa 2 sunt prezentate conținuturile tipice de umiditate ale diferitelor tipuri de soluri.

([2]) Condițiile aerobe sunt predominante în solurile de suprafață și chiar în solurile subterane, după cum au arătat rezultatele unui proiect de cercetare finanțat de UE [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, Sigtuna, Suedia]. Producerea condițiilor anaerobe este posibilă ocazional în timpul inundării solurilor după ploi abundente sau în cazul condițiilor de orezărie.

1.9.1.7. *Durata testului*

În general, studiile privind rata și căile de transformare nu trebuie să depășească 120 de zile ([1]) (3) (6) (8), deoarece după acest termen sistemele artificiale de laborator în care nu se produce o reconstituire naturală sunt afectate în timp de o scădere a activității microbiene din sol. Dacă este necesară o caracterizare a epuizării substanței de testat și a formării și epuizării principalilor produși de transformare, studiile pot fi continuate pe parcursul unor perioade mai lungi (de exemplu între 6 și 12 luni) (8). Dacă se folosesc perioade de incubație mai lungi, acestea trebuie justificate în raportul testului și trebuie menționate măsurătorile biomasei efectuate în timpul și la sfârșitul acestor perioade.

1.9.2. **Efectuarea testului**

Se introduc 50 până la 200 g de sol (greutate uscată) în fiecare balon de incubare (a se vedea figurile 1 și 2 din anexa 3) și se tratează cu substanța de testat cu ajutorul uneia dintre metodele descrise în secțiunea 1.8.2. Dacă pentru aplicarea substanței de testat se folosesc solvenți organici, aceștia se elimină din sol prin evaporare. În continuare, solul se amestecă bine cu o spatulă și/sau prin agitarea balonului. Dacă studiul se desfășoară în condiții de orezărie, solul și apa se amestecă bine după aplicarea substanței de testat. Se analizează substanța de testat prezentă în părți alicote mici (de exemplu 1 g) din solurile tratate pentru a verifica dacă repartizarea este uniformă. În continuare este prezentată o metodă alternativă.

Tratamentul aplicat trebuie să corespundă celei mai mari rate de aplicare a produsului fitosanitar recomandate în instrucțiunile de utilizare și să poată fi încorporat uniform și la o adâncime adecvată în sol (de exemplu în stratul ([2]) format de primii 10 cm de la suprafața solului). De exemplu pentru substanțele chimice aplicate pe frunze sau pe sol care nu sunt încorporate în sol, adâncimea adecvată pentru calcularea cantității de substanță chimică de adăugat în fiecare balon este de 2,5 cm. Pentru substanțele chimice încorporate în sol, adâncimea adecvată este adâncimea de încorporare menționată în instrucțiunile de utilizare. Pentru substanțele chimice obișnuite, doza aplicată se estimează având în vedere cea mai relevantă cale de intrare; de exemplu, dacă cea mai relevantă cale de intrare în sol este prin nămoluri de epurare, substanța chimică se dozează în nămol într-o concentrație egală cu concentrația anticipată din nămol, iar cantitatea de nămol adăugată în sol trebuie să fi egală cu cantitatea de nămol adăugată în mod obișnuit în solurile agricole. Dacă această concentrație nu este suficient de ridicată pentru identificarea principalilor produși de transformare, este utilă incubarea unor probe de sol separate care conțin rate mai mari de substanță, dar trebuie evitate ratele excesive care influențează funcțiile microbiene ale solului (a se vedea secțiunile 1.5 și 1.8.2).

Ca alternativă, se poate trata un lot mai mare de sol (1 până la 2 kg) cu substanța de testat, amestecându-se bine într-un malaxor adecvat, și se transferă părți mici de 50 până la 200 g în baloane de incubare (de exemplu cu ajutorul unor repartitoare de probe). Se analizează părți alicote mici (de exemplu de 1 g) din lotul de sol tratat pentru a verifica dacă repartizarea substanței de testat este uniformă. Această procedură este preferabilă, deoarece permite o repartizare mai uniformă a substanței de testat în sol.

Se incubează și probe de sol netratate în aceleași condiții (aerobe) ca și probele tratate cu substanța de testat. Aceste probe se utilizează pentru măsurarea biomasei pe parcursul studiilor și la finalul acestora.

([1]) Studiile aerobe pot fi încheiate în mai puțin de 120 de zile sub rezerva utilizării căii de transformare și a producerii mineralizării efective până la data respectivă. Testul poate fi încheiat după 120 de zile sau când cel puțin 90 % din substanța de testat este transformată, dar numai dacă s-a format cel puțin 5 % CO_2.

([2]) Calculul concentrației inițiale în funcție de suprafață se realizează pe baza următoarei ecuații:

$$C_{sol}[mg/kg_{sol}] = \frac{A[kg/ha] \cdot 10^6[mg/kg]}{1[m] \cdot 10^4[m^2/ha] \cdot d[kg_{sol}/m^3]}$$

C_{sol} = Concentrația inițială din sol [$mg \cdot kg^{-1}$]
A = Rata de aplicare [$mg \cdot ha^{-1}$]; 1 = grosimea stratului de sol [m]; d = densitatea aparentă a solului uscat [$kg \cdot m^3$].
Ca regulă generală, o rată de aplicare de 1 $kg \cdot ha^{-1}$ determină o concentrație de aproximativ 1 $mg \cdot kg^{-1}$ într-un strat de 10 cm (presupunând că densitatea aparentă este de 1 $g \cdot cm^{-3}$).

Dacă substanța de testat se aplică pe sol dizolvată în unul sau mai mulți solvenți organici, se incubează probe de sol tratate cu aceeași cantitate de solvent sau solvenți în aceleași condiții (aerobe) ca și probele tratate cu substanța de testat. Aceste probe se folosesc pentru măsurarea biomasei la începutul, în timpul și la finalul studiilor pentru a se verifica efectele solventului sau solvenților asupra biomasei microbiene.

Baloanele care conțin sol tratat se conectează la un sistem cu circulație continuă de tipul celui descris în figura 1 sau se închid cu o coloană de absorbție de tipul celei prezentate în figura 2 (a se vedea anexa 3).

1.9.3. **Prelevare de probe și măsurători**

Se scot baloane de incubare duplicat la intervale adecvate și se extrag probele de sol cu ajutorul unor solvenți adecvați cu polaritate diferită și se analizează în vederea măsurării substanței de testat și/sau a produșilor de transformare. Un studiu bine proiectat include suficiente baloane pentru ca două dintre acestea să poată fi sacrificate la fiecare prelevare. De asemenea, se scot soluții de absorbție sau materiale solide de absorbție la diferite intervale de timp (la intervale de 7 zile în prima lună, iar apoi la intervale de 17 zile) pe parcursul și la sfârșitul perioadei de incubare a fiecărei probe de sol și se analizează produșii volatili. De altfel, pe lângă proba de sol prelevată direct după aplicare (proba din ziua 0) trebuie să mai existe cel puțin 5 puncte suplimentare de prelevare. Intervalele de timp se aleg astfel încât să se poată determina modelul de epuizare pentru substanța de testat și modelele de formare și de epuizare a produșilor de transformare (de exemplu zilele 0, 1, 3, 7; 2, 3 săptămâni; 1, 2, 3 luni etc.).

Dacă substanța de testat este marcată cu ^{14}C, radioactivitatea neextractibilă se cuantifică prin combustie și se calculează un bilanț masic pentru fiecare interval de prelevare.

În cazul incubării anaerobe sau în mediu de orezărie, faza de sol și faza apoasă se analizează împreună în vederea măsurării substanței de testat, iar produșii de transformare se separă prin filtrare sau centrifugare înainte de extracție și de analizare.

1.9.4. **Teste facultative**

Studiile aerobe nesterile la alte temperaturi și umidități ale solului pot fi utile pentru estimarea influenței temperaturii și umidității solului asupra ratelor de transformare a unei substanțe de testat și/sau a produșilor de transformare ai acesteia din sol.

Se poate încerca realizarea unei caracterizări suplimentare a radioactivității neextractibilă utilizându-se, de exemplu, extracția cu un lichid supercritic.

2. **DATE**

2.1. PRELUCRAREA REZULTATELOR

Cantitățile de substanță de testat, de produși de transformare, de substanțe volatile (exprimate numai în %) și de produși neextractibili se exprimă ca % din concentrația inițială aplicată și, dacă este cazul, ca $mg \cdot kg^{-1}$ de sol (ca greutate uscată a solului) pentru fiecare interval de prelevare. Se furnizează și un bilanț masic exprimat ca procent din concentrația aplicată inițial pentru fiecare interval de prelevare. Reprezentarea grafică a concentrațiilor substanței de testat în funcție de timp permite estimarea timpului de înjumătățire al transformării sau DT_{50}. Se identifică principalii produși de transformare, iar concentrațiile acestora se reprezintă în funcție de timp astfel încât să fie ilustrate ratele de formare și de epuizare ale acestora. Este produs principal de transformare orice produs care reprezintă ≥ 10 % din doza aplicată în orice moment de pe parcursul studiului.

Produsele volatile captate oferă indicații privind potențialul volatil al substanței de testat și produșii de transformare ai acesteia din sol.

Timpul de înjumătățire sau valorile DT_{50} și, dacă este cazul, valorile DT_{75} și DT_{90} se pot determina cu mai multă precizie utilizându-se metode de calcul bazate pe modele cinetice adecvate. Durata timpului de înjumătățire și valorile DT_{50} sunt incluse în raport, împreună cu o descriere a modelului cinetic utilizat, cu ordinul cineticii și cu coeficientul de determinare (r^2). Este preferabilă cinetica de prim ordin, cu excepția cazurilor în care $r^2 < 0,7$. Dacă este cazul, calculele se aplică și principalilor produși de transformare. Referințele 31-35 conțin exemple de modele adecvate.

În cazul studiilor privind ratele de transformare realizate la diferite temperaturi, acestea sunt descrise în funcție de temperatură în cadrul intervalului experimental de temperatură cu ajutorul relației lui Arrhenius:

$$k = A \cdot e^{-B/T} \text{ sau } \ln k = \ln A - \frac{B}{T},$$

unde A și B sunt constantele de regresie, respectiv segmentul și panta dreptei de interpolare determinate de regresia liniară a ln k față de 1/T, unde k este constanta de viteză la temperatura T, iar T este temperatura în grade Kelvin. Dacă transformarea depinde de activitatea microbiană, trebuie acordată o atenție specială intervalului limitat de temperaturi în care se aplică relația Arrhenius.

2.2. EVALUAREA ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

Deși studiile se realizează într-un sistem artificial de laborator, rezultatele permit estimarea ratei de transformare a substanței de testat, precum și rata de formare și de epuizare a produșilor de transformare în condiții de teren (36) (37).

Studiile asupra căilor de transformare a unei substanțe de testat oferă informații privind modul în care structura substanței aplicate se modifică în sol prin reacții chimice și microbiene.

3. RAPORTARE

3.1 RAPORTUL TESTULUI

Raportul testului trebuie să conțină următoarele informații:

substanța de testat:

- denumirea comună, denumirea chimică, numărul CAS, formula structurală [indicându-se poziția marcajului (marcajelor) radioactiv(e) dacă se folosește material marcat radioactiv] și proprietățile fizice și chimice relevante (a se vedea secțiunea 1.5);
- puritatea (impuritățile) substanței de testat;
- puritatea radiochimică a substanței chimice marcate și activitatea specifică (dacă este cazul).

Substanțe de referință:

- denumirea chimică și structura substanțelor de referință utilizate pentru caracterizarea și/sau identificarea produșilor de transformare.

Solurile de testare:

- detalii privind locul de colectare;
- data și procedura de prelevare a solului;
- proprietățile solului cum sunt pH-ul, conținutul de carbon organic, textura (% nisip, % aluviuni, % argilă), capacitatea de schimb de cationi, densitatea aparentă, caracteristicile de reținere a apei și biomasa microbiană;
- durata depozitării solului și condițiile de depozitare (dacă este depozitat).

Condiții de testare:

— datele la care au fost realizate studiile;

— cantitatea de substanță de testat aplicată;

— solvenții utilizați și metoda de aplicare a substanței de testat;

— greutatea solului tratat inițial și prelevat la fiecare interval în vederea analizei;

— descrierea sistemului de incubare utilizat;

— debitul de aer (numai pentru sistemele cu circulație continuă);

— temperatura la începutul experimentului;

— conținutul de umiditate din sol pe parcursul incubării;

— biomasa microbiană inițială, de pe parcursul derulării și de la sfârșitul studiilor aerobe și în condiții de orezărie;

— pH-ul, concentrația de oxigen și potențialul redox inițiale, de pe parcursul derulării și de la sfârșitul studiilor aerobe și în condiții de orezărie;

— metoda(metodele) de extracție;

— metodele de identificare și de cuantificare a substanței de testat și principalii produși de transformare din sol și materialele de absorbție;

— numărul de duplicate și de probe martor.

Rezultate:

— rezultatul determinării activității microbiene;

— repetabilitatea și sensibilitatea metodelor analitice utilizate;

— ratele de recuperare (procentele acceptabile pentru ca un studiu să fie considerat valabil sunt prezentate în secțiunea 1.7.1);

— tabelul rezultatelor exprimate ca % din doza inițială aplicată și, dacă este cazul, în $mg \cdot kg^{-1}$ de sol (greutate uscată);

— bilanțul masic de pe parcursul și de la începutul studiilor;

— caracterizarea radioactivității neextractibile (legate) sau a reziduurilor din sol;

— cuantificarea CO_2 degajat și a altor compuși volatili;

— grafice ale concentrațiilor substanței de testat din sol în funcție de timp și, dacă este cazul, grafice pentru produșii importanți de transformare;

— timpul de înjumătățire sau DT_{50}, DT_{75} și DT_{90} pentru substanța de testat și, dacă este cazul, pentru produșii principali de transformare, inclusiv pragurile de încredere;

— estimarea ratei de degradare abiotică în condiții sterile;

— o evaluare a cineticii de transformare a substanței de testat și, dacă este cazul, a principalilor produși de transformare;

— căile de transformare propuse, dacă este cazul;

— discutarea și interpretarea rezultatelor;

— date brute (de exemplu cromatogramele probelor, calculele privind viteza de transformare a probelor și mijloacele utilizate pentru identificarea produșilor de transformare).

4. **REFERINȚE BIBLIOGRAFICE:**

(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) Uniunea Europeană (UE) (1995). Directiva 95/36/CE din 14 iulie 1995 de modificare a Directivei 91/414/CEE a Consiliului privind introducerea pe piață a produselor fitofarmaceutice, anexa II partea A și anexa III partea A: Evoluție și comportamentul în mediu.

(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. (1993). Soil Quality – Guidance on laboratory tests for biodegradation 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 - Europe (1995). Procedures for Assessing the Environmental Fate and Ecotoxicity of Pesticides, Mark R. Lynch, Ed.

(9) MAFF – Japan 2000 – Draft Guidelines for transformation studies of pesticides in soil – Aerobic metabolism study in soil under paddy field conditions (flooded).

(10) OECD (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/Sediments, Belgirate, Italy, 18-20 January 1995.

(11) Guth, J.A. (1980). The study of transformations. In Interactions between Herbicides and the Soil (R.J. Hance, Ed.), Academic Press, 123-157.

(12) DFG: Pesticide Bound Residues in Soil. Wiley – VCH (1998).

(13) T.R. Roberts: Non extractable pesticide residue in soils and plants. Pure Appl. Chem. 56, 945-956 (IUPAC 1984)

(14) OECD Test Guideline 304 A: Inherent Biodegradability in Soil (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) Anexa V la Directiva 67/548/CEE

(17) Guth, J.A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. In Progress in Pesticide Biochemistry. D.H. Hutson, T.R. Roberts, Eds. J. Wiley & Sons, Vol. 1, 85-114.

(18) Soil Texture Classification (US and FAO systems): Weed Science, 33, Supp1. 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, Ed.) Agronomy Series No. 9, 2nd Edition.

(20) Methods of Soil Analysis (1982). Part 2, Chemical and Microbiological Properties. A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Kelney, Eds. Agronomy Series No. 9, 2nd Edition.

(21) ISO Standard Compendium Environment (1994). Soil Quality – General aspects; chemical and physical methods of analysis; biological methods of analysis. First Edition.

(22) Mückenhausen, E. (1975). Die Bodenkunde und ihre geologischen, geomorphologischen, mineralogischen und petrologischen Grundlagen. DLG-Verlag, Frankfurt, Main.

(23) Scheffer, F., Schachtschabel, P. (1975). Lehrbuch der Bodenkunde. F. Enke Verlag, Stuttgart.

(24) Anderson, J.P.E., Domsch, K.H. (1978). A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. Soil Biol. Biochem. 10, 215-221.

(25) ISO 14240-1 and 2 (1997). Soil Quality – Determination of soil microbial biomass – Part 1: Substrate-induced respiration method. Part 2: fumigation-extraction method.

(26) Anderson, J.P.E. (1987). Handling and storage of soils for pesticide experiments. In Pesticide Effects on Soil Microflora. L. Somerville, M.P. Greaves, Eds. Taylor & Francis, 45-60.

(27) Kato, Yasushiro. (1998). Mechanism of pesticide transformation in the environment: Aerobic and bio-transformation of pesticides in aqueous environment. Proceedings of the 16th Symposium on Environmental Science of Pesticides, 105-120.

(28) Keuken O., Anderson J.P.E. (1996). Influence of storage on biochemical processes in soil. In Pesticides, Soil Microbiology and Soil Quality, 59-63 (SETAC-Europe).

(29) Stenberg B., Johansson M., Pel1 M., Sjödah1-Svensson K., Stenström J., Torstensson L. (1996). Effect of freeze and cold storage of soil on microbial activities and biomass. In Pesticides, Soil Microbiology and Soil Quality, 68-69 (SETAC-Europe).

(30) Gennari, M., Negre, M., Ambrosoli, R. (1987). Effects of ethylene oxide on soil microbial content and some chemical characteristics. Plant and Soil 102, 197-200.

(31) Anderson J.P.E. (1975). Einfluss von Temperatur und Feuchte auf Verdampfung, Abbau und Festlegung von Diallat im Boden. Z. PflKrankh Pflschutz, Sonderheft VII, 141-146.

(32) Hamaker, J.W. (1976). The application of mathematical modelling to the soil persistence and accumulation of pesticides. Proc. BCPC Symposium: Persistence of Insecticides and Herbicides, 181-199.

(33) Goring C.A.I., laskowski, D.A., Hamaker, J.W., Meikle, R.W. (1975). Principles of pesticide degradation in soil. In „Environmental Dynamics of Pesticides". R. Haque and V.H. Freed, Eds., 135-172.

(34) Timme, G., Freshe, 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., Freshe, H. (1980). Statistical interpretation and graphic representation of the degradational behaviour of pesticide residues. I. Pflanzenschutz – Nachrichten Bayer 33, 47-60.

(36) Gustafson D.I., Holden L.R. (1990). Non-linear pesticide dissipation in soil; a new model based on spatial variability. Environm. Sci. Technol. 24, 1032-1041.

(37) Hurle K., Walker A. (1980). Persistence and its prediction. In Interactions between Herbicides and the Soil (R.J. Hance, Ed.), Academic Press, 83-122.

ANEXA 1

SUCȚIUNEA, CAPACITATEA CÂMPULUI (FC) ŞI CAPACITATEA DE REȚINERE A APEI (WRC) [1]

Înălțimea coloanei de apă [cm]	pF [a]	bar [b]	Observații
10^7	7	10^4	Sol uscat
$1{,}6 \cdot 10^4$	4,2	16	Punct de ofilire
10^4	4	10	
10^3	3	1	
$6 \cdot 10^2$	2,8	0,6	
$3{,}3 \cdot 10^2$	2,5	0,33 [c]	
10^2	2	0,1	Interval de capacități ale câmpului [d]
60	1,8	0,06	
33	1,5	0,033	
10	1	0,01	Capacitate de reținere a apei (aproximativă)
1	0	0,001	Sol saturat de apă

[a] pF = log din valoarea coloanei de apă exprimate în cm.

[b] 1 bar = 10^5 Pa.

[c] Corespunde unui conținut aproximativ de apă de 10 % în nisip, de 35 % în aluviuni și de 45 % în argilă.

[d] Capacitatea câmpului nu este constantă, ci variază în funcție de tipul de sol de la pF 1,5 la 2,5.

Sucțiunea se măsoară în cm coloană de apă sau în bari. Deoarece intervalul valorilor sucțiunii este foarte mare, se exprimă simplu ca valoare pF, adică echivalentul logaritmului din valoarea coloanei de apă exprimată în cm.

Capacitatea câmpului se definește ca fiind cantitatea de apă care poate fi stocată, având în vedere gravitația, de un sol natural după 2 zile de la încheierea unei perioade lungi de ploaie sau după ce a fost irigat suficient. Se determină în sol nederanjat, *in situ,* pe câmp. Această măsurătoare nu se poate realiza pe probe de sol de laborator deranjat. Valorile FC determinate pentru soluri deranjate pot prezenta variații sistematice considerabile.

Capacitatea de reținere a apei (WHC) se determină în laborator pe soluri deranjate și nederanjate prin saturarea unei coloane de sol cu apă prin transport capilar. Este extrem de utilă pentru solurile deranjate și poate fi cu până la 30 % mai mare decât capacitatea câmpului (1). Se determină experimental mai ușor decât se determină valori FC fiabile.

[1] Mückenhausen, E. (1975). Die Bodenkunde und ihre geologischen, geomorphologischen, mineralogischen und petrologischen Grundlagen, D1G-Verlag, Frankfurt, Main.

ANEXA 2

CONȚINUTUL DE UMIDITATE (g de apă în 100 g sol uscat) AL DIFERITELOR TIPURI DE SOL DIN DIFERITE ȚĂRI

Tip de sol	ara	Conținut de umiditate la		
		WHC (1)	pF = 1,8	pF = 2,5
Nisip	Germania	28,7	8,8	3,9
Nisip lutos	Germania	50,4	17,9	12,1
Nisip lutos	Elveția	44,0	35,3	9,2
Lut nisipos fin	Elveția	72,8	56,6	28,4
Argilă lutoasă	Brazilia	69,7	38,4	27,3
Argilă lutoasă	Japonia	74,4	57,8	31,4
Argilă nisipoasă	Japonia	82,4	59,2	36,0
Lut nisipos fin	Statele Unite	47,2	33,2	18,8
Argilă nisipoasă	Statele Unite	40,4	25,2	13,3

(1) Capacitate de reținere a apei

ANEXA 3

Figura 1

Exemplu de aparat cu circulație continuă pentru studiul transformării substanțelor chimice în sol (1) (2)

1: supapă cu ac

2: sticlă de spălare cu gaz care conține apă

3: ultramembrană (numai în condiții sterile), dimensiunea porilor 0,2 µm

4: flacon pentru metabolismul solului (saturat cu apă numai în condiții anaerobe și de sol de orezărie;)

5: dispozitiv cu etilen glicol pentru captarea compușilor organici volatili

6: dispozitiv cu acid sulfuric pentru captarea compușilor alcalini volatili

7, 8: dispozitiv cu hidroxid de sodiu pentru captarea CO_2 și a compușilor acizi volatili

9: debitmetru

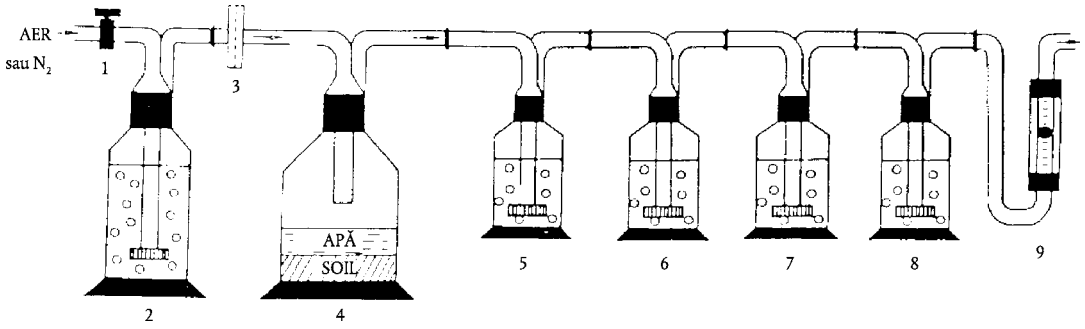
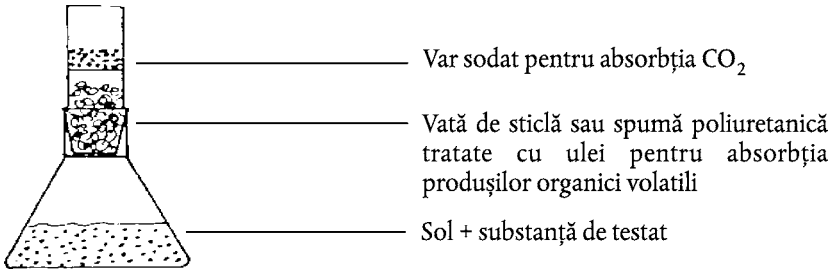


Figura 2

Exemplu de balon de tip biometric pentru studiul transformării substanțelor chimice în sol (3)



(1) Guth, J.A. (1980). The study of transformations. In Interactions between Herbicides and the Soil (R.J. Hance, Ed.), Academic Press, 123-157.

(2) Guth, J.A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. In Progress in Pesticide Biochemistry. D.H. Hutson, T.R. Roberts, Eds. J. Wiley & Sons. Vol. 1, 85-114.

(3) Anderson J.P.E. (1975). Einfluss von Temperatur und Feuchte auf Verdampfung, Abbau und Festlegung von Diallat im Boden. Z. PflKrankh Pflschutz, Sonderheft VII, 141-146.

C.24. TRANSFORMĂRI AEROBE ȘI ANAEROBE ÎN SISTEMELE DE SEDIMENTE ACVATICE

1. METODĂ

Această metodă de testare reia testul OCDE TG 308 (2002).

1.1. INTRODUCERE

Substanțele chimice pot intra în apele de suprafață puțin adânci sau foarte adânci pe căi cum sunt aplicarea directă, pierderile la vaporizare, scurgerile, drenarea, eliminarea deșeurilor, efluenții industriali, menajeri sau agricoli și depunerile atmosferice. Această metodă de testare reia o metodă de laborator elaborată pentru măsurarea transformărilor aerobe și anaerobe ale substanțelor chimice din sedimentele acvatice. Se bazează pe orientările existente (1) (2) (3) (4) (5) (6). Numărul și tipul sedimentelor utilizate în cadrul acestui test au fost definite cu ocazia unui atelier de lucru al OCDE privind selectarea solului/sedimentelor care a avut loc la Belgirate, Italia, în 1995 (7). În cadrul atelierului de lucru au fost de asemenea formulate recomandări privind prelevarea, manipularea și depozitarea probelor de sedimente bazate pe orientările ISO (8). Aceste studii sunt necesare pentru substanțele chimice introduse direct în apă sau care ar putea ajunge în mediul acvatic pe căile descrise anterior.

Faza apoasă superioară a sistemelor naturale de sedimente acvatice asigură de obicei condiții aerobe. Stratul de sediment de la suprafață poate fi atât aerob, cât și anaerob, dar în adâncime sedimentele sunt în general anaerobe. Pentru a reflecta toate aceste posibilități, prezentul document descrie atât teste aerobe, cât și teste anaerobe. Testul aerob constă din simularea unei coloane aerobe de apă peste un strat aerob de sediment și un substrat cu gradient anaerob. Testul anaerob simulează un sistem apă-sediment complet anaerob. Dacă situația impune devieri semnificative de la aceste recomandări, de exemplu prin utilizarea de carote de sediment intact sau de sedimente care este posibil să fi fost expuse la substanța de testat, pot fi utilizate alte metode (9).

1.2. DEFINIȚII

Se folosesc întotdeauna unitățile standard internaționale (SI).

Substanță de testat: orice substanță, indiferent dacă este vorba despre substanța mamă sau despre produșii de transformare relevanți.

Produși de transformare: toate substanțele rezultate din reacțiile biotice sau abiotice de transformare a substanței de testat, în special CO_2 și reziduurile legate.

Reziduuri legate: „reziduurile legate" sunt compuși vegetali sau animali din sol, care persistă în matrice după extracție sub forma substanței mamă sau a metabolitului (metaboliților) acesteia. Metoda de extracție nu trebuie să modifice considerabil compușii înșiși sau structura matricei. Natura legăturii poate fi determinată parțial prin metode de extracție care modifică matricea și prin tehnici analitice complexe. Până în prezent a fost identificată în acest mod natura legăturilor covalente, ionice, de sorbție și de captare. În general, formarea reziduurilor legate reduce bioaccesibilitatea și biodisponibilitatea în mod considerabil (10) [modificare IUPAC 1984 (11)].

Transformare aerobă: (oxidare): reacție care se produce în prezența oxigenului molecular (12).

Transformare anaerobă: (reducere): reacție care se produce în absența oxigenului molecular (12).

Ape naturale: sunt apele de suprafață obținute din lacuri, râuri, fluvii etc.

Sediment: este un amestec de constituenți chimici minerali și organici, aceștia din urmă conținând compuși cu un conținut ridicat de carbon și azot și cu masă moleculară mare. Este depus de apele naturale și formează interfața cu acestea.

Mineralizare: este degradarea completă a unui compus organic în CO_2 și H_2O în condiții aerobe și în CH_4, CO_2 și H_2O în condiții anaerobe. În cadrul prezentei metode de test, dacă se folosește un compus marcat radioactiv, mineralizare înseamnă o degradare considerabilă pe parcursul căreia un atom de carbon marcat este oxidat sau redus cantitativ, degajându-se o cantitate adecvată de $^{14}CO_2$ sau respectiv de $^{14}CH_4$.

Timp de înjumătățire: $t_{0,5}$ este timpul necesar pentru transformarea a 50 % dintr-o substanță de testat în cazul transformărilor care pot fi descrise printr-o cinetică de prim ordin; nu depinde de concentrația inițială.

DT_{50} (timp de degradare 50): este timpul în care concentrația inițială a substanței de testat se reduce cu 50 %.

DT_{75} (timp de degradare 75): este timpul în care concentrația inițială a substanței de testat se reduce cu 75 %.

DT_{90} (timp de degradare 90): este timpul în care concentrația inițială a substanței de testat se reduce cu 90 %.

1.3. SUBSTANȚE DE REFERINȚĂ

Pentru identificarea și cuantificarea produșilor prin metode spectroscopice și cromatografice se folosesc substanțe de referință.

1.4. INFORMAȚII PRIVIND SUBSTANȚA DE TESTAT

Pentru măsurarea ratei de transformare se poate utiliza o substanță de testat marcată sau nemarcată, deși este preferabil materialul marcat. Materialul marcat este necesar pentru studierea căilor de transformare și pentru stabilirea bilanțului masic. Se recomandă marcarea cu ^{14}C dar poate fi utilă și utilizarea altor izotopi cum sunt ^{13}C, ^{15}N, ^{3}H, ^{32}P. În măsura în care este posibil, marcajul se amplasează în partea sau părțile cele mai stabile ale moleculei (1). Puritatea chimică și/sau radiochimică a substanței de testat trebuie să fie de cel puțin 95 %.

Înainte de efectuarea unui test sunt necesare următoarele informații privind substanța de testat:

(a) solubilitatea în apă (Metoda A.6);

(b) solubilitatea în solvenți organici;

(c) presiunea vaporilor (Metoda A.4) și constanta lui Henry;

(d) coeficientul de împărțire n-octanol/apă (Metoda A.8);

(e) coeficientul de adsorbție (K_d, K_r sau K_{oc}, dacă este cazul) (Metoda C.18);

(f) hidroliza (Metoda C.7);

(g) constanta de disociere (pK_a) [Orientarea 112 a OECD] (13);

(h) structura chimică a substanței de testat și poziția etichetei sau etichetelor izotopice, dacă este cazul.

Notă: se precizează și temperatura la care au fost efectuate aceste măsurători.

Este posibil să fie utile și informații privind toxicitatea substanței de testat asupra microorganismelor din sol, privind biodegradabilitatea imediată și/sau intrinsecă și date privind transformările aerobe și anaerobe din sol.

(1) De exemplu, dacă substanța de testat conține un ciclu, acesta trebuie marcat; dacă substanța de testat conține două sau mai multe cicluri, este posibil să fie necesare studii separate pentru evaluarea evoluției fiecărui ciclu și pentru a obține informații fiabile privind formarea produșilor de transformare.

Trebuie să fie disponibile metode analitice (inclusiv metode de extracție și de purificare) necesare pentru cuantificarea și identificarea substanței de testat și a produșilor de transformare ai acesteia din apă și din sedimente (a se vedea secțiunea 1.7.2).

1.5. PRINCIPIUL METODEI DE TESTARE

În cadrul metodei descrise se folosește un sistem de sedimente acvatice aerobe și anaerobe (a se vedea anexa 1) care permite:

(i) măsurarea ratei de transformare a substanței de testat într-un sistem apă-sediment;

(ii) măsurarea ratei de transformare a substanței de testat într-un sediment;

(iii) măsurarea ratei de mineralizare a substanței de testat și/sau a produșilor săi de transformare (dacă se folosește o substanță de testat marcată cu ^{14}C);

(iv) identificarea și cuantificarea produșilor de transformare din faza apoasă și din faza sedimentară și în special realizarea bilanțului masic (dacă se testează o substanță marcată);

(v) măsurarea modului de repartizare a substanței de testat și a produșilor de transformare ai acesteia între cele două faze pe parcursul unei perioade de incubare la întuneric (pentru a evita, de exemplu proliferarea algelor) la o temperatură constantă. Timpul de înjumătățire, valorile DT_{50}, DT_{75} și DT_{90} se determină dacă datele permit acest lucru, dar nu trebuie extrapolate dincolo de perioada experimentală (a se vedea secțiunea 1.2).

Pentru studiul aerob și respectiv pentru studiul anaerob sunt necesare cel puțin două sedimente și fazele apoase asociate acestora (7). Cu toate acestea, este posibil ca în unele cazuri să fie necesară utilizarea a mai mult de două sedimente acvatice, de exemplu în cazul substanțelor care pot fi prezente în apă dulce și/sau în mediul marin.

1.6. APLICABILITATEA TESTULUI

Metoda se aplică tuturor substanțelor chimice (nemarcate sau marcate) pentru care se poate utiliza o metodă analitică cu o precizie și o sensibilitate suficientă. Se aplică pentru compușii ușor volatili, nevolatili, solubili sau insolubili în apă. Testul nu se aplică substanțelor chimice puternic volatile în apă (de exemplu fumiganți, solvenți organici) care de aceea nu pot fi menținute în apă și/sau în sedimente în condițiile experimentale din cadrul acestui test.

Metoda a fost utilizată până în prezent pentru studierea transformării substanțelor chimice în ape dulci și în sedimente, dar în principiu poate fi aplicată și sistemelor de estuar/marine. Metoda nu este adecvată pentru simularea condițiilor din ape curgătoare (de exemplu din râuri) sau din largul mării.

1.7. CRITERII DE CALITATE

1.7.1. **Recuperare**

Extracția și analizarea probelor de apă și de sediment, cel puțin în duplicat, imediat după adăugarea substanței de testat, oferă o primă indicație privind repetabilitatea metodei analitice și uniformitatea procedurii de aplicare a substanței de testat. Ratele de recuperare din etapele ulterioare ale experimentelor sunt furnizate de bilanțurile masice respective (dacă se folosește material marcat). Ratele de recuperare variază între 90 % și 110 % pentru substanțele chimice marcate (6) și între 70 % și 110 % pentru substanțele chimice nemarcate.

1.7.2. **Repetabilitatea și sensibilitatea metodei analitice**

Repetabilitatea metodei analitice (cu excepția randamentului extracției inițiale) în ceea ce privește cuantificarea substanței de testat și a produșilor de transformare se poate controla prin efectuarea unei analize duplicat pe același extract de apă sau de sediment, incubat suficient timp pentru a se forma produșii de transformare.

Pragul de detecție (LOD) a substanței de testat și a produșilor de transformare din cadrul metodei de analiză trebuie să fie de cel puțin 0,01 $mg \cdot kg^{-1}$ (substanță de testat) în apă sau în sediment sau de 1 % din doza inițială aplicată, respectiv valoarea mai mică dintre acestea. Se precizează și pragul de cuantificare (LOQ).

1.7.3. **Precizia datelor privind transformarea**

Analiza de regresie a concentrațiilor substanței de testat în funcție de timp oferă informații adecvate privind fiabilitatea curbei de transformare și permite calcularea pragurilor de încredere pentru timpii de înjumătățire (în cazurile de cinetică de pseudo prim ordin) sau a valorilor DT_{50} și, dacă este cazul, a valorilor DT_{75} și DT_{90}.

1.8. DESCRIEREA METODEI DE TESTARE

1.8.1. **Sistemul și aparatura de testare**

Studiul se realizează în recipiente de sticlă (de exemplu sticle, tuburi de centrifugare), cu excepția cazurilor în care informațiile preliminare (coeficientul de împărțire n-octanol/apă, datele privind sorbția etc.) arată că este posibil ca substanța de testat să adere la sticlă, caz în care se poate lua în considerare utilizarea unui alt material (de exemplu Teflon). Dacă se știe că substanța de testat aderă la sticlă, problema poate fi evitată cu ajutorul uneia sau al mai multora dintre următoarele metode:

— determinarea masei de substanță de testat și/sau de produși de transformare ai acesteia absorbiți pe sticlă;

— spălarea tuturor vaselor de sticlă cu solvent la sfârșitul testului;

— utilizarea unor produse preparate (a se vedea și secțiunea 1.9.2);

— utilizarea unei cantități mai mari de co-solvent pentru adăugarea substanței de testat în sistem; dacă se folosește un co-solvent, acesta trebuie să nu producă o reacție de solvoliză a substanței de testat.

În anexele 2 și 3 și în referința (14) sunt prezentate exemple de aparatură de testare tipică (sisteme cu flux continuu și de tip biometru). Alte sisteme utile de incubare sunt descrise la referința (15). Aparatura de experiment trebuie să permită schimbul de aer sau de azot și captarea produșilor volatili. Dimensiunile aparaturii trebuie să permită îndeplinirea cerințelor de testare (a se vedea secțiunea 1.9.1). Ventilarea se poate realiza fie prin barbotare ușoară, fie prin trecerea de aer sau de azot pe suprafața apei. În al doilea caz se recomandă amestecarea ușoară la suprafața apei pentru obținerea unei mai bune repartizări a oxigenului sau a azotului în apă. Nu se va utiliza aer fără CO_2, deoarece acesta poate provoca o creștere a pH-ului apei. În ambele cazuri, deranjarea sedimentului trebuie evitată în cea mai mare măsură posibil. Substanțele chimice puțin volatile se testează într-un sistem de tip biometru prin amestecarea ușoară a apei de la suprafață. Pentru captarea produșilor volatili se pot utiliza, de asemenea, recipiente închise, cu un spațiu liber umplut fie cu aer atmosferic fie cu azot, și fiole interne (16). În cadrul testelor anaerobe este necesar un schimb regulat de gaz la suprafață pentru compensarea consumului de oxigen de către biomasă.

Pentru captarea produșilor volatili de transformare se pot utiliza, dar nu în mod limitativ, următoarele dispozitive: soluții de 1 $mol \cdot dm^{-3}$ de hidroxid de potasiu sau de hidroxid de sodiu pentru dioxidul de carbon ([1]) și etilen glicol, etanolamină sau parafină 2 % în xilen pentru compuși organici. Produșii volatili formați în condiții anaerobe, cum este metanul, se pot recupera, de exemplu cu ajutorul sitelor moleculare. Acești produși volatili se pot arde, de exemplu până la CO_2, prin trecerea gazului printr-un tub cu cuarț umplut cu CuO la o temperatură de 900 °C și captarea CO_2 format într-o coloană de absorbție conținând produși alcalini (17).

([1]) Întrucât aceste soluții alcaline de absorbție absorb atât dioxidul de carbon din aerul utilizat pentru ventilație cât și pe cel produs prin respirație în cadrul experiențelor aerobe, acestea trebuie înlocuite la intervale regulate pentru a evita saturarea lor și în consecință pierderea capacității de absorbție.

Sunt necesare instrumente de laborator pentru analiza chimică a substanței de testat și a produșilor de transformare [cromatografie în fază gazoasă sau lichidă (GLC), cromatografie în fază lichidă de înaltă performanță (HPLC), cromatografie în strat subțire (TLC), spectroscopie de masă (MS), cromatografie în fază gazoasă cuplată cu spectrometrie de masă (GC-MS), cromatografie în fază lichidă cuplată cu spectrometrie de masă (LC-MS), rezonanță magnetică nucleară (RMN) etc.] precum și, dacă este cazul, dispozitive de detectare a substanțelor chimice marcate radiologic sau nemarcate. Dacă se folosesc substanțe marcate radioactiv, sunt de asemenea necesare un contor de scintilație lichid și un aparat de oxidare pentru combustie (pentru combustia probelor de sediment înainte de analizarea radioactivității).

Pot fi necesare și alte echipamente standard de laborator pentru realizarea analizelor fizico-chimice și biologice (a se vedea tabelul 1 secțiunea 1.8.2.2), precum și sticlărie, substanțe chimice și reactivi.

1.8.2. **Selectarea și numărul de sedimente acvatice**

locurile de prelevare se selectează în funcție de finalitatea testului în fiecare caz în parte. Pentru alegerea locurilor de prelevare trebuie avut în vedere istoricul eventualelor aporturi de natură agricolă, industrială sau menajeră în bazinul de captare și în apele din amonte. Nu se folosesc sedimente contaminate cu substanța de testat sau cu produși cu structură analogă pe parcursul ultimilor 4 ani.

1.8.2.1. *Selectarea sedimentelor*

Pentru studiile aerobe se folosesc de obicei două sedimente (7). Cele două sedimente selectate trebuie să fie diferite în ceea ce privește textura și conținutul de carbon organic. Un sediment trebuie să aibă un conținut ridicat de carbon organic (2,5-7,5 %) și textură fină, iar celălalt trebuie să aibă un conținut scăzut de carbon organic (0,5-2,5 %) și o textură grosieră. Diferența dintre conținuturile de carbon organic trebuie să fie de cel puțin 2 %. Prin „textură fină" se înțelege un conținut de [argilă + aluviuni] ([1]) > 50 %, iar prin „textură grosieră" se înțelege un conținut de [argilă + aluviuni] < 50 %. Diferența dintre conținuturile de [argilă + aluviuni] ale sedimentelor trebuie să fie în mod normal mai mare sau egală cu 20 %. Dacă este posibil ca o substanță chimică să ajungă și în ape marine, cel puțin unul dintre cele două sisteme apă-sediment trebuie să fie de origine marină.

Pentru studiile strict anaerobe se prelevează două probe de sediment (precum și faza apoasă asociată) din zonele anaerobe ale sistemelor de ape de suprafață (7). Sedimentele și fazele apoase se manipulează și se transportă cu atenție, evitându-se orice contact cu oxigenul.

Și alți parametri pot fi importanți pentru selectarea sedimentelor și trebuie avuți în vedere în fiecare caz în parte. De exemplu, pH-ul sedimentelor este important pentru testarea substanțelor chimice a căror transformare și/sau sorbție pot să depindă de pH. Dependența sorbției de pH poate fi provocată de pK_a a substanței de testat.

1.8.2.2. *Caracteristicile probelor de apă-sediment*

Parametrii de importanță cheie care se măsoară și se notează în raport (precizându-se metoda utilizată) pentru apă și sediment, precum și etapa testului în care trebuie determinați sunt prezentate în rezumat în tabelul următor. Referințele (18) (19) (20) (21) conțin informații privind metodele de determinare a acestor parametri.

În plus, trebuie măsurați și înregistrați și alți parametri, după caz [pentru apă dulce: particule, alcalinitate, duritate, conductivitate, NO_3/PO_4 (raporturi și valori individuale); pentru sedimente: capacitatea de schimb de cationi, capacitatea de reținere a apei, carbonat, azot și fosfor total; pentru sisteme marine: salinitatea]. Și analiza sedimentelor și a apei în vederea identificării nitratului, sulfatului și a fierului biodisponibil precum și a altor primitori de electroni poate fi utilă pentru evaluarea condițiilor redox, în special în ceea ce privește transformările anaerobe.

([1]) [Argilă + aluviuni] este fracțiunea minerală a sedimentului cu dimensiuni ale particulelor < 50 μm.

Măsurarea parametrilor caracteristici probelor apă-sediment (7) (22) (23)

Parametru	Etapele procedurii de testare					
	prelevare pe teren	post-manipulare	inițierea aclimatizării	inițierea testului	pe parcursul testului	la finalul testului
Apă						
Origine/sursă	x					
Temperatură	x					
pH	x		x	x	x	x
COT			x	x		x
Concentrație de O_2 (*)	x		x	x	x	x
Potențial redox (*)			x	x	x	x
Sediment						
Origine/sursă	x					
Adâncimea stratului	x					
pH		x	x	x	x	x
Repartizarea dimensiunii particulelor		x				
COT		x	x	x		x
Biomasă microbiană (**)		x		x		x
Potențial redox (*)	Observație (culoare/miros)		x	x	x	x

(*) Conform rezultatelor cercetărilor recente, măsurarea concentrațiilor de oxigen din apă și a potențialului redox nu au nici valoare mecanică, nici valoare predictivă în ceea ce privește creșterea și dezvoltarea coloniilor microbiene în apele de suprafață (24) (25). Determinarea consumului biochimic de oxigen (la prelevare, la începutul și la sfârșitul testului) și a concentrațiilor micro/macro elementelor nutritive Ca, Mg și Mn (la începutul și la sfârșitul testului) în apă și măsurarea N total și P total în sedimente (la prelevare și la sfârșitul testului) pot constitui instrumente mai bune de interpretare și de evaluare a ratelor și a căilor de biotransformare aerobă.

(**) Metoda ratei de respirație microbiene (26), metoda fumigării (27) sau măsurători numerice (bacterii, actinomicete, ciuperci și total colonii) pentru studiile aerobe; rata metanogenezei pentru studiile anaerobe.

1.8.3. **Colectarea, manipularea și depozitarea**

1.8.3.1. *Colectarea*

Pentru prelevarea de probe de sediment se folosește proiectul de orientare ISO privind prelevarea sedimentelor de fund (8). Probele de sediment se prelevează din întregul strat superior de 5-10 cm de sediment. Apa asociată se colectează din același loc și în același timp ca și sedimentele. Pentru studiile anaerobe, sedimentele și apa asociată se prelevează și se transportă evitându-se orice contact cu oxigenul (28) (a se vedea secțiunea 1.8.2.1). Câteva dintre dispozitivele de prelevare sunt descrise în literatură (8) (23).

1.8.3.2. *Manipulare*

Sedimentul se separă de apă prin filtrare și se trece printr-o sită de 2 mm utilizându-se apa în exces prelevată din același loc, care apoi se elimină. Se amestecă în proporția dorită cantități cunoscute de sedimente și de apă (a se vedea secțiunea 1.9.1) în flacoane de incubare și se prepară pentru perioada de aclimatizare (a se vedea secțiunea 1.8.4). În cazul studiului anaerobic, toate etapele de manipulare se efectuează în absența oxigenului (29) (30) (31) (32) (33).

1.8.3.3. *Depozitare*

Este preferabil ca probele de sediment și apă utilizate să fie proaspăt prelevate de pe teren, dar dacă este necesară depozitarea, sedimentul și apa se cern după cum s-a arătat anterior și se depozitează împreună, sub apă (sub un strat de apă de 6-10 cm), la întuneric, la temperaturi de 4 ± 2 °C ([1]) timp de maximum 4 săptămâni (7) (8) (23). Probele destinate studiilor aerobe se depozitează astfel încât să beneficieze de un acces nestingherit al aerului (de exemplu în recipiente deschise), iar probele destinate studiilor anaerobe se depozitează în absența oxigenului. Sedimentele și apa nu trebuie să înghețe sau să se usuce în timpul transportului și al depozitării.

1.8.4. **Pregătirea probelor de sediment/apă pentru test**

Înainte de a se adăuga substanța de testat este necesară o perioadă de aclimatizare, pe parcursul căreia fiecare probă de sediment/apă se introduce în recipientul de incubare utilizat pentru testul principal, iar aclimatizarea se realizează exact în aceleași condiții ca și incubarea din cadrul testului (a se vedea secțiunea 1.9.1). Perioada de aclimatizare reprezintă timpul necesar pentru atingerea unei stabilități suficiente a sistemului în ceea ce privește pH-ul, concentrația de oxigen în apă, potențialul redox al sedimentului și al apei și separarea macroscopică a fazelor. Perioada de aclimatizare durează de obicei între una și două săptămâni și nu mai mult de patru săptămâni. Rezultatul determinărilor realizate pe parcursul acestei perioade se înregistrează.

1.9. EFECTUAREA TESTULUI

1.9.1. **Condiții de testare**

Testul se efectuează într-un dispozitiv de incubare (a se vedea secțiunea 1.8.1) utilizându-se un raport al volumelor de apă și de sediment între 3:1 și 4:1 și un strat de sediment de 2,5 cm (± 0,5 cm)[1]. Se recomandă utilizarea unei cantități de minimum 50 g sediment (greutate uscată) pentru fiecare recipient de incubare.

Testul se realizează la întuneric, la o temperatură constantă din intervalul 10-30 °C. Temperatura recomandată este de (20 ± 2) °C. Dacă este cazul, se pot utiliza temperaturi mai scăzute (de exemplu 10 °C), în funcție de informațiile care trebuie obținute prin test. Temperatura de incubare se controlează și se înregistrează.

([1]) Studii recente au arătat că depozitarea la 4 °C poate determina o scădere a conținutului de carbon organic din sediment care poate duce la reducerea activității microbiene (34).

1.9.2. **Tratarea și aplicarea substanței de testat**

Se folosește o singură concentrație a substanței de testat ([1]). Pentru produsele fitosanitare aplicate direct în mediul acvatic, se folosește doza maximă indicată în instrucțiunile de utilizare ca rată maximă de aplicare, iar calculele se efectuează având în vedere suprafața de apă din recipientul de test. În toate celelalte cazuri, concentrația care trebuie utilizată se bazează pe estimările privind emisiile din mediu. Concentrația de substanță de testat aplicată trebuie să fie adecvată pentru caracterizarea căii de transformare și a formării și epuizării produșilor de transformare. Este posibil să fie necesară aplicarea unor doze mai mari (de exemplu de 10 ori) în cazurile în care concentrațiile substanței de testat sunt apropiate de limita de detecție la începutul studiului și/sau dacă principalii produși de transformare nu au putut fi detectați cu ușurință la o rată egală cu 10 % din rata de aplicare a substanței de testat. Cu toate acestea, dacă se folosesc concentrații mai mari ale substanței de testat, acestea nu trebuie să aibă un efect advers important asupra activității microbiene din sistemul apă-sediment. Pentru obținerea unei concentrații constante a substanței de testat în recipiente de diferite dimensiuni, poate fi indicată ajustarea cantității de produs aplicat în funcție de adâncimea coloanei de apă din recipient față de adâncimea apei de pe teren (care se presupune a fi de 100 cm, dar se pot utiliza și alte valori). Pentru un exemplu de calcul, a se vedea anexa 4.

Teoretic, substanța de testat se aplică sub forma unei soluții apoase în faza apoasă a sistemului testat. Dacă nu se poate proceda altfel, se pot utiliza cantități mici de solvenți miscibili în apă (cum sunt acetona sau etanolul) pentru repartizarea și aplicarea substanței de testat, dar aceștia nu trebuie să depășească 1 % v/v și nu trebuie să aibă efecte adverse asupra activității microbiene a sistemului de testare. Soluția apoasă de substanță de testat se prepară cu atenție – pentru a asigura o omogenizare totală se poate efectua o amestecare prealabilă cu ajutorul coloanelor de generator. După adăugarea soluției apoase în sistemul de testare se recomandă amestecarea ușoară a fazei apoase dar deranjând sedimentele cât mai puțin posibil.

În mod obișnuit nu se recomandă utilizarea de produse preparate, deoarece ingredientele preparate pot afecta repartizarea substanței de testat și/sau a produșilor de transformare între faza apoasă și faza sedimentară. Cu toate acestea, în cazul substanțelor puțin solubile în apă, utilizarea de materiale preparate poate constitui o alternativă adecvată.

Numărul de recipiente de incubare depinde de numărul de prelevări (a se vedea secțiunea 1.9.3). Trebuie prevăzut un număr suficient de sisteme de testare, astfel încât două astfel de sisteme să poată fi sacrificate la fiecare prelevare. Dacă se folosesc unități martor pentru fiecare sistem de sedimente acvatice, acestea nu se tratează cu substanța de testat. Unitățile martor pot fi utilizate pentru determinarea biomasei microbiene din sediment și a carbonului organic total din apă și din sediment la finalul studiului. Două dintre unitățile martor (de exemplu o unitate de martor din fiecare sediment acvatic) pot fi utilizate pentru monitorizarea parametrilor necesari privind sedimentul și apa pe parcursul perioadei de aclimatizare (a se vedea tabelul din secțiunea 1.8.2.2). Dacă substanța de testat se aplică cu ajutorul unui solvent se adaugă doi martori suplimentari pentru măsurarea efectelor negative asupra activității microbiene din sistemul de testare.

1.9.3. **Durata testului și recoltarea probelor**

Durata experimentului nu trebuie să depășească în mod normal 100 de zile (6) și trebuie să se desfășoare până la stabilirea căilor de degradare și a profilului de repartizare apă/sediment sau până la disiparea a 90 % din substanța de testat prin transformare și/sau volatilizare. Trebuie efectuate cel puțin șase recoltări (inclusiv timpul zero) și se realizează un studiu facultativ preliminar (a se vedea secțiunea 1.9.4) pentru stabilirea regimului de recoltare și a duratei testului, cu excepția cazurilor în care sunt disponibile din studii anterioare suficiente date privind substanța de testat. Pentru substanțele hidrofobe poate fi necesară instituirea unor puncte suplimentare de prelevare pe parcursul perioadei inițiale pentru determinarea ratei de repartizare între faza apoasă și faza sedimentară.

([1]) Efectuarea unui test pentru o a doua concentrație poate fi utilă pentru substanțele chimice care ajung în apele superficiale pe alte căi care determină concentrații considerabil diferite, în măsura în care concentrația cea mai mică poate fi analizată cu suficientă precizie.

La fiecare prelevare, se iau pentru analiză recipiente de incubare (duplicat). Sedimentul și apa care îl acoperă se analizează separat ([1]). Se scoate cu atenție apa de la suprafață, evitându-se atingerea sedimentului. Extracția și caracterizarea substanței de testat și a produșilor de transformare se realizează în conformitate cu procedurile analitice adecvate. Se elimină materialele adsorbite pe pereții recipientului de incubare și în tuburile utilizate pentru captarea produșilor volatili.

1.9.4. **Testul preliminar opțional**

Dacă durata și regimul de prelevare a probelor nu pot fi estimate pe baza altor studii relevante asupra substanței de testat, poate fi adecvată efectuarea unui test preliminar în aceleași condiții ca și cele propuse pentru studiul definitiv. Dacă se efectuează acest test preliminar, se descriu pe scurt condițiile experimentale și rezultatele testului.

1.9.5. **Măsurători şi analiză**

La fiecare prelevare se măsoară și se înregistrează concentrația substanței de testat și produșii de transformare din apă și din sediment (ca procent și concentrație de substanță aplicată). Ca regulă generală, se identifică toți produșii de transformare pentru care se detectează ≥ 10 % din radioactivitatea totală aplicată sistemului apă/sediment, indiferent de prelevare, cu excepția cazurilor în care există justificări rezonabile. Se identifică de asemenea produșii de transformare a căror concentrație crește constant pe durata studiului, chiar și în cazurile în care concentrațiile acestora nu depășesc limitele menționate anterior, deoarece este posibil ca acesta să fie un indiciu asupra persistenței. Procesul verbal trebuie să conțină justificări în acest sens.

Rezultatele privind sistemele de captare a gazelor/produșilor volatili (CO_2 și alții, de exemplu compuși organici volatili) se înregistrează la fiecare prelevare. Se înregistrează și ratele de mineralizare. la fiecare prelevare se menționează și reziduurile (legate) care nu pot fi extrase.

2. **DATE**

2.1. PRELUCRAREA REZULTATELOR

Se calculează bilanțul masic total și recuperarea (a se vedea secțiunea 1.7.1) radioactivității adăugate pentru fiecare prelevare. Rezultatele se înregistrează ca procent de radioactivitate adăugată. Repartizarea radioactivității între apă și sediment se înregistrează ca procent și concentrație pentru fiecare prelevare.

Se calculează timpii de înjumătățire, valorile DT_{50} și, dacă este cazul, valorile DT_{75} și DT_{90}, precum și pragurile de încredere (a se vedea secțiunea 1.7.3). Se pot obține informații privind rata de disipare a substanței de testat în apă și în sediment cu ajutorul unor instrumente adecvate de evaluare. Acestea merg de la cinetica de pseudo-prim ordin, tehnici empirice de interpolare care folosesc soluții grafice sau numerice până la alte metode de evaluare care folosesc de exemplu modele cu unul sau mai multe compartimente. Literatura de specialitate conține detalii suplimentare în acest sens (35) (36) (37).

([1]) În cazurile în care este posibil ca produșii rezultați din transformările anaerobe să se reoxideze foarte repede, se asigură condiții anaerobe și în timpul recoltării și al analizei.

Toate abordările prezintă avantaje și inconveniente, iar complexitatea lor variază considerabil. Ipoteza unei cinetici de prim ordin constituie o simplificare excesivă a procesului de degradare și de repartizare dar, dacă se poate utiliza, oferă un termen (constanta vitezei sau timpul de înjumătățire) ușor de înțeles și foarte util pentru modelele de simulare și pentru calcularea concentrațiilor previzibile din mediu. Este posibil ca metodele empirice sau transformările liniare să producă o mai bună interpolare a curbelor și a datelor și să permită astfel o mai bună estimare a timpilor de înjumătățire, a valorilor DT_{50} și, dacă este cazul, a valorilor DT_{75} și DT_{90}. Cu toate acestea, utilizarea constantelor derivate este limitată. Modelele cu compartimente pot genera constante utile pentru evaluarea riscurilor care descriu viteza de degradare din diferitele compartimente și repartizarea substanței chimice. Acestea se folosesc în general pentru estimarea constantelor de viteză pentru formarea și transformarea principalilor produși de transformare. Metoda aleasă trebuie justificată în toate cazurile, iar experimentatorul trebuie să demonstreze grafic și/sau statistic calitatea de ajustare.

3. **RAPORTARE**

3.1. RAPORTUL TESTULUI

Raportul testului trebuie să conțină următoarele informații:

substanța de testat:

— denumirea comună, denumirea chimică, numărul CAS, formula structurală (indicându-se poziția marcajului dacă se folosește material marcat radioactiv) și proprietățile fizice și chimice relevante;

— puritatea (impuritățile) substanței de testat;

— puritatea radiochimică a substanței chimice marcate și activitatea molară (dacă este cazul).

Substanțe de referință:

— denumirea chimică și structura substanțelor de referință utilizate pentru caracterizarea și/sau identificarea produșilor de transformare.

Sedimente și apă de testare:

— localizarea și descrierea locului/locurilor din care au fost prelevate sedimentele acvatice și, dacă este posibil, istoricul contaminării;

— orice informații privind recoltarea, depozitarea (dacă este cazul) și aclimatizarea sistemelor apă-sediment;

— caracterizarea probelor apă-sediment în conformitate cu tabelul din secțiunea 1.8.2.2.

Condiții de testare:

— sistemul de testare utilizat (cu circulație continuă, biometru, mod de ventilare, metodă de amestecare, volum de apă, masă sedimentară, grosime a stratului de apă și a stratului de sediment, dimensiunea recipientelor de testare etc.)

— aplicarea substanței de testat în sistemul de testare: concentrația de testare, numărul de duplicate și martori, modul de aplicare a substanței de testat (de exemplu utilizarea unui solvent, dacă este cazul) etc.

— temperatura de incubare;

— număr de prelevări;

— metode de extracție, randamente și praguri de detecție și metode analitice;

— metode de caracterizare/identificare a produșilor de transformare;

— devierile de la protocolul de test sau de la condițiile de testare pe parcursul studiului.

Rezultate:

— date brute privind analizele reprezentative (toate datele brute se păstrează în arhivele BP1);

— repetabilitatea și sensibilitatea metodelor analitice utilizate;

— ratele de recuperare (valorile procentuale acceptabile pentru ca un studiu să fie considerat valabil sunt prezentate în secțiunea 1.7.1);

— tabelul rezultatelor exprimate ca % din doza aplicată și în $mg \cdot kg^{-1}$ în apă, sedimente și în întregul sistem (numai %) din substanța de testat și, dacă este cazul, din produșii de transformare și din radioactivitatea neextractibilă;

— bilanțul masic de pe parcursul și de la începutul studiilor;

— reprezentări grafice ale transformării fracțiunilor apă/sediment și ale celor din întregul sistem (inclusiv mineralizarea);

— ratele de mineralizare;

— timpul de înjumătățire sau valorile DT_{50}, DT_{75} și DT_{90} pentru substanța de testat și, dacă este cazul, pentru produșii principali de transformare, inclusiv pragurile de încredere în apă, sediment și în întregul sistem;

— o evaluare a cineticii de transformare a substanței de testat și, dacă este cazul, a principalilor produși de transformare;

— o cale de transformare propusă, dacă este cazul;

— discutarea rezultatelor.

4. **REFERINȚE BIBLIOGRAFICE:**

(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 304 A: 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 Spitteler M. (1988) Degradation of pesticides in an aquatic model ecosystem. BCPC – Pests and Diseases, 3B-4, 149-158.

(15) Guth, J.A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. In Progress in Pesticide Biochemistry (D.H. Hutson, T.R. Roberts, Eds.), Vol. 1, 85-114. J. Wiley & Sons.

(16) Madsen, T., Kristensen, P. (1997). Effects of bacterial inoculation and non-ionic surfactants on degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. Environ. Toxicol. Chem. 16, 631-637.

(17) Steber, J., Wierich, P. (1987). The anaerobic degradation of detergent range fatty alcohol ethoxylates. Studies with ^{14}C-labelled model surfactants. Water Research 21, 661-667.

(18) Black, C.A. (1965). Methods of Soil Analysis. Agronomy Monograph No. 9. American Society of Agronomy, Madison.

(19) APHA (1989) Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (17th edition). American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, Washington D.C.

(20) Rowell, D.L. (1994). Soil Science Methods and Applications. Longman.

(21) Light, T.S. (1972). Standard solution for redox potential measurements. Anal. Chemistry 44, 1038-1039.

(22) SETAC-Europe publication (1991). Guidance document on testing procedures for pesticides in freshwater mesocosms. From the Workshop „A Meeting of Experts on Guidelines for Static Field Mesocosms Tests", 3-4 July 1991.

(23) SETAC-Europe publication. (1993). Guidance document on sediment toxicity tests and bioassays for freshwater and marine environments. From the Workshop On Sediment Toxicity Assessment (WOSTA), 8-10 November 1993. Eds.: I.R. Hill, P. Matthiessen and F. Heimbach.

(24) Vink, J.P.M., van der Zee, S.E.A.T.M. (1997). Pesticide biotransformation in surface waters: multivariate analyses of environmental factors at field sites. water Research 31, 2858-2868.

(25) Vink, J.P.M., Schraa, G., van der Zee, S.E.A.T.M. (1999). Nutrient effects on microbial transformation of pesticides in nitifying 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. Bul1. 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 ^{14}C-radiolabelled compounds under realistic anaerobic conditions. Envrion. 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., Freshe, 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., Freshe, 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.

ANEXA 1

INFORMAȚII PRIVIND SISTEMELE DE TESTARE AEROBE ŞI ANAEROBE

Sistemul aerob de testare

Sistemul aerob de testare descris în prezenta metodă de testare este format dintr-un strat aerob de apă (concentrațiile tipice ale oxigenului variază între 7 și 10 $mg \cdot 1^{-1}$) și dintr-un strat de sediment aerob la suprafață și anaerob sub suprafață [potențialul redox mediu tipic (E_h) din zona anaerobă a sedimentului variază între –80 și –90mV]. În fiecare unitate de incubare se trece aer umed pe suprafața apei pentru a asigura o cantitate suficientă de oxigen în spațiul liber.

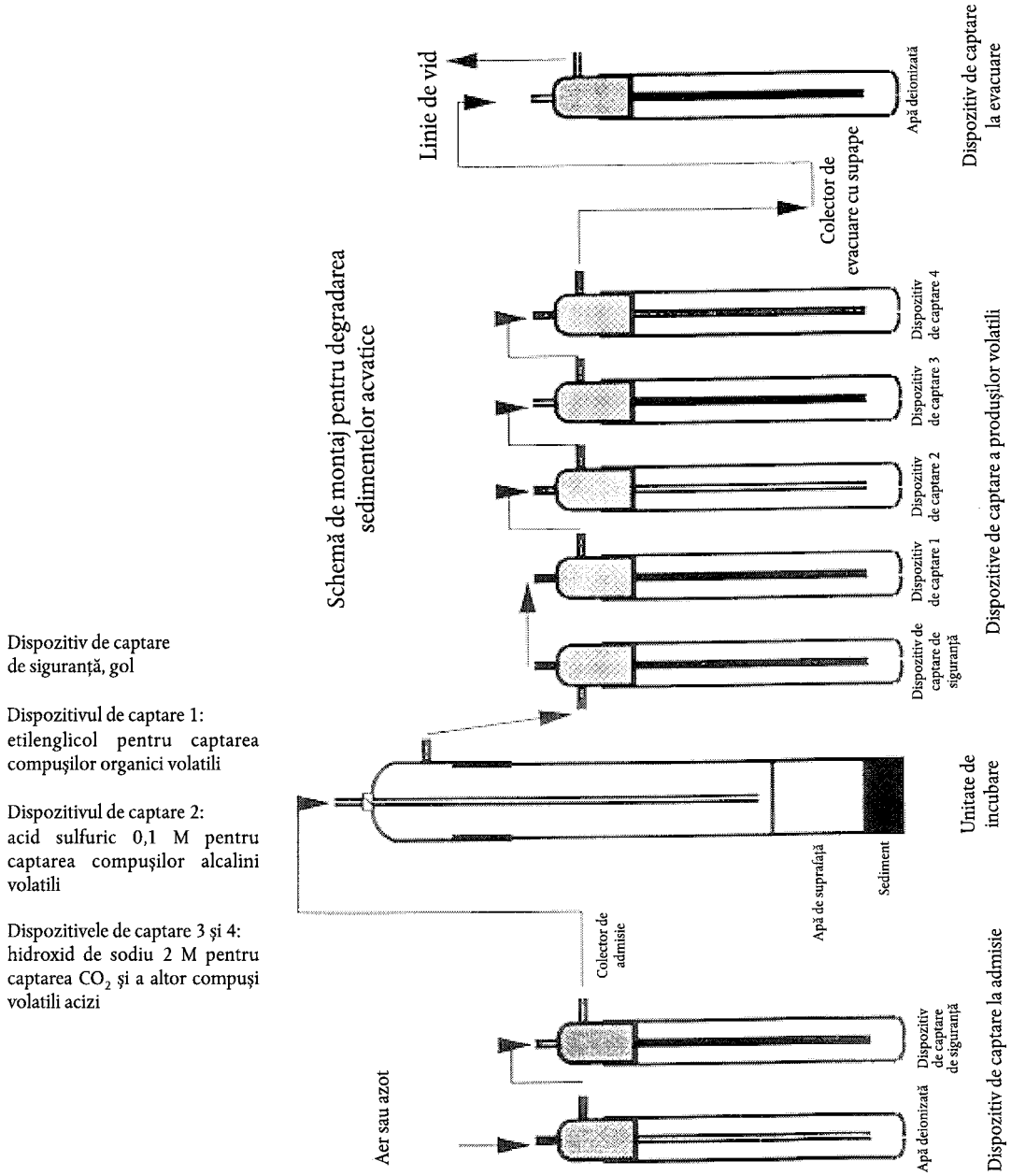
Sistemul anaerob de testare

Metoda de test din cadrul sistemului anaerob de testare este practic aceeași cu cea din cadrul sistemului aerob, cu excepția faptului că se trece azot umed pe suprafața apei din fiecare unitate de incubare pentru a crea un spațiu liber cu azot. Sedimentele și apa se consideră anaerobe dacă potențialul redox (E_h) este sub –100mV.

În cadrul testului anaerob, evaluarea mineralizării cuprinde măsurarea dioxidului de carbon și a metanului degajat.

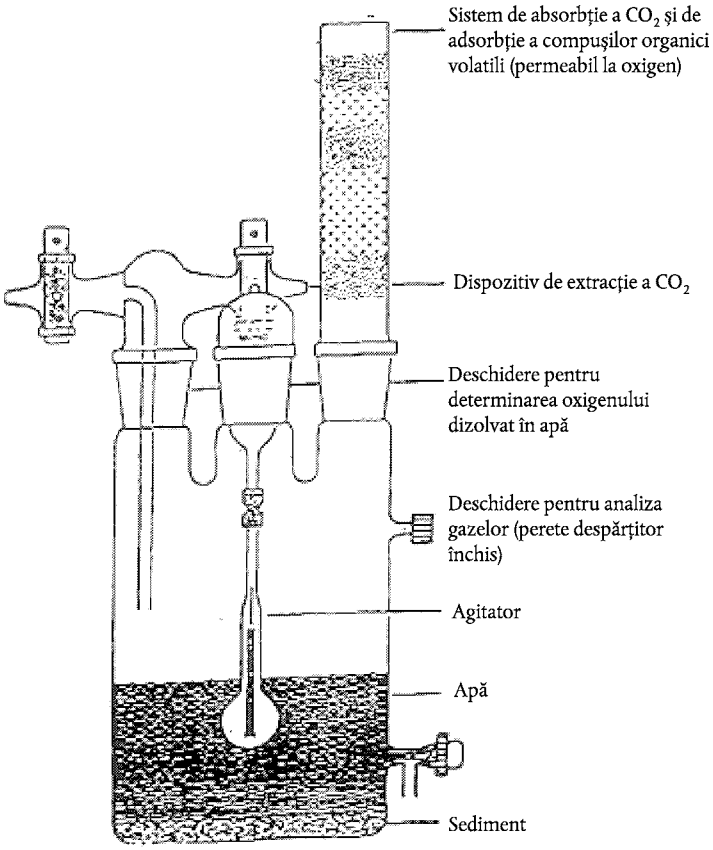
ANEXA 2

EXEMPLU DE APARAT CU CIRCULAȚIE CONTINUĂ



ANEXA 3

EXEMPLU DE BIOMETRU



ANEXA 4

EXEMPLU DE CALCULARE A DOZEI APLICATE RECIPIENTULUI DE TESTARE

Diametrul intern al cilindrului:	= 8 cm
Adâncimea coloanei de apă, fără sediment:	= 12 cm
Suprafață: $3,142 \times 4^2$	= 50,3 cm^2
Rata de aplicare: 500 g substanță de testat/ha înseamnă 5 $\mu g/cm^2$	
Total în $\mu g/cm^2$: $5 \times 50,3$	= 251,5 µg
Ajustarea cantității pentru o adâncime de 100 cm: $12 \times 251,5 \div 100$	= 30,18 µg
Volumul coloanei de apă: $50,3 \times 12$	= 603 ml
Concentrația în apă: $30,18 \div 603$	= 0,050 µg/ml sau µg/l