

## ДИРЕКТИВА 2004/73/ЕО НА КОМИСИЯТА

от 29 април 2004 година

за привеждане в съответствие с техническия прогрес за 29-и път Директива 67/548/ЕИО на Съвета по отношение на сближаването на законовите, подзаконовите и административни разпоредби относно класификацията, опаковането и етикетирането на опасни вещества

(Текст от значение за ЕИП)

КОМИСИЯТА НА ЕВРОПЕЙСКИТЕ ОБЩНОСТИ

като взе предвид Договора за създаване на Европейската общност,

като взе предвид Директива 67/548/ЕО на Съвета от 27 юни 1967 г. относно сближаването на законовите, подзаконовите и административни разпоредби относно класификацията, опаковането и етикетирането на опасни вещества <sup>1</sup>, и по-специално член 28 от нея,

като има предвид, че:

(1) Приложение I към Директива 67/548/ЕИО съдържа списък на опасни вещества, заедно с подробности за класификацията и процедурите по етикетирание по отношение на всяко вещество. Необходимо е този списък да се актуализира с цел включването на нови нотифицирани вещества и съществуващи вещества, както и да се преведат в съответствие въведените вече вписвания към техническия прогрес, като например да се установят екологосъобразни гранични концентрации за определени вещества. Също така е необходимо да се извадят определени вещества, а вписванията за някои от тях да се разделят, тъй като класификацията вече не се прилага за всички вещества от даденото вписване. Етикетирането на веществата, съдържащи 1,3-бутадиен следва да се промени, тъй като веществото се класифицира като мутагенно, съгласно настоящата директива.

(2) Приложение V към Директива 67/548/ЕИО на Съвета установява методи за определяне на физикохимични свойства, токсичност и екотоксичност на веществата и препаратите. Подходящо е да се измени това приложение с цел намаляване на броя на използваните опитни животни, в съответствие с Директива 86/609/ЕИО на Съвета от 24 ноември 1986 г. за сближаване на законовите, подзаконовите и административните разпоредби на държавите-членки по отношение на защита на животните, използвани за опитни и други научни цели<sup>2</sup>. Методите за определяне на субхронична орална токсичност в глави Б.1, Б.4, Б.5, Б.31 и Б.35 съответно следва да бъдат ревизирани. Освен това, в приложение V следва да се добави глава Б.42, с цел да се осигури прецизен метод за субхронична орална токсичност.

---

<sup>1</sup> ОВ 196, 16.8.1967 г., стр. 1. Директива, последно изменена с Регламент (ЕО) № 807/2003 (ОВ L 122, 16.5.2003 г., стр. 36).

<sup>2</sup> ОВ L 358, 18.12.1986 г., стр. 1. Директива, последно изменена с Директива 2003/65/ЕО на Европейския парламент и на Съвета (ОВ L 230, 16.9.2003 г., стр. 32).

Накрая, глава А.21 относно физико-химичните свойства, глава Б.43 относно субхроничната орална токсичност и глави В.21 до В.24 относно токсичността за околната среда следва да бъдат добавени с цел да се позволи определянето на свойства, които не са обхванати в достатъчна степен от методите в приложение V.

(3) Предвидените в настоящата директива мерки са в съответствие със становището на Комитета по адаптиране към техническия прогрес на директивите за премахване на на техническите пречки пред търговията с опасни вещества и препарати,

ПРИЕ НАСТОЯЩАТА ДИРЕКТИВА:

*Член 1*

Директива 67/548/ЕИО се изменя, както следва:

1. Приложение I се изменя, както следва:

- а) бележка К в предговора се заменя с текста, посочен в приложение 1А;
- б) вписванията, съответстващи на вписванията, посочени в приложение 1Б към настоящата директива се заменят с текста, определен в това приложение;
- в) вписванията, посочени в приложение 1В към настоящата директива се добавят в съответствие с реда на вписванията, посочени в приложение I към Директива 67/548/ЕИО;
- г) вписванията с индексни номера 604-050-00-Х, 607-050-00-8, 607-171-00-6 и 613-130-00-3 се заличават;
- д) вписването с индексен номер 048-002-00-0 се заменя с вписванията с индексни номера 048-002-00-0 и 048-011-00-Х, посочени в приложение 1Г към настоящата директива;
- е) вписването с индексен номер 609-006-00-3 се заменя с вписванията с индексни номера 609-006-00-3 и 609-065-00-5, посочени в приложение 1Г към настоящата директива;
- ж) вписването с индексен номер 612-039-00-6 се заменя с вписванията с индексни номера 612-039-00-6 и 612-207-00-9, посочени в приложение 1Г към настоящата директива;

2. Приложение V се изменя, както следва:

- а) текстът, посочен в приложение 2А към настоящата директива се добавя като глава А.21;
- б) глава Б.1а се заменя с текста, посочен в приложение 2Б към настоящата директива;
- в) глава Б.1б се заменя с текста, посочен в приложение 2В към настоящата директива;
- г) глава Б. се заменя с текста, посочен в приложение 2Г към настоящата директива;
- д) глава Б.5 се заменя с текста, посочен в приложение 2Д към настоящата директива;
- е) глава Б.31 се заменя с текста, посочен в приложение 2Е към настоящата директива;

ж) глава Б.35 се заменя с текста, посочен в приложение 2Ж към настоящата директива;  
з) Текстът, посочен в приложение 23 към настоящата директива се добавя като глава Б.42 и Б.43;

и) текстът, посочен в приложение 2И към настоящата директива се добавя като глава В.21 до В.24.

#### *Член 2*

1. Държавите-членки въвеждат в сила необходимите законовите, подзаконовите и административни разпоредби, за да се съобразят с настоящата директива преди 31 октомври 2005 г. Те незабавно уведомяват Комисията за текста на тези разпоредби и за таблица на съответствието между тези разпоредби и разпоредбите на настоящата директива.

Когато държавите-членки приемат тези разпоредби, в тях се съдържа позоваване на настоящата директива или то се извършва при официалното им публикуване. Условието и редът на позоваване се определят от държавите-членки.

2. Държавите-членки уведомяват Комисията за текста на основните разпоредби от националното си законодателство, в областта, регулирана от настоящата директива.

#### *Член 3*

Настоящата директива влиза на двадесетия ден от публикуването ѝ в *Официален вестник на Европейските съюз*.

#### *Член 4*

Адресати на настоящата директива са държавите-членки.

Съставено в Брюксел на 29 април 2004 година.

*За Комисията:*

**Margot WALLSTRÖM**

*Член на Комисията*

## *ПРИЛОЖЕНИЕ 1А*

” Бележка К:

Не е необходимо класифициране на веществото като канцерогенно или мутагенно, когато може да бъде доказано, че веществото съдържа по-малко от 0,1% (тегловни) 1,3-бутадиен (Eines № 203-450-8). В случай, че веществото не е класифицирано като канцерогенно или мутагенно, най-малко S-фразите (2-)9-16 следва да бъдат посочени. Тази бележка се прилага за определени комплексни вещества, производни на нефта, посочени в приложение I.”



*ПРИЛОЖЕНИЕ 1Б*

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
'006-005-00-4	тирам тетраметилтиурамдисулфид		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	Хидрогенцианид ...% Хидроцианова киселина хидрогенцианид циановодород	В	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	Цирам (ISO) цинков-бис- диметилдитиокарбамат		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	линурон (ISO) 3-(3,4-дихлорфенил)-1- метокси-1-метилурея	Е	206-356-5	330-55-2	Репр. кат. 2; R61 Репр. кат. 3; R62 Канц. кат. 3; R40 Xn; R22-48/22	T; N R: 61-22-40-48/22-62- 50/53 S: 53-45-60-61		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					N; R50-53			
006-044-00-7	изопротурон 3-(4-изопропилфенил)-1,1- диметилурейя		251-835-4	34123-59-6	Канц. кат. 3; R40 N; R50-53	Xn; N R: 40-50/53 S: (2-)36/37-60-61	$C \geq 2,5\%$ : Xn, N; R40-50-53 $1\% \leq C < 2,5\%$ : Xn, N; R40-51-53 $0,25\% \leq C < 1\%$ : N; R51-53 $0,025\% \leq C < 0,25\%$ : R52-53	
006-072-00- X	S-бензил-N,N- дипропилтиокарбамат Просулфокарб		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	хлордиоксид		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	$C \geq 5\%$ : T+; N; R26-34-50 $1\% \leq C < 5\%$ : T+; N; R26-36/37/38-50 $0,5\% \leq C < 1\%$ : T; N; R23-36/37/38-50 $0,2\% \leq C < 0,5\%$ : T; N; R23-50 $0,02\% \leq C < 0,2\%$ : Xn; N; R20-50	
006-089-01- X	хлордиоксид ...%	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	$C \geq 25\%$ : T; N; R25-34-50 $10\% \leq C < 25\%$ : C, N; R22-34-50 $3\% \leq C < 10\%$ : Xn; N; R22-36/37/38- 50 $0,3\% \leq C < 3\%$ : Xi; R36	
007-001-00-5	амоняк, безводен		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	$C \geq 25\%$ : T, N; R23-34-50 $5\% \leq C < 25\%$ : T; R23-34 $0,5\% \leq C < 5\%$ : Xn; R20-36/37/38	
007-008-00-3	хидразин	E	206-114-9	302-01-2	R10 Канц. кат. 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	$C \geq 25\%$ : T, N; R45-23/24/25-34-43- 50/ 53 $10\% \leq C < 25\%$ : T, N; R45-20/21/22- 34-43-51/53 $3\% \leq C < 10\%$ : T, N; R45-20/21/22-36/ 38-43-51/53 $2,5\% \leq C < 3\%$ : T, N; R45-43-51/53 $1\% \leq C < 2,5\%$ : T; R45-43-52/53 $0,25\% \leq C < 1\%$ : T; R45-52/53 $0,1\% \leq C < 0,25\%$ : T; R45	
007-010-00-4	натриев нитрит		231-555-9	7632-00-0	O; R8 T; R25 N; R50	O; T; N R: 8-25-50 S: (1/2-)45-61	$C \geq 25\%$ : T, N; R25-50 $5\% \leq C < 25\%$ : T; R25 $1\% \leq C < 5\%$ : Xn; R22	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
007-011-00-X	калие в нитрит		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-диметилхидразин	E	—	540-73-8	Канц. кат. 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	изобутилнитрит	E	208-819-7	542-56-3	F; R11 Xn; R20/22 Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 3; R68	F; T R: 11-20/22-45-68 S: 53-45		
007-027-00-7	1,6-бис(3,3-бис(3-(1-метилпентилиденимино)пропил)уреидо)хексан		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	водороден пероксид в разтвор...%	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 Бележка: C ≥ 70%: R5, O;R8 50% ≤ C < 70%: O; R8	
009-015-00-7	сулфурилдифлуорид		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	червен фосфор		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	трибутилфосфат		204-800-2	126-73-8	Канц. кат.3; R40 Xn; R22 Xi; R38	Xn R: 22-38-40 S: (2-)36/37-46		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
015-015-00-8	трикрезилфосфат тритолилфосфат (о-о-о,о-о- м,о-о-р,о-м-м,о-м-р,о-р-р)	С	201-103-5	78-30-8	T; R39/23/24/25 N; R51-53	T; N R: 39/23/24/25-51/53 S: (1/2-)20/21-28-45- 61	$C \geq 25\%$ : T, N; R39/23/24/25-51/53 $2,5\% \leq C < 25\%$ : T; R39/23/24/25-52/ 53  $1\% \leq C < 2,5\%$ : T; R39/23/24/25 $0,2\% \leq C < 1\%$ : Xn; R68/20/21/22	
015-016-00-3	трикрезилфосфат тритолилфосфат (м-м-м, м- м-р, м-р-р, р-р-р)	С	201-105-6	78-32-0	Xn; R21/22 N; R51-53	Xn; N R: 21/22-51/53 S: (2-)28-61	$C \geq 25\%$ : Xn, N; R21/22-51/53 $5\% \leq C < 25\%$ : Xn; R21/22-52/53 $2,5\% \leq C < 5\%$ : R52/53	
015-020-00-5	Мевинфос (ISO) 2-метоксикарбонил-1- метилвинилдиметилфосфат		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	$C \geq 7\%$ : T+, N; R27/28-50-53  $1\% \leq C < 7\%$ : T, N; R24/25-50-53 $0,1\% \leq C < 1\%$ : Xn, N; R21/22-50-53 $0,0025\% \leq C < 0,1\%$ : N; R50-53 $0,00025\% \leq C < 0,0025\%$ : N; R51-53 $0,000025\% \leq C < 0,00025\%$ : R52-53	
015-021-00-0	трихлорфон (ISO) диметил-2,2,2-трихлоро-1- хидроксиетилфосфонат		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	$C \geq 25\%$ : Xn, N; R22-43-50-53  $1\% \leq C < 25\%$ : Xi, N; R43-50-53 $0,025\% \leq C < 1\%$ : N; R50-53 $0,0025\% \leq C < 0,025\%$ : N; R51-53 $0,00025\% \leq C < 0,0025\%$ : R52-53	
015-027-00-3	сулфотеп (ISO) O,O,O,O- тетраетилдитиопирофосфат		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	$C \geq 7\%$ : T+, N; R27/28-50-53  $1\% \leq C < 7\%$ : T, N; R24/25-50-53 $0,1\% \leq C < 1\%$ : Xn, N; R21/22-50-53 $0,025\% \leq C < 0,1\%$ : N; R50-53 $0,0025\% \leq C < 0,025\%$ : N; R51-53 $0,00025\% \leq C < 0,0025\%$ : R52-53	
015-032-00-0	протоат (ISO) O,O- диетилизопропилкарбамоил метилфосфородитиоат O,O- диетилизопропилкарбамоил метилдитиофосфат		218-893-2	2275-18-5	T+; R27/28 R52-53	T+ R: 27/28-52/53 S: (1/2-)28-36/37-45- 61		
015-033-00-6	форат (ISO) O,O- диетилетилгнометилфосфор одитиоат		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	$C \geq 7\%$ : T+, N; R27/28-50-53  $1\% \leq C < 7\%$ : T, N; R24/25-50-53 $0,1\% \leq C < 1\%$ : Xn, N; R21/22-50-53	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	О,О-диетилтилтиометилдитиофосфат						$0,025\% \leq C < 0,1\%$ : N; R50-53  $0,0025\% \leq C < 0,025\%$ : N; R51-53 $0,00025\% \leq C < 0,0025\%$ : R52-53	
015-034-00-1	паратион (ISO) О,О-диетил-О-4-нитрофенилтиофосфат паратион (ISO) О,О-диетил-О-4-нитрофенилфосфоротиоат		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	$C \geq 25\%$ : T+, N; R24-26/28-48/25-50-53 $10\% \leq C < 25\%$ : T+, N; R21-26/28-48/25-50-53  $7\% \leq C < 10\%$ : T+, N; R21-26/28-48/22-50-53 $3\% \leq C < 7\%$ : T, N; R21-23/25-48/22-50-53 $1\% \leq C < 3\%$ : T, N; R23/25-48/22-50-53 $0,25\% \leq C < 1\%$ : Xn, N; R20/22-50-53 $0,1\% \leq C < 0,25\%$ : Xn, N; R20/22-51-53 $0,025\% \leq C < 0,1\%$ : N; R51-53 $0,0025\% \leq C < 0,025\%$ : R52-53	
015-035-00-7	паратионметил (ISO) О,О-диметил-О-4-нитрофенилтиофосфат паратионметил (ISO) О,О-диметил-О-4-нитрофенилфосфоротиоат		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	$C \geq 25\%$ : T+, N; R24-26/28-48/22-50-53 $10\% \leq C < 25\%$ : T+, N; R21-26/28-48/22-50-53 $7\% \leq C < 10\%$ : T+, N; R21-26/28-50-53 $3\% \leq C < 7\%$ : T, N; R21-23/25-50-53 $1\% \leq C < 3\%$ : T, N; R23/25-50-53 $0,25\% \leq C < 1\%$ : Xn, N; R20/22-50-53 $0,1\% \leq C < 0,25\%$ : Xn, N; R20/22-51-53 $0,025\% \leq C < 0,1\%$ : N; R51-53 $0,0025\% \leq C < 0,025\%$ : R52-53	
015-041-00-X	малатион (ISO) 1,2-бис(етоксикарбонил)етил-		204-497-7	121-75-5	Xn; R22  N; R50-53	Xn; N  R: 22-50/53	$C \geq 25\%$ : Xn, N; R22-50-53  $0,25\% \leq C < 25\%$ : N; R50-53	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	О,О-диметилфосфородитиоат 1,2-бис(етоксикарбонил)етил-О,О-диметилдитиофосфат					S: (2-)24-60-61	0,025% ≤ C < 0,25%: N; R51-53 0,0025% ≤ C < 0,025%: R52-53	
015-042-00-5	хлортион (тривиалното название не съобразено с ISO) О-(3-хлоро-4-нитрофенил)-О,О-диметилфосфоротиоат		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	етион (ISO)  O,O,O',O'-тетраетил-S,S'-метилendi(фосфородитиоат) ) етион (ISO) [O,O,O',O'-тетраетил-S,S'-метилendi(дитиофосфат) O,O,O',O'-тетраетил-S,S'-метилendi(дитиофосфат)]		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	фенхлорфос (ISO) О,О-диметил-О-2,4,5-трихлорофенилфосфоротиоат [фенхлорфос (ISO) О,О-диметил-О-2,4,5-трихлорофенилтиофосфат]		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	налед (ISO) 1,2-дибромо-2,2-дихлоретилдиметилфосфат		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	диоксатион (ISO) 1,4-диоксан-2,3-диил-О,О,О',О'-тетраетилди(фосфородитиоат) [1,4-диоксан-2,3-диил-О,О,О',О'-		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	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	тетраетилди(тиофосфат)]						1% ≤ C < 3%: T, N; R23/25-50-53 0,1% ≤ C < 1%: Xn, N; R20/22-50-53 0,025% ≤ C < 0,1%: N; R50-53 0,0025% ≤ C < 0,025%: N; R51-53 0,00025% ≤ C < 0,0025%: R52-53	
015-065-00-0	S-[2-(етилсулфинил)етил]-O,O-диметилфосфоротиоат [S-[2-(етилсулфинил)етил]-O,O-диметилдитиофосфат]		—	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	Потасан O,O-диетил-O-(4-метилкумарин-7-ил)фосфоротиоат [O,O-диетил-O-(4-метилкумарин-7-ил)тиофосфат]		—	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	деметон-S-метилсулфон S-2-етилсулфонилетилдиметилфосфоротиоат [S-2-етилсулфонилетилдиметилтиофосфат]		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	бенсулид (ISO) O,O-диизопропил-2-фенилсулфониламиноетилфосфоротиоат [O,O-диизопропил-2-фенилсулфониламиноетилдитиофосфат]		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	хлорпирифос (ISO) O,O-диетил-O-3,5,6-трихлоро-2-пиридилфосфоротиоат [O,O-диетил-O-3,5,6-трихлоро-2-пиридилтиофосфат]		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	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
015-095-00-4	метаидофос (ISO) O,S- диметилфосфорамидотиоат [O,S- диметиламидотиофосфат]		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	оксидисулфотон O,O-диетил-S-[2- (етилсулфинил)етил]фосфор одитиоат [O,O-диетил-S-[2- (етилсулфинил)етил]дитиоф осфат]		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  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	фентоат (ISO) етил-2- (диметоксифосфинотиоилти о)-2-фенилацетат [етил-2-(α - етоксикарбонилбензил)- O,O-диметилдитиофосфат]		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	фоксим (ISO) алфа- (диетоксифосфинотиоилими но)фенилацетонитрил		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	фосмет (ISO) O,O- диметилфталидометил-S- фосфородитиоат [O,O- диметилфталидометил-S- дитиофосфат]		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	трифенилфосфит		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	



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
							2,5% ≤ C < 5%: N; R51/53 0,25% ≤ C < 2,5%: R52/53	
015-107-00-8	етопрофос (ISO) етил-S,S- дипропилфосфордитиоат [етил-S,S- дипропилдитиофосфат]		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	бромофос (ISO) О-4-бромо-2,5- дихлорофенил-О,О- диметилфосфоротиоат [О-4-бромо-2,5- дихлорофенил-О,О- диметилтиофосфат]		218-277-3	2104-96-3	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)36-60-61	C ≥ 25%: Xn, N; R22-50-53 0,25% ≤ C < 25%: N; R50-53 0,025% ≤ C < 0,25%: N; R51-53  0,0025% ≤ C < 0,025%: R52-53	
015-109-00-9	кротоксифос (ISO) 1-фенилетил-3- (диметоксифосфинилокси)и зокротонат		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	цианофенфос (ISO) О-4-цианофенил-О- етилфенилфосфонотиоат [О-4-цианофенил-О- етилфенилтиофосфат]		—	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	хлормефос (ISO) S-хлорометил-О,О- диетил фосфордитиоат S-хлорметил-О,О- диетилдитиофосфат		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	хлортиофос (ISO) тиофосфорна киселина-О- (2,5-дихлоро-4-(метилтио)- фенил-О,О- диетилов естер		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	О-6-етокси-2- етилпиримидин-4-ил-О,О- диметилфосфоротиоат		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	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	етримфос [О-6-етокси-2-етилпиримидин-4-ил-О,О-диметилтиофосфат]						0,025% ≤ C < 0,25%: R52-53	
015-123-00-5	фенамифос (ISO) етил-4-метилтио-т-толил-изопропилфосфорамидат		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	хептенофос (ISO) 7-хлоробисцикло-(3.2.0)-хепта-2,6-диен-6-илдиметилфосфат		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; R51-53 0,0025% ≤ C < 0,025%: R52-53	
015-127-00-7	Ипробенфос S-бензилдиизопропилфосфотиоат [S-бензилдиизопропилтиофосфат]		247-449-0	26087-47-8	Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)61		
015-128-00-2	S-етилсулфинилметил-О,О-диизопропилфосфордитиоат [S-етилсулфинилметил-О,О-диизопропилдитиофосфат]		—	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	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
							0,0025% ≤ C < 0,025%: R52-53	
015-129-00-8	изофенфос (ISO) О-етил-О-2- изопропоксикарбонилфенил - изопропилфосфорамидотио ат [О-етил-О-(2- изопропоксикарбонилфенил - изопропиламидотиофосфат]		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	изоксатион (ISO) О,О-диетил-О-5- фенилзоксилол-3- илфосфоротиоат [О,О-диетил-О-5- фенилзоксилол-3- илифосфат]		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-(хлорофенилтиометил)- О,О- диметилфосфоротиоат метилкарботиофеноат S-(хлорофенилтиометил)- О,О-диметилдифосфат метилкарботиофеноат		—	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	пиперофос (ISO) S-2- метилпиперидинокарбонил метил-О,О- дипропилфосфоротиоат [S-2- метилпиперидинокарбонил метил-О,О- дипропилдифосфат]		—	24151-93-7	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)60-61	C ≥ 25%: Xn, N; R22-50-53 2,5% ≤ C < 25%: N; R50-53 0,25% ≤ C < 2,5%: N; R51-53 0,025% ≤ C < 0,25%: R52-53	
015-134-00-5	пиримифосметил (ISO) О-(2-диетиламино-6- метилпиримидин-4-ил) О,О-диметилфосфоротиоат		249-528-5	29232-93-7	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)60-61		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
015-135-00-0	<i>O</i> -(4-bromo-2-chlorophenyl) <i>O</i> -ethyl <i>S</i> -propyl phosphorothioate  <i>O</i> -(4-бромо-2-хлорофенил)- <i>O</i> -етил- <i>S</i> - пропилфосфоротиоат [ <i>O</i> -(4-бромо-2-хлорофенил)- <i>O</i> -етил- <i>S</i> -пропилтиофосфат] профенофос		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	$C \geq 25\%$ : Xn, N; R20/21/22-50-53 $0,025\% \leq C < 25\%$ : N; R50-53 $0,0025\% \leq C < 0,025\%$ : N; R51-53  $0,00025\% \leq C < 0,0025\%$ : R52-53	
015-136-00-6	<i>trans</i> -изопропил-3- [[ <i>(</i> етиламино)метоксифосфи нотиоил]окси]кротононат [[ <i>(</i> етиламино)метоксифосфи нотиоил]окси]изокротононат пропетамфос (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	$C \geq 25\%$ : T, N; R25-50-53  $3\% \leq C < 25\%$ : Xn, N; R22-50-53 $0,25\% \leq C < 3\%$ : N; R50-53 $0,025\% \leq C < 0,25\%$ : N; R51-53 $0,0025\% \leq C < 0,025\%$ : R52-53	
015-138-00-7	хиналфос (ISO) <i>O,O</i> -диетил- <i>O</i> -хиноксалин- 2-илфосфоротиоат [ <i>O,O</i> -диетил- <i>O</i> -хиноксалин- 2-илтиофосфат]		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	$C \geq 25\%$ : T, N; R21-25-50-53  $3\% \leq C < 25\%$ : Xn, N; R22-50-53 $0,025\% \leq C < 3\%$ : N; R50-53 $0,0025\% \leq C < 0,025\%$ : N; R51-53  $0,00025\% \leq C < 0,0025\%$ : R52-53	
015-139-00-2	<i>S</i> -трет-бутилтиометил <i>O,O</i> - диетилфосфородитиоат [ <i>S</i> -трет-бутилтиометил- <i>O</i> - <i>O</i> -диетилдитиофосфат] тербуфос (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	$C \geq 7\%$ : T+, N; R27/28-50-53  $1\% \leq C < 7\%$ : T, N; R24/25-50-53 $0,1\% \leq C < 1\%$ : Xn, N; R21/22-50-53 $0,025\% \leq C < 0,1\%$ : N; R50-53  $0,0025\% \leq C < 0,025\%$ : N; R51-53  $0,00025\% \leq C < 0,0025\%$ : R52-53	
015-154-00-4	2-хлороетилфосфорна киселина етхефон		240-718-3	16672-87-0	Xn; R20/21 C; R34 R52-53	C R: 20/21-34-52/53 S: (1/2-)26-28- 36/37/39-45-61	$C \geq 25\%$ : C; R20/21-34-52/53 $10\% \leq C < 25\%$ : C; R34  $5\% \leq C < 10\%$ : Xi; R36/37/38	
015-179-00-0	UVCB кондензационни продукти от: тетракис(хидроксиметил)фо сфониев хлорид с карбамат и дестилирана хидрирана C16-18-твърда мазнина алкиламин		422-720-8	166242-53-1	Канц. кат. 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		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
016-001-00-4	хидрогенсулфид		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	амониеви полисулфиди		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	дисерен дихлорид серен монохлорид		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	серен дихлорид		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	серен тетрачлорид		—	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	метантиол метилмеркаптан		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	диметилсулфат	E	201-058-1	77-78-1	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 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	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
							0,1% ≤ C < 1%: T; R45-R20-R68 0,01% ≤ C < 0,1%: T; R45-R68	
016-059-00-0	N,N,N',N'-тетраметилдитиобис(етилен) диаминдихлорид		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	бариев хлорат		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	калиев хлорат		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	натриев хлорат		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	натриев хипохлорит-разтвор...%активен Cl	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	натриев хипохлорит		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	хромен (VI) триоксид	E	215-607-8	1333-82-0	O; R9 Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46 Репр. кат. 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/	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
							43-45-46-48/20-51/53 1% ≤ C < 2,5%: T; R23-36/37/38-42/43-45-46-48/20-52/53 0,25% ≤ C < 1%: T; R20-45-46-52/53 0,1% ≤ C < 0,25%: T; R20-45-46	
024-002-00-6	калиев дихромат	Е	231-906-6	7778-50-9	О; R8 Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 2; R46 Репр. кат. 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	амониев дихромат	Е	232-143-1	7789-09-5	Е; R2 О; R8  Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 2; R46 Репр. кат. 2; R60-61  T+; R26 T; R25-48/23	Е; 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	3

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					Xn; R21 C; R34 R42/43 N; R50-53		$5\% \leq C < 7\%$ : T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 $3\% \leq C < 5\%$ : T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 $2,5\% \leq C < 3\%$ : T, N; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53 $1\% \leq C < 2,5\%$ : T; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53 $0,5\% \leq C < 1\%$ : T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 $0,25\% \leq C < 0,5\%$ : T; R45-46-20-42/43-52/53 $0,2\% \leq C < 0,25\%$ : T; R45-46-20-42/43 $0,1\% \leq C < 0,2\%$ : T; R45-46-20	
024-004-00-7	натриев дихромат, безводен	E	234-190-3	10588-01-9	O; R8 Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 2; R46 Репр. кат. 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 T+; R26 S: 53-45-60-61	$C \geq 25\%$ : T+, N; R45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 $10\% \leq C < 25\%$ : T+, N; R45-46-60-61-22-26-34-42/43-48/23-51/53 $7\% \leq C < 10\%$ : T+, N; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-51/53 $5\% \leq C < 7\%$ : T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 $3\% \leq C < 5\%$ : T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 $2,5\% \leq C < 3\%$ : T, N; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53 $1\% \leq C < 2,5\%$ : T ; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53 $0,5\% \leq C < 1\%$ : T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 $0,25\% \leq C < 0,5\%$ : T; R45-46-20-42/43-52/53	3



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
							0,2% ≤ C < 0,25%: T; R45-46-20-42/43 0,1% ≤ C < 0,2%: T; R45-46-20	
024-004-01-4	натриев дихромат, дихидрат	E	234-190-3	7789-12-0	O; R8 Канц. кат.2; R45 Мут. кат. 2; R46 Репр. кат. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; R50-53	T+; N; O R: 45-46-60-61-8-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61	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
024-011-00-5	амониев бис(1-(3,5-динитро-2-оксифенилазо)-3-(N-фенилкарбамоил)-2-нафтилато)хромат(1-)		400-110-2	—	F; R11 N; R50-53	F; N R: 11-50/53 S: (2-)33-60-61		
024-018-00-3	натриев хромат	E	231-889-5	7775-11-3	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 2; R46 Репр. кат.2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34	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-	3

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					R42/43 N; R50-53		23-36/37/38-42/43-48/20-51/53  3% ≤ C < 5%: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 2,5% ≤ C < 3%: T, N; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53  1% ≤ C < 2,5%: T; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53 0,5% ≤ C < 1%: T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 0,25% ≤ C < 0,5%: T; R45-46-20-42/43-52/53 0,2% ≤ C < 0,25%: T; R45-46-20-42/43 0,1% ≤ C < 0,2%: T; R45-46-20	
027-004-00-5	кобалтов дихлорид	Е	231-589-4	7646-79-9	Канц. кат. 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	кобалтов сулфат	Е	233-334-2	10124-43-3	Канц. кат. 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	димеден оксид меден (I)-оксид		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	цинков прах, цинкова пепел (нестабилizирани)		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	цинков прах, цинкова пепел (стабилизирани)		231-175-3	7440-66-6	N; R50-53	N  R: 50/53 S: 60-61		
030-003-00-2	цинков хлорид		231-592-0	7646-85-7	Xn; R22	C; N	C ≥ 25%: C, N; R22-34-50/53	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	EC №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					C; R34 N; R50-53	R: 22-34-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-  60-61	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	цинков сулфат (воден), (моно-, хекса- и херта хидрат) [1] цинков сулфат (безводен) [2]		231-793-3 [1] 231-793-3 [2]	7446-19-7 [1] 7733-02-0 [2]	Xn; R22 R41 N; R50-53	Xn; N R: 22-41-50/53 S: (2-)22-26-39-46-60-61		
033-001-00-X	арсен		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	арсенови съединения, с изключение на поименно означените в приложението	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	тетракис(диметилдитетрадециламониен)хекса-ми-оксотетра-ми3-оксоди-ми5-оксотетрадекаоксооктамолибдат(4-)		404-760-8	117342-25-3	T; R23 Xi; R41 R53	T R: 23-41-53 S: (1/2-)26-37/39-45-61		
048-001-00-5	съединения на кадмий с изключение на кадмиев сулфоселенид (xCdS.yCdSe), смес от кадмиев сулфид с цинков сулфид (xCdS.yZnS), смес от кадмиев сулфид с живачен сулфид (xCdS.yHgS) и тези които са посочени в приложението	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	кадмиев диформиат кадмиев формиат		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	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
							$1\% \leq C < 2,5\%$ : Xn; R20/22-33-52/53-68 $0,1\% \leq C < 1\%$ : Xn; R20/22-33-52/53 $0,25\% \leq C < 0,1\%$ : Xn; R20/22-33-52/53	
048-004-00-1	кадмиев цианид		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	$C \geq 25\%$ : T+, N; R26/27/28-32-33-50/53-68  $7\% \leq C < 25\%$ : T+, N; R26/27/28-32-33-51/53-68 $2,5\% \leq C < 7\%$ : T, N; R23/24/25-32-33-51/53-68  $1\% \leq C < 2,5\%$ : T; R23/24/25-32-33-52/53-68 $0,25\% \leq C < 1\%$ : Xn; R20/21/22-33-52/53 $0,1\% \leq C < 0,25\%$ : Xn; R20/21/22-33-	
048-005-00-7	кадмиев hexaфлуоросиликат(2-) кадмиев флуоросилиций		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	$C \geq 25\%$ : T, N; R23/25-33-50/53-68 $10\% \leq C < 25\%$ : T, N; R23/25-33-51/53-68 $2,5\% \leq C < 10\%$ : Xn, N; R20/22-33-51/53-68 $1\% \leq C < 2,5\%$ : Xn; R20/22-33-52/53-68 $0,25\% \leq C < 1\%$ : Xn; R20/22-33-52/53 $0,1\% \leq C < 0,25\%$ : Xn; R20/22-33-	
048-006-00-2	кадмиев флуорид	Е	232-222-0	7790-79-6	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 2; R46 Репр. кат. 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	$C \geq 25\%$ : T+, N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 $10\% \leq C < 25\%$ : T+, N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-51/53 $7\% \leq C < 10\%$ : T+, N; R45-46-60-61-22-26-48/23/25-51/53 $2,5\% \leq C < 7\%$ : T, N; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-51/53 $1\% \leq C < 2,5\%$ : T; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-52/53 $0,5\% \leq C < 1\%$ : T; R45-46-60-61-20/22-48/20/22-52/53 $0,25\% \leq C < 0,5\%$ : T; R45-46-20/22-48/20/22-52/53	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
							0,1% ≤ C < 0,25%: T; R45-46-20/22-48/20/22 0,01% ≤ C < 0,1%: T; R45	
048-007-00-8	кадмиев йодид		232-223-6	7790-80-9	T; R23/25 R33 Xn; R68 N; R50-53	T; N R: 23/25-33-68-50/53 S: (1/2-)22-45-60-61	C ≥ 25%: T, N; R23/25-33-50/53-68 10% ≤ C < 25%: T, N; R23/25-33-51/53-68 2,5% ≤ C < 10%: Xn, N; R20/22-33-51/53-68 1% ≤ C < 2,5%: Xn; R20/22-33-52/53-68 0,25% ≤ C < 1%: Xn; R20/22-33-52/53 0,1% ≤ C < 0,25%: Xn; R20/22-33	
048-008-00-3	кадмиев хлорид	E	233-296-7	10108-64-2	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 2; R46 Репр. кат. 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	кадмиев сулфат	E	233-331-6	10124-36-4	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 2; R46 Репр. кат. 2; R60-61 T; R48/23/25 T+; R26	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-	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					T; R25 N; R50-53		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	кадмиев сулфид	E	215-147-8	1306-23-6	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 3; R68 Репр. кат. 3; R62-63 T; R48/23/25 Xn; R22 R53	T; N R: 45-22-48/23/25-62-63-68-53 S: 53-45-61	C ≥ 25%: T; R45-22-48/23/25-62-63-68-53 10% ≤ C < 25%: T; R45-22-48/23/25-62-63-68 5% ≤ C < 10%: T; R45-48/20/22-62-63-68 1% ≤ C < 5%: T; R45-48/20/22-68 0,1% ≤ C < 1%: T; R45-48/20/22	1
050-001-00-5	калаен тетрахлорид калаен хлорид		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	триметил-калаени съединения с изключение на поименно означените в това приложение	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	триетил-калаени съединения, с изключение на поименно означените в това приложение	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	1

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
							0,1% ≤ C < 0,25%: T; R23/24/25 0,05% ≤ C < 0,1%: Xn; R20/21/22	
050-007-00-8	трипропилкалаени съединения, с изключение на поименно означените в това приложение	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	Трибутилкалаени съединения, с изключение на поименно означените в това приложение	A	—	—	T; R25-48/23/25  Xn; R21 Xi; R36/38 N; R50-53	T; N  R: 21-25-36/38-48/23/25-50/53 S: (1/2-)35-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25%: T, N; R21-25-36/38-48/23/25-50/53 2,5% ≤ C < 25%: T, N; R21-25-36/38-48/23/25-51/53 1% ≤ C < 2,5%: T; R21-25-36/38-48/23/25-52/53 0,25% ≤ C < 1%: Xn; R22-48/20/22-52/53	1
050-009-00-9	флуоротрипентилкалай [1] хексапентилдиостаноксан [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	флуоротрихексилкалай		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	трифенилкалаени съединения с с изключение на поименно означените в това приложение	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	тетрациклохексилкалай [1] хлороциклохексилкалай [2] бутилтрициклохексилкалай [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  53	1

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	EC №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
							1% ≤ C < 2,5%: Xn; R20/21/22-52/53 0,25% ≤ C < 1%: R52/53	
050-013-00-0	триоктил-калаени съединения с изключение на поименно означените в това проложение	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	антимонов пентахлорид		231-601-8	7647-18-9	C; R34 N; R51-53	C; N R: 34-51/53 S: (1/2-)26-45-61	C ≥ 25%: C, N; R34-51/53 10% ≤ C < 25%: C; R34-52/53 5% ≤ C < 10%: Xi; R36/37/38-52/53 2,5% ≤ C < 5%: R52/53	
051-003-00-9	антимонов съединения, с изключение на диантимониев трераксид (Sb <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ), диантимонов пентаоксид (Sb <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ), диантимонов трисулфид (Sb <sub>2</sub> S <sub>3</sub> ), диантимонов пентасулфид (Sb <sub>2</sub> S <sub>5</sub> ), както и антимонов съединения, които специално са посочени в приложението	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	неорганични живачни съединения с изключение на живачен (II) сулфид и поименно означените в това приложение	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	органични живачни съединения с изключение на поименно описаните в това приложение	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	Диметилживак [1] Диетилживак [2]		209-805-3 [1] 211-000-	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	C ≥ 25%: T+, N; R26/27/28-33-50/53 2,5% ≤ C < 25%: T+, N; R26/27/28-33-	1



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
			7 [2]			S: (1/2-)13-28-36-45-60-61	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; R23/24/25-33-52/53 0,05% ≤ C < 0,1%: Xn; R20/21/22-33	
082-001-00-6	оловни съединения с изключение на поименно означените в това приложение	AE	—	—	Репр. кат. 1; R61 Репр. кат. 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	оловни алкили	AE	—	—	Репр. кат. 1; R61 Репр. кат. 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; R61-23/24/25-33-52/53 0,05% ≤ C < 0,1%: Xn; R20/21/22-33	1
601-010-00-3	етилен		200-815-3	74-85-1	F+; R12 R67	F+ R: 12-67 S: (2-)9-16-33-46		
601-014-00-5	изопрен(стабилизиран) 2-метил-1,3-бутадиен	D	201-143-3	78-79-5	F+; R12 Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 3; R68  R52-53	F+; T R: 45-12-68-52/53 S: 53-45-61		
601-017-00-1	циклохексан		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		46

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
601-020-00-8	бензен	Е	200-753-7	71-43-2	F; R11 Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 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	толуен		203-625-9	108-88-3	F; R11 Repr.Cat.3; R63 Xn; R48/20-65 Xi; R38 R67	F; Xn R: 11-38-48/20-63-65- 67 S: (2-)36/37-62-46		4, 6
601-025-00-5	мезитилен 1,3,5-триметилбензен		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-фенилпропен алфа-метилстирен		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-метилстирен 2-винилтолуен 2-метилстирен 2-винилтолуен		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	бензо[a]пирен бензо[def]хризен		200-028-5	50-32-8	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 2; R46 Репр. кат. 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-хексан		203-777-6	110-54-3	F; R11 Repr. кат. 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	46
601-041-00-2	дибенз[a,h]антрацен		200-181-8	53-70-3	Канц. кат. 2; R45 N; R50-53	T; N R: 45-50/53	C ≥ 25%: T, N; R45-50/53 2,5% ≤ C < 25%: T, N; R45-51/53	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
						S: 53-45-60-61	0,25% ≤ C < 2,5%: T; R45-52/53 0,01% ≤ C < 0,25%: T; R45	
601-048-00-0	хризен		205-923-4	218-01-9	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 3; R68 N; R50-53	T; N R: 45-68-50/53 S: 53-45-60-61		
601-052-00-2	нафтален		202-049-5	91-20-3	Канц. кат.3; R40 Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-40-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
601-053-00-8	нонилфенол [1] 4-нонилфенол, разклонен [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	дибромометан		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	тетрахлоровъглерод тетрахлорометан		200-262-8	56-23-5	Канц. кат. 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-дибромоетан	E	203-444-5	106-93-4	Канц. кат. 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-дихлороетан		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-трихлороетан		201-166-9	79-00-5	Канц. кат.3; R40 Xn; R20/21/22	Xn R: 20/21/22-40-66	C ≥ 5%: Xn; R20/21/22	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					R66	S: (2-)9-36/37-46		
602-015-00-3	1,1,2,2-тетрахлоретан		201-197-8	79-34-5	T+; R26/27 N; R51-53	T+; N R: 26/27-51/53 S: (1/2-)38-45-61	C ≥ 25%: T+, N; R26/27-51/53 7% ≤ C < 25%: T+; R26/27-52/53 2,5% ≤ C < 7%: T; R23/24-52/53  1% ≤ C < 2,5%: T; R23/24 0,1% ≤ C < 1%: Xn; R20/21	
602-016-00-9	1,1,2,2-тетраброметан		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	пентахлоретан		200-925-1	76-01-7	Канц. кат. 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-бромпропан n-пропилбромид		203-445-0	106-94-5	F; R11 Репр. кат. 2; R60  Репр. кат. 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-дихлоретилен винилиденхлорид	D	200-864-0	75-35-4	F; R12  Канц. кат.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-дихлоретилен [1] cis-дихлоретилен [2] trans-дихлоретилен [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-хлорпропен алилхлорид	D	203-457-6	107-05-1	F; R11  Канц. кат.3; R40 Мут. кат.3; R68 Xn; R20/21/22-48/20	F; Xn; N  R: 11-20/21/22-36/37/ 38-40-48/20-68-50 S: (2-)16-25-26-36/37-		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
					Xi; R36/37/38 N; R50	46-61		
602-033-00-1	хлоробензен		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-дихлоробензен о- дихлоробензен		202-425-9	95-50-1	Xn; R22 Xi; R36/37/38 N; R50-53	Xn; N R: 22-36/37/38-50/53 S: (2-)23-60-61	C ≥ 25%: Xn, N; R22-36/37/38-50/53 20% ≤ C < 25%: Xn, N; R22-36/37/38-51/53  5% ≤ C < 20%: Xn, N; R22-51/53 2,5% ≤ C < 5%: N; R51/53 0,25% ≤ C < 2,5%: R52/53	
602-035-00-2	1,4- дихлоробензен р- дихлоробензен		203-400-5	106-46-7	Xi; R36 Канц. кат. 3; R40 N; R50-53	Xn; N R: 36-40-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
602-036-00-8	хлоропрен(стабилизиран) 2-хлоробута-1,3-диен	D E	204-818-0	126-99-8	F; R11 Канц. кат. 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	полихлорирани бифенили ПХБ	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	γ-1,2,3,4,5,6- хексахлороциклохексан лин дан		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-трихлорпропан	D	202-486-1	96-18-4	Канц. кат. 2; R45  Репр. кат. 2; R60 Xn; R20/21/22	T  R: 45-60-20/21/22 S: 53-45		
602-073-00- X	1,4-дихлробут-2-ен	E	212-121-8	764-41-0	Канц. кат. 2; R45 T+; R26 T; R24/25 C; R34 N; R50-53	T+; N R: 45-24/25-26-34-50/ 53	C ≥ 25%: T+, N; R45-24/25-26-34- 50/53 10% ≤ C < 25%: T+, N; R45-21/22-26-	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
						S: 53-45-60-61	34-51/53  7% ≤ C < 10%: T+, N; R45-21/22-26-36/37/38-51/53  5% ≤ C < 7%: T, N; R45-21/22-23-36/37/38-51/53 3% ≤ C < 5%: T, N; R45-21/22-23-51/53 2,5% ≤ C < 3%: T, N; R45-23-51/53  1% ≤ C < 2,5%: T; R45-23-52/53 0,25% ≤ C < 1%: T; R45-20-52/53 0,1% ≤ C < 0,25%: T; R45-20 0,01% ≤ C < 0,1%: T; R45	
603-006-00-7	изомери на пентанол, с изключение на поименно означените в това приложение	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-метилбутан-2-ол трет-пентанол		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	бис(хлороетил)етер		203-870-1	111-44-4	R10 Канц. кат. 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-аминоетанол етаноламин		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-диметоксиетан етиленгликолдиметилетер ЕГДМЕ		203-794-9	110-71-4	Репр. кат. 2; R60 Репр. кат. 2; R61 F; R11 R19 Xn; R20	F; T R: 60-61-11-19-20 S: 53-45		
603-054-00-9	ди-п-бутилов етер дибутилов етер		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	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
603-063-00-8	2,3-епоксипропан-1-олглицидол оксиранметанол	Е	209-128-3	556-52-5	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 3; R68 Репр. кат. 2; R60 T; R23 Xn; R21/22 Xi; R36/37/38	T R: 45-60-21/22-23-36/ 37/38-68 S: 53-45		
603-066-00-4	1,2-епокси-4-епоксиетилциклохексанвинилциклохександиепоксид		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	фенилглицидилов етер 2,3-епоксипропилфенил етер 1,2-епокси-3-епоксипропан	Е	204-557-2	122-60-1	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 3; R68 Xn; R20 Xi; R37/38 R43 R52-53	T R: 45-20-37/38-43-68- 52/53 S: 53-45-61		
603-070-00-6	2-амино-2-метилпропанол		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	реакционен продукт: бисфенол-А- (епихлорхидрин)епоксидна смола (със средна молекулна маса ≈ 700) реакционен продукт: бисфенол- А(епихлорхидринова)епокс и смола със средна молекулна маса ≈ 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	бут-2-ин-1,4-диол 2-бутин-1,4-диол	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-(пропилокси)етанол EGPE		220-548-6	2807-30-9	Xn; R21 Xi; R36	Xn R: 21-36		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
						S: (2-)26-36/37-46		
603-105-00-5	фуран	Е	203-727-3	110-00-9	F+; R12 R19 Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 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	фенолкарболова киселина монохидроксibenzen фенилалкохол		203-632-7	108-95-2	Мут. кат. 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	пирогалол 1,2,3-трихидроксibenzen		201-762-9	87-66-1	Мут. кат. 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	Резорцинол 1,3-бензендиол		203-585-2	108-46-3	Xn; R22  Xi; R36/38 N; R50	Xn; N  R: 22-36/38-50 S: (2-)26-61	C ≥ 25%: Xn, N; R22-36/38-50 20% ≤ C < 25%: Xn; R22-36/38 10% ≤ C < 20%: Xn; R22	
604-012-00-2	4-хлоро- <i>o</i> -крезол 4-хлоро-2-метилфенол		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-тетрахлорофенол		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	хлорокрезол 4-хлоро- <i>m</i> -крезол 4-хлоро-3-метилфенол		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	



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
							1% ≤ C < 5%: Xi; R43	
604-015-00-9	2,2'-метиленбис-(3,4,6-трихлорофенол) хексахлоропропен		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-трихлорофенол		202-467-8	95-95-4	Xn; R22  Xi; R36/38 N; R50-53	Xn; N  R: 22-36/38-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25%: Xn, N; R22-36/38-50/53  20% ≤ C < 25%: Xn, N; R22-36/38-51/53  5% ≤ C < 20%: Xn, N; R36/38-51/53 2,5% ≤ C < 5%: N; R51/53 0,25% ≤ C < 2,5%: R52/53	
604-030-00-0	Бисфенол А 4,4'-изопропилендифенол		201-245-8	80-05-7	Репр. кат. 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-триоксан триоксиметилен		203-812-5	110-88-3	F; R11 Репр. кат.3; R63 Xi; R37	F; Xn R: 11-37-63 S: (2-)36/37-46		
605-016-00-7	глиоксал...% етандиал...%	В	203-474-9	107-22-2	Мут. кат. 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	сафрол 5-алил-1,3-бензодиоксол	Е	202-345-4	94-59-7	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 3; R68 Xn; R22	T R: 45-22-68 S: 53-45		
605-022-00-X	глутаралалдехид 1,5-пентандиал		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	хлороацеталдехид		203-472-8	107-20-0	Канц. кат. 3; R40 T+; R26 T; R24/25 C; R34	T+; N R: 24/25-26-34-40-50 S: (1/2-)26-28-	C ≥ 25%: T+, N; R24/25-26-34-40-50 10% ≤ C < 25%: T+; R21/22-26-34-40	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					N; R50	36/37/39-45-61	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	тридимефон (ISO) 1-(4-хлорофенокси)-3,3-диметил-1-(1,2,4-триазол-1-ил)бутанон		256-103-8	43121-43-3	Xn; R22 R43 N; R51-53	Xn; N R: 22-43-51/53 S: (2-)24-37-61		
606-048-00-4	2'-анилино-3'-метил-6'-дипентиламиноспиро (изобензофуран-1(1H),9'-ксантен)-3-он		406-480-1	—	R53	R: 53 S: 61		
607-004-00-7	трихлороцетна киселина		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	метилхлороформат		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	мекопроп (ISO) [1] и негови соли 2-(4-хлоро-о-толилокси)пропионова киселина (RS)- 2-(4-хлоро-о-толилокси)пропионова киселина		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	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
607-053-00-4	MCPB (ISO) 4-(4-хлоро-о-толилокси)маслена киселина		202-365-3	94-81-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-061-00-8	акрилова киселина проп-2-енова киселина	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	бензилхлороформат		207-925-0	501-53-1	C; R34 N; R50-53	C; N R: 34-50/53 S: (1/2-)26-45-60-61	C ≥ 25%: C, N; R34-50/53 10% ≤ C < 25%: C, N; R34-51/53  5% ≤ C < 10%: Xi, N; R36/37/38-51/53 2,5% ≤ C < 5%: N; R51/53 0,25% ≤ C < 2,5%: R52/53	
607-072-00-8	2-хидроксиетилакрилат	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	диалилфталат		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	трифлуороцетна киселина ...%	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	пероцетна киселина...%		201-186-8	79-21-0	R10 O; R7 Xn; R20/21/22 C; R35 N; R50	O; C; N R: 7-10-20/21/22-35-50 S: (1/2-)3/7-14-36/37/39-45-61	C ≥ 25%: C, N; R20/21/22-35-50 10% ≤ C < 25%: C; R20/21/22-35  5% ≤ C < 10%: C; R34  1% ≤ C < 5%: Xi, R36/37/38	
607-107-00-7	2-етилхексила крилат	D	203-080-7	103-11-7	Xi; R37/38  R43	Xi  R: 37/38-43		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
						S: (2-)36/37-46		
607-113-00-X	изобутилметакрилат	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	циклохексилакрилат	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	моноакил или моноарил или моноалкиларилови естери с изключение на поименно означените в това проложение	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	пропаргит (ISO) 2-(4-трет-бутилфенокси)циклохексил проп-2-инилсулфит		219-006-1	2312-35-8	Канц. кат.3; R40 T; R23 Xi; R38-41 N; R50-53	T; N R: 23-38-40-41-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25%: T, N; R23-38-40-41-50-53 20% ≤ C < 25%: Xn, N; R20-38-40-41-50-53 10% ≤ C < 20%: Xn, N; R20-40-41-50-53  5% ≤ C < 10%: Xn, N; R20-40-36-50-53 3% ≤ C < 5%: Xn, N; R20-40-50-53 2,5% ≤ C < 3%: Xn, N; R40-50-53 1% ≤ C < 2,5%: Xn, N; R40-51-53 0,25% ≤ C < 1%: N; R51-53 0,025% ≤ C < 0,25%: R52-53	
607-189-00-4	триметилендиаминтетраоцетна киселина		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	изооктилакрилат		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	трет-бутилакрилат	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	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
607-247-00-9	додещилмета крилат		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	$C \geq 25\%$ : Xi, N; R36/37/38-50/53 $10\% \leq C < 25\%$ : Xi, N; R36/37/38-51/53 $2,5\% \leq C < 10\%$ : N; R51/53 $0,25\% \leq C < 2,50\%$ : R52/53	
607-249-00-X	1-метил-1,2-етандиил)бис[окси(метил-2,1-етандиил)]диакрилат		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	$C \geq 25\%$ : Xi, N; R36/37/38-43-51/53  $10\% \leq C < 25\%$ : Xi; R36/37/38-43-52/53  $2,5\% \leq C < 10\%$ : Xi; R43-52/53  $1\% \leq C < 2,5\%$ : Xi; R43	
608-003-00-4	акрилонитрил	D E	203-466-5	107-13-1	F; R11 Канц. кат. 2; R45 T; R23/24/25 Xi; R37/38-41 R43 N; R51-53	F; T; N R: 45-11-23/24/25-37/ 38-41-43-51/53 S: 9-16-53-45-61	$C \geq 25\%$ : T, N; R45-23/24/25-37/38-41-43-51/53 $20\% \leq C < 25\%$ : T; R45-23/24/25-37/38-41-43-52/53 $10\% \leq C < 20\%$ : T; R45-23/24/25-41-43-52/53  $5\% \leq C < 10\%$ : T; R45-23/24/25-36-43-52/53 $2,5\% \leq C < 5\%$ : T; R45-23/24/25-43-52/53 $1\% \leq C < 2,5\%$ : T; R45-23/24/25-43 $0,2\% \leq C < 1\%$ : T; R45-20/21/22 $0,1\% \leq C < 0,2\%$ : T; R45	
608-006-00-0	бромоксинил (ISO) и негови соли 3,5-дибромо-4-хидроксибензонитрил бромоксинилфенол		216-882-7	1689-84-5	Репр. кат. 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	$C \geq 25\%$ : T+, N; R25-26-43-63-50-53  $7\% \leq C < 25\%$ : T+, N; R22-26-43-63-50-53  $5\% \leq C < 7\%$ : T, N; R22-23-43-63-50-53 $3\% \leq C < 5\%$ : T, N; R22-23-43-50-53 $2,5\% \leq C < 3\%$ : T, N; R23-43-50-53 $1\% \leq C < 2,5\%$ : T, N; R23-43-51-53 $0,25\% \leq C < 1\%$ : Xn, N; R20-51-53 $0,1\% \leq C < 0,25\%$ : Xn; R20-52-53 $0,025\% \leq C < 0,1\%$ : R52-53	
608-007-00-6	йоксинил (ISO) и негови соли 4-хидрокси-3,5-дийодбензонитрил		216-881-1	1689-83-4	Репр. кат. 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-	$C \geq 25\%$ : T, N; R21-23/25-36-48/22-63-50-53 $20\% \leq C < 25\%$ : Xn, N; R20/22-36-48/22-63-50-53	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
						61-63	$10\% \leq C < 20\%$ : Xn, N; R20/22-48/22-63-50-53 $5\% \leq C < 10\%$ : Xn, N; R20/22-63-50-53  $3\% \leq C < 5\%$ : Xn, N; R20/22-50-53 $2,5\% \leq C < 3\%$ : N; R50-53 $0,25\% \leq C < 2,5\%$ : N; R51-53 $0,025\% \leq C < 0,25\%$ : R52-53	
608-010-00-2	метакриланитрил 2-метил-2-пропеннитрил	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	$C \geq 1\%$ : T; R23/24/25-43 $0,2\% \leq C < 1\%$ : Xn; R20/21/22-43	
608-014-00-4	хлороталонил (ISO) тетрахлороизофталонитрил		217-588-1	1897-45-6	Канц. кат. 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	$C \geq 20\%$ : T+, N; R26-37-40-41-43-50-53 $10\% \leq C < 20\%$ : T+, N; R26-40-41-43-50-53 $7\% \leq C < 10\%$ : T+, N; R26-40-36-43-50-53 $5\% \leq C < 7\%$ : T, N; R23-40-36-43-50-53 $2,5\% \leq C < 5\%$ : T, N; R23-40-43-50-53 $1\% \leq C < 2,5\%$ : T, N; R23-40-43-51-53 $0,25\% \leq C < 1\%$ : Xn, N; R20-51-53 $0,1\% \leq C < 0,25\%$ : Xn; R20-52-53 $0,025\% \leq C < 0,1\%$ : R52-53	
608-017-00-0	бромоксинилоктаноат (ISO) 2,6-дибромо-4- цианофенилоктаноат		216-885-3	1689-99-2	Репр. кат. 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	$C \geq 25\%$ : T, N; R22-23-43-63-50-53 $5\% \leq C < 25\%$ : Xn, N; R20-43-63-50-53  $3\% \leq C < 5\%$ : Xn, N; R20-43-50-53 $2,5\% \leq C < 3\%$ : Xi, N; R43-50-53 $1\% \leq C < 2,5\%$ : Xi, N; R43-51-53 $0,25\% \leq C < 1\%$ : N; R51-53 $0,025\% \leq C < 0,25\%$ : R52-53	
608-018-00-6	йоксинилоктаноат (ISO) 4-циано-2,6- дийодофенилоктаноат		223-375-4	3861-47-0	Репр. кат. 3; R63 T; R25 Xi; R36 R43	T; N R: 25-36-43-63-50/53 S: (1/2-)26-36/37-45- 60-61	$C \geq 25\%$ : T, N; R25-36-43-63-50-53 $20\% \leq C < 25\%$ : Xn, N; R22-36-43-63-50-53	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					N; R50-53		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-диаминометиленамино)тиазол-4-илметилтрио)пропионитрил		403-710-2	76823-93-3	Xn; R22 R43	Xn R: 22-43 S: (2-)22-24-37		
609-007-00-9	2,4-динитротолуен [1] динитротолуен [2], технически	E	204-450-0 [1] 246-836-1 [2]	121-14-2 [1] 25321-14-6 [2]	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 3; R68 Репр. кат. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R51-53	T; N R: 45-23/24/25-48/22-62-68-51/53 S: 53-45-61		
609-023-00-6	динокап(ISO)	E	254-408-0	39300-45-3	Репр. кат. 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	хинтозен (ISO) пентахлоронитробензен		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-динитротолуен	E	210-106-0	606-20-2	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 3; R68 Репр. кат. 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- динитротолуен	E	210-013-5	602-01-7	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 3; R68 Репр. кат. 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- динитротолуен	E	210-222-1	610-39-9	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 3; R68 Репр. кат. 3; R62 T;	T; N R: 45-23/24/25-48/22-62-68-51/53		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					R23/24/25 Xn; R48/22 N; R51-53	S: 53-45-61		
609-052-00-4	3,5-динитротолуен	Е	210-566-2	618-85-9	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 3; R68 Репр. кат. 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-динитротолуен	Е	210-581-4	619-15-8	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 3; R68 Репр. кат. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R51-53	T; N R: 45-23/24/25-48/22-62-68-51/53 S: 53-45-61		
609-056-00-6	2,2-дихлоро-2-нитроетанол		412-380-9	69094-18-4	Е; R2  Канц. кат. 3; R40 Xn; R22-48/22 C; R35  R43 N; R50-53	Е; C; N  R: 2-22-35-40-43-48/22-50/53 S: (1/2-)23-26-35-36/37/ 39-45-60-61	C ≥ 25%: C, N; R22-35-40-43-48/22-50/53 10% ≤ C < 25%: C, N; R22-35-40-43-48/22-51/53 5% ≤ C < 10%: C, N; R34-40-43-51/53 2,5% ≤ C < 5%: Xn, N; R36/37/38-40-43-51/53 1% ≤ C < 2,5%: Xn; R36/37/38-40-43-52/53 0,25% ≤ C < 1%: R52/53	
610-005-00-5	1-хлоро-4-нитробензен		202-809-6	100-00-5	Канц. кат.3;R40 Мут.кат.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	азобензен	Е	203-102-5	103-33-3	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 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	Смес от: натриев-5-[8-[4-[4-[4-[7-(3,5-дикарбоксилатофенилазо)-8-хидрокси-3,6-дисулфонатонафтаден-1-иламино]-6-хидрокси-1,3,5-триазин-2-ил]-2,5-диметилпиперазин-1-ил]-6-хидрокси-1,3,5-триазин-2-		413-180-4	—	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	иламино]-1-хидрокси-3,6-дисулфонатонафтален-2-илазо]-изофталат; амониев-5-[8-[4-[4-[7-(3,5-дикарбоксилатофенилазо)-8-хидрокси-3,6-дисулфонатонафтален-1-иламино]-6-хидрокси-1,3,5-триазин-2-ил]-2,5-диметилпиперазин-1-ил]-6-хидрокси-1,3,5-триазин-2-иламино]-1-хидрокси-3,6-дисулфонатонафтален-2-илазо]-изофталат; 5-[8-[4-[4-[4-[7-(3,5-дикарбоксилат-фенилазо)-8-хидрокси-3,6-дисулфонатонафтален-1-иламино]-6-хидрокси-1,3,5-триазин-2-ил]-2,5-диметилпиперазин-1-ил]-6-хидрокси-1,3,5-триазин-2-иламино]-1-хидрокси-3,6-дисулфонатонафтален-2-илазо]-изофталова киселина							
611-063-00-4	тринатриев [4'-(8-ацетиламино-3,6-дисулфонато-2-нафтилазо)-4''-(6-бензоиламино-3-сулфонато-2-нафтилазо)-бифенил-1,3',3'',1'''-тетраолато-		413-590-3	164058-22-4	Канц. кат. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
612-008-00-7	O,O',O'',O''' мед (II)		200-539-3	62-53-3	Канц. кат. 3; R40  Мут. кат.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	соли на анилина	A	—	—	Канц. кат. 3; R40 Мут. кат. 3; R68 T; R23/24/25	T; N R: 23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-68-50	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-	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					Xi; R41 R43  N; R50	S: (1/2-)26-27-36/37/39-45-61-63	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	Хлороанилини (с изключение на поименно означените в това проложение)	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-нафтиламин	E	202-080-4	91-59-8	Канц. кат. 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	фенилхидразин [1]  фенилхидразинхлорид[2] фенилхидразинхидрохлорид [3] фенилхидразинов сулфат(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]	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 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	else where in this Annex нитролуидини, с изключение на поименно означените в това проложение	C	—	—	T; R23/24/25  R33 N; R51-53	T; N R: 23/24/25-33-51/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61		
612-035-00-4	2-метоксианилин о-анизидин	E	201-963-1	90-04-0	Канц. кат. 2; R45 Мут. Кат. 3; R68 T; R23/24/25	T R: 45-23/24/25-68 S: 53-45		
612-042-00-2	бензидин 4,4'-диаминобифенил 1,1'-бифенил-4,4'-диамин бифенил-4,4'-илендиамин	E	202-199-1	92-87-5	Канц. кат. 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'-диаминодифенилметан 4,4'-метилендианилин	E	202-974-4	101-77-9	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 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- диетиланилин		202-088-8	91-66-7	T; R23/24/25 R33 N;	T; N	C ≥ 25%: T, N; R23/24/25-33-51/53	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	EC №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					R51-53	R: 23/24/25-33-51/53 S: (1/2-)28-37-45-61	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	<i>N,N</i> -диметил- <i>p</i> -толуидин [1] <i>N,N</i> -диметил- <i>m</i> -толуидин [2] <i>N,N</i> -диметил- <i>o</i> -толуидин [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-диазаоктанетилендиамин триетилтетрамин		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-триазаундекаметилендиамин тетраетилпентамин		203-986-2	112-57-2	Xn; R21/22 C; R34 R43 N; R51-53	C; N R: 21/22-34-43-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61	C ≥ 25%: C, N; R21/22-34-43-51/53 10% ≤ C < 25%: C; R34-43-52/53 5% ≤ C < 10%: Xi; R36/38-43-52/53 2,5% ≤ C < 5%: Xi; R43-52/53 1% ≤ C < 2,5%: Xi; R43	
612-064-00-2	3,6,9,12-тетраазатетрадекаметилендиамин пентаетилхексамин		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	полиетиленполиамиин с изключение на тези посочени на друго място в това приложение		—	—	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	дициклохексиламин		202-980-7	101-83-7	Xn; R22 C; R34 N; R50-53	C; N R: 22-34-50/53	C ≥ 25%: C, N; R22-34-50/53 10% ≤ C < 25%: C, N; R34-51/53	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
						S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	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-аминометил-3,5,5-триметилциклохексилламин		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	диметилнитрозоамин N-нитрозодиметиламин	E	200-549-8	62-75-9	Канц. кат. 2; R45 T+; R26  T; R25-48/25 N; R51-53	T+; N R: 45-25-26-48/25-51/  53 S: 53-45-61	C ≥ 25%: T+, N; R45-25-26-48/25-51/53 10% ≤ C < 25%: T+; R45-22-26-48/25-52/53  7% ≤ C < 10%: T+; R45-22-26-48/22-52/53  3% ≤ C < 7%: T; R45-22-23-48/22-52/53  2,5% ≤ C < 3%: T; R45-23-48/22-52/53  1% ≤ C < 2,5%: T; R45-23-48/22 0,1% ≤ C < 1%: T; R45-20 0,001% ≤ C < 0,1%: T; R45	
612-086-00-2	амитраз (ISO) N,N-бис(2,4-ксилилиминометил)метиламин		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	гуазатин		236-855-3	13516-27-3	T+; R26 Xn; R21/22 Xi; R37/38-41 N; R50-53	T+; N R: 21/22-26-37/38-41-50/53 S: (1/2-)26-28-36/37/39-38-45-46-60-61-63		
612-094-00-6	4-(2-хлоро-4-трифлуорометил)фенокси-2-		402-190-4	—	T; R48/25 Xn; R22-48/20	T; N R: 22-41-43-48/20-48/		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	EC №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	флуороанилинхидрохлорид				Xi; R41 R43  N; R50-53	25-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
612-121-00-1	амини, полиетиленполи-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-изопропил-N'-фенил-р-фенилендиамин		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	диаминотолуен, технически продукт-смес от [2] и [3] метилфенилендиамин [1] 4-метил- <i>m</i> -фенилендиамин[2] 2-метил- <i>m</i> -фенилендиамин[3]	E	246-910-3 [1] 202-453-1 [2] 212-513-9 [3]	25376-45-8 [1] 95-80-7 [2] 823-40-5 [3]	Канц. кат. 2; R45 T; R25 Xn; R20/21 Xi; R36 R43 N; R51-53	T; N  R: 45-20/21-25-36-43-51/53  S: 53-45-61		
613-009-00-5	2,4,6-трихлоро-1,3,5-триазинцианурохлорид		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	амитрол (ISO) 1,2,4-триазол-3-иламин аминамитрол		200-521-5	61-82-5	Репр. кат. 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-метилазиридин пропиленимин	E	200-878-7	75-55-8	F; R11 Канц. кат. 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	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
							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	азаконазол (ISO) 1-{{2-(2,4-дихлорфенил)-1,3-диоксолан-2-ил}-метил}-1H-1,2,4-триазол		262-102-3	60207-31-0	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)46		
613-043-00-0	имазалилсулфат (ISO) прах 1-[2-(алилокси)етил-2-(2,4-дихлорофенил)]-1H-имидазолхидрогенсулфат[1] имазалилсулфат (ISO) (+)-1-[2-(алилокси)етил-2-(2,4-дихлорофенил)]-1H-имидазолхидрогенсулфат[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	карбендазим (ISO) метилбензимидазол-2-илкарбамат		234-232-0	10605-21-7	Мут. кат. 2; R46 Repr.Cat.2; R60-61 N; R50-53	T; N R: 46-60-61-50/53 S: 53-45-60-61		
613-049-00-3	беномил (ISO) метил-1-(бутилкарбамоил)бензимидазол-2-илкарбамат		241-775-7	17804-35-2	Мут. кат. 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	молинат (ISO) S-етил-1-		218-661-0	2212-67-1	Канц. Кат. 3; R40 Repr. кат. 3; R62 Xn;	T; N R: 20/22-40-43-48/22-62-50-53	C ≥ 25%: Xn, N; R20/22-40-43-48/22-62-50-53	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	перхидроазепинкарботиоат S-етилперхидроазепин-1-карботиоат				R20/22 Xn; R48/22 R43  N; R50-53	63-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61	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	перметрин (ISO) m-феноксibenзил-3-(2,2-дихлоровинил)-2,2-диметилциклопропанкарбоксилат		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-дихлоро-5-етил-5-метилимидазолидин-2,4-дион		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-бензотиазол-3(2H)-он 1,2-бензотиазолин-3-он		220-120-9	2634-33-5	Xn; R22 Xi; R38-41  R43 N; R50	Xn; N R: 22-38-41-43-50  S: (2-)24-26-37/39-61	C ≥ 25%: Xn, N; R22-38-41-43-50 20% ≤ C < 25%: Xi; R38-41-43  10% ≤ C < 20%: Xi; R41-43 5% ≤ C < 10%: Xi; R36-43 0,05% ≤ C < 5%: Xi; R43	
613-112-00-5	2-октил-2H-изотиазол-3-он		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	фенпроморф цис-4-[3-(p-трет-бутилфенил)-2-		266-719-9	67564-91-4	Репр. кат. 3; R63 Xn; R22 Xi; R38	Xn; N R: 22-38-63-51/53 S: (2-)36/37-46-61		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	EC №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	метилпропил]-2,6-диметилморфолин фенпропиморф				N; R51-53			
613-129-00-8	метамитрон 4-амино-3-метил-6-фенил-1,2,4-триазин-5-он		255-349-3	41394-05-2	Xn; R22 N; R50	Xn; N R: 22-50 S: (2-)61		
613-167-00-5	смес от: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-он [EC № 247-500-7] и 2-метил-2H-изотиазол-3-он [EC № 220-239-6] (3:1) смес от: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-он [EC №. 247--500-7] и 2-метил-2H-изотиазол-3- [EC №. 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	Епоксиконазол (2RS,3RS)-3-(2-хлорофенил)-2-(4-флуорофенил)-[(1H-1,2,4-триазол-1-ил)метил]оксиран		406-850-2	133855-98-8	Канц. кат. 3; R40 Репр. кат. 3; R62 Репр. кат. 3; R63 N; R51-53	Xn; N R: 40-62-63-51/53 S: (2-)36/37-46-61		
615-001-00-7	метилизотианат		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	соли на тиоциановата киселина	A	—	—	Xn; R20/21/22  R32 R52-53	Xn  R: 20/21/22-32-52/53 S: (2-)13-61		
615-006-00-4	2-метил-m-фенилен диизоцианат толуен-2,4-диизоцианат[1] 4-метил-m-фенилен диизоцианат толуен-2,6-диизоцианат[2] m-толилиден диизоцианат толуен диизоцианат[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]	Канц. кат. 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	



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
615-008-00-5	3-изоцианатометил-3,5,5-триметилдихлохексил изоцианат изофорондиизоцианат		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	$C \geq 25\%$ : T, N; R23-36/37/38-42/43-51/53 $20\% \leq C < 25\%$ : T; R23-36/37/38-42/43-52/53 $2,5\% \leq C < 20\%$ : T; R23-42/43-52/53 $2\% \leq C < 2,5\%$ : T; R23-42/43 $0,5\% \leq C < 2\%$ : Xn; R20-42/43	2
615-015-00-3	1,7,7-триметилбицикло(2,2,1)хепт-2-илтиоцианоацетат изоборнилтиоцианоацетат		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	алахлор (ISO) 2-хлоро-2',6'-диетил-N-(метоксиметил)ацетанилд		240-110-8	15972-60-8	Канц. кат. 3; R40 Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-40-43-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61	$C \geq 25\%$ : Xn, N; R22-40-43-50-53 $1\% \leq C < 25\%$ : Xn, N; R40-43-50-53 $0,25\% \leq C < 1\%$ : N; R50-53 $0,025\% \leq C < 0,25\%$ : N; R51-53 $0,0025\% \leq C < 0,025\%$ : R52-53	
616-024-00-5	2-(4,4-диметил-2,5-диоксооксазолидин-1-ил)-2'-хлоро-5'-(2-(2,4-ди-трет-пентилфенокси)бутираמידо)-4,4-диметил-3-оксвалеранилд		402-260-4	—	R53	R: 53 S: 61		
617-002-00-8	алфа-алфа - диметилбензилхидропероксид куменхидропероксид		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	$C \geq 25\%$ : T, N; R21/22-23-34-48/20/22-51/53 $10\% \leq C < 25\%$ : C; R20-34-48/20/22-52/53 $3\% \leq C < 10\%$ : Xn; R20-37/38-41-52/53 $2,5\% \leq C < 3\%$ : Xi; R36/37-52/53 $1\% \leq C < 2,5\%$ : Xi; R36/37	
617-004-00-9	1,2,3,4-тетраhydro-1-нафтилхидропероксид		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	$C \geq 25\%$ : C, N; R22-34-50/53 $10\% \leq C < 25\%$ : C, N; R34-51/53 $5\% \leq C < 10\%$ : Xi, N; R36/37/38-51/53 $2,5\% \leq C < 5\%$ : N; R51/53 $0,25\% \leq C < 2,5\%$ : R52/53	
648-043-00-X	Креозотно масло, аценафтенова фракция,	H	292-606-9	90640-85-0	Канц. кат. 2; R45	T R: 45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
	редестилат на промивно масло, свободно от аценафтен [Масло след отстраняване, чрез кристализационни процеси на аценафтен от аценафтеното масло получено от каменовъглени катрани. Състои се главно от нафтален и алкилнафтален.]					S: 53-45		
648-080-00-1	Остатъци [каменовъглен катран], дестилат от креозотно масло Редестилат от промивно масло [Остатък от фракционна дестилация на промивно масло, с точка на кипене в областта 270 - 330°C. Състои се главно от двуядрени ароматни и хетероциклени въглеводороди].	Н	295-506-3	92061-93-3	Канц. кат. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-098-00-X	Креозотно масло, аценафтенена фракция от Промивно масло [Съставна комбинация от въглеводороди, получени чрез дестилация на въглищни катрани, с точка на кипене в диапазона 240-280°C. Състои се главно от аценафтен, нафтален и алкилнафтален]	Н	292-605-3	90640-84-9	Канц. кат. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-099-00-5	Креозотно масло [ Съставна комбинация от въглеводороди, получени чрез дестилация на каменовъглен катран. Състои се главно от ароматни въглеводороди и	Н	263-047-8	61789-28-4	Канц. кат. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	може да съдържа известни количества катранени киселини и основи. Дестилира се в приблизително в диапазона 200-325°C]							
648-100-00-9	Креозотно масло , Висококипящ дестилат от Промивно масло [Висококипяща дестилационна фракция, получена при високотемпературно коксуване на битумни каменни въглища, с допълнително пречистени за отстраняване излишък от кристални соли. Състои се главно от креозотно масло с остранени някои от основните полипръстени ароматни соли, компоненти на дестилатите на каменовъглените катранни. Не кристализира приблизително при 5°C]	Н	274-565-9	70321-79-8	Канц. кат. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-101-00-4	Креозот [Дестилат от каменовъглен катран, получен при високотемпературно коксуване на битуминозни каменни въглища. Съдържа главно ароматни въглеводороди, катранени киселини и основи]	Н	232-287-5	8001-58-9	Канц. кат. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-102-00-X	Екстракт от остатъци [каменни въглища], креозотмаслена киселина. Остатък от поглътително/ абсорбиционно масло. [Съставна комбинация от въглеводороди от освободена фракция при дестилация на камено въглен	Н	310-189-4	122384-77-4	Канц. кат. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	катран, с точка на кипене, приблизително в диапазона [250 °C - 280 °C]]							
648-138-00-6	Креозотно масло, нискокипящ дестилат от Промивно/Скруберно масло [Нискокипяща дестилационна фракция, получена от високотемпературно коксуване на битуминозни каменни въглища, преработена отново за отстраняване излишъка от кристални соли. Състои се главно от креозотно масло с отстранени полиядрени ароматни соли, съставна част на каменовъглените катранени дестилати. Не кристализира, приблизително, при 38°C].	Н	274-566-4	70321-80-1	Канц. кат. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-001-00-3	Екстракти [нефтени], лек нафтонов дестилатен разтворител.	Н	265-102-1	64742-03-6	Канц. кат. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-002-00-9	Екстракти [нефтени], тежък парафинов, дестилатен разтворител.	Н	265-103-7	64742-04-7	Канц. кат. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-003-00-4	Екстракти [нефтени], лек парафинов, дестилатен разтворител	Н	265-104-2	64742-05-8	Канц. кат. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-004-00-X	Екстракти [нефтени], тежък нафтонов, дестилатен разтворител.	Н	265-111-0	64742-11-6	Канц. кат. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-005-00-5	Екстракти [нефтени], лек, вакуум-газбол, разтворител.	Н	295-341-7	91995-78-7	Канц. кат. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-006-00-0	Въглеводороди с брой на въглеродни атоми C26-55, обогатени с ароматни въглеводороди	Н	307-753-7	97722-04-8	Канц. кат. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
649-062-00-6	Газове(нефтени) Нефтен газ от каталитично крекирана нафта чрез горен депропанатор, богат на C3 въглеродороди, свободен от киселини [Съставна комбинация от въглеродороди, получени при фракциониране на каталитично крекирани въглеродороди и обработени за отстраняване на киселинносъдържащи примеси. Състои се от въглеродороди с брой на въглеродни атоми в диапазона C2 – C4, основно от C3 въглеродороди]	Н К	270-755-0	68477-73-6	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-063-00-1	Газове [нефтени], Нефтен газ, получен чрез каталитичен крекер [Съставна комбинация от въглеродороди, получени при дестилацията на продукти чрез каталитично-крекингови процеси. Състои се от въглеродороди с брой на въглеродни атоми в диапазона C1 - C6]	Н К	270-756-6	68477-74-7	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-064-00-7	Газове [нефтени], Нефтен газ, получен чрез каталитичен крекер, богат на C1-C5 въглеродороди [Съставна комбинация от въглеродороди, получени при дестилацията на продукти чрез процеси на каталитично- крекингови	Н К	270-757-1	68477-75-8	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	процеси. Състои се от въглеродороди с брой на въглеродни атоми в диапазона C1 - C6, главно с C1-C5]							
649-065-00-2	Газове [нефтени], Нефтен газ, получен от каталитично полимеризиран нефт чрез стабилизатор, горна фракция, богат на C <sub>2-4</sub> въглеродороди [Съставна комбинация от въглеродороди, получени чрез фракционна стабилизация на каталитично полимеризирана нефта. Състои се от въглеродороди с брой на въглеродни атоми в диапазона C <sub>2</sub> .C <sub>6</sub> , главно от C <sub>2-4</sub> .]	Н К	270-758-7	68477-76-9	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-066-00-8	Газове [нефтени] Нефтен газ, получен чрез каталитичен реформинг, богат на C <sub>1-4</sub> въглеродороди [Съставна комбинация от въглеродороди, получени при дестилацията на продукти чрез процеси на каталитичен реформинг. Състои се от въглеродороди с брой въглеродни атоми в диапазона C1 -C6, главно от C1-C4]	Н К	270-760-8	68477-79-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46  S: 53-45		
649-067-00-3	Газове [нефтени] Нефтен газ, чрез C <sub>3</sub> -C <sub>5</sub> олефин – парафин алкилиращо захранване [Съставна комбинация от олефинови и парафинови въглеродороди, с брой	Н К	270-765-5	68477-83-8	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
	въглеродни атоми в диапазона C3-C5, използвани за алкилиращо хранване. Стайната температура надвишава обикновено критичната температура на тази комбинация]							
649-068-00-9	Газове [нефтени] Нефтен газ, богат на C <sub>4</sub> въглеводороди [Съставна комбинация от въглеводороди, получени при дестилацията на продукти чрез каталитично-фракционни процеси. Състои се от алифатни въглеводороди, с брой въглеродни атоми в диапазона C <sub>3</sub> - C <sub>5</sub> , главно с C <sub>4</sub> ]	Н К	270-767-6	68477-85-0	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-069-00-4	Газове [нефтени], Нефтен газ, от горна фракция, чрез деетанатор [Съставна комбинация от въглеводороди, получени при дестилацията на газови и бензинови фракции чрез каталитичен- крекинг процеси. Съдържа главно етан и етилен]	Н К	270-768-1	68477-86-1	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-070-00-X	Газове [нефтени], Нефтен газ, чрез висококолонен деизобутанатор [Съставна	Н К	270-769-7	68477-87-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	комбинация от въглеродороди, получени чрез открита дестилация на бутан-бутиленов поток. Състои се от алифатни въглеродороди главно с брой въглеродни атоми в диапазона C3 - C4]							
649-071-00-5	Газове [нефтени], Нефтен газ, безводен, с повишено съдържание на пропен, получен чрез депропанатор [Съставна комбинация от дестилацията продукти на газове и бензинови фракции, чрез каталитично-крекингови процеси. Съдържат главно пропилен с известно количество етан и пропан]	Н К	270-772-3	68477-90-7	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-072-00-0	Газове [нефтени], Нефтен газ получен чрез колонен депропанатор [Съставна комбинация от въглеродороди, получени при дестилация на газове и бензинови фракции чрез процеси на каталитичен крекинг. Съдържа главно алифатни въглеродороди с брой въглеродни атоми в диапазона C <sub>2</sub> - C <sub>4</sub> ].	Н К	270-773-9	68477-91-8	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-073-00-6	Газове [нефтени], Нефтен газ, отдестилиран чрез депропанатор на дестилационна инсталация	Н К	270-777-0	68477-94-1	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	[Съставна комбинация от въглеродороди, получени при фракциониране на смесени потоци. Състои се главно от въглеродороди с брой въглеродните атоми в диапазона C <sub>1</sub> - C <sub>4</sub> , главно пропан]							
649-074-00-1	Газове [нефтени] Нефтен газ, чрез Girbatol-инсталация [Съставна комбинация от въглеродороди, използвани за хранване на Girbatol – инсталация за отстраняването на сероводород. Съдържа алифатни въглеродороди с брой въглеродни атоми в диапазона C <sub>2</sub> - C <sub>4</sub> ]	Н К	270-778-6	68477-95-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-075-00-7	Газове [нефтени], Нефтен газ, получен чрез изомеризиращ нефтен фракционер, богат на C <sub>4</sub> , без сероводород.	Н К	270-782-8	68477-99-6	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-076-00-2	Остатъчен нефтен газ, Нефтен газ, получен чрез каталитично крекиране и пречистване на масло, и чрез термично крекиране на вакуум остатък фракциониране [Съставна комбинация от въглеродороди, получена при фракциониране на каталитично крекирано пречистено масло и термично крекиран вакуум остатък. Състои се главно от въглеродороди с брой на	Н К	270-802-5	68478-21-7	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46  S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
	въглеродните атоми в диапазона C1 - C6]							
649-077-00-8	Отпадъчен нефтен газ, Нефтен газ, получен от каталитично крекиран нефт чрез стабилизиращ абсорбер [Съставна комбинация от въглеродороди, получена при стабилизирането на каталитично крекиран нефт. Състои се главно от въглеродороди с брой въглеродните атоми в диапазона C1 - C6]	Н К	270-803-0	68478-22-8	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-078-00-3	Остатъчен нефтен газ, Нефтен газ, чрез използване на каталитичен крекер, каталитичен реформер и хидродесулфуратор, комбиниран фракционатор [Съставна комбинация от въглеродороди, получени чрез фракциониране на продукти от каталитичен крекинг, каталитичен реформинг и хидроделсулфориращи процеси, за отделяне на киселинни примеси. Състои се главно от въглеродороди с брой въглеродни атоми в диапазона C1 - C5].	Н К	270-804-6	68478-24-0	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-079-00-9	Остатъчен нефтен газ, Нефтен газ, чрез стабилизатор за каталитичен реформинг на	Н К	270-806-7	68478-26-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	нефт фракциониране [Съставна комбинация от въглеродороди, получена при фракциониране стабилизаран нефт от каталитичен реформинг. Състои се главно от въглеродороди с брой въглеродните атоми в диапазона C <sub>1</sub> - C <sub>4</sub> ]							
649-080-00-4	Остатъчен нефтен газ, Нефтен газ, богат на C <sub>4</sub> -въглеродороди, чрез газова инсталация за смесени потоци [Съставна комбинация от въглеродороди, получена чрез фракциониране, стабилизиране на първичния дестилат и чрез дестилация и каталитичен реформинг на нефтен остатъчен газ. Състои се от въглеродороди с брой въглеродните атоми в диапазона C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> , главно от бутан и изобутан.]	Н К	270-813-5	68478-32-0	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-081-00-X	Остатъчен нефтен газ, Нефтен газ чрез насищаща пречистваща инсталация с повишено съдържание на C <sub>1</sub> -C <sub>2</sub> въглеродороди; [Съставна комбинация от въглеродороди, получена от фракциониране на дестилиран остатъчен газ, първично дестилиран нефт, каталитичен реформинг на остатъчен газ. Състои се главно от въглеродороди с брой въглеродни атоми в диапазона C <sub>1</sub> - C <sub>5</sub> предимно	Н К	270-814-0	68478-33-1	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
	от метан и етан].							
649-082-00-5	Остатъчен нефтен газ, Нефтен газ от вакуум остатъци при термичен крекинг [Съставна комбинация от въгледороди, получена при термичен крекинг на вакуумни остатъци. Състои се главно от въгледороди с брой въглеродни атоми в диапазона C1 - C5]	Н К	270-815-6	68478-34-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-083-00-0	Въгледороди, богати на C3- C4.- Нефтен газ от нефтен дестилат [Съставна комбинация от въгледороди, получена при дестилация и кондензационна суров нефт. Състои се главно от въгледороди с брой въглеродните атоми в диапазона C3 - C5, главно в диапазона C3 и C4]	Н К	270-990-9	68512-91-4	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-084-00-6	Газове (нефтени), Нефтен газ, получен от първичен дестилат на нефт с широк диапазон, в условие на изключен дехексанатор [Съставна комбинация от въгледороди, получена при фракционирането на първичен дестилат на нефт с широк диапазон, в условие на изключен дехексанатор. Състои се главно от въгледороди с брой въглеродните атоми в диапазона C2 - C6]	Н К	271-000-8	68513-15-5	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-085-00-1	Газове (нефтени), Нефтен газ богат на въгледороди, получен в	Н К	271-001-3	68513-16-6	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	условие на изключен хидрокрекинг [Съставна комбинация от въглеводороди, получена при дестилацията на продукти посредством хидрокрекинг процеси. Състои се главно от въглеводороди с брой въглеродните атоми в диапазона C1 - C4. Може да съдържа известни количества водород и сероводород].							
649-086-00-7	Газове (нефтени), Нефтен газ, получен от лека фракция на първично дестилиран нефт, в условие на изключен стабилизатор. [Съставна комбинация от въглеводороди, получена чрез стабилизирането на лек първично дестилиран нефт. Състои се главно от наситени алифатни въглеводороди с брой въглеродните атоми в диапазона C2 - C6]	Н К	271-002-9	68513-17-7	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-087-00-2	Нефтени остатъци, Нефтен газ, богат на C <sub>4</sub> въглеводороди, получен при наличие на алкилиращ сплитер [Комбинация от остатъци, получени при дестилация на различни продукти от различни нефтохимични процеси на преработване. Състои се от въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C4 - C5, предимно бутан, с точка на кипене в	Н К	271-010-2	68513-66-6	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	диапазона (- 11,7°C - 27,8°C)]							
649-088-00-8	Въглеводороди, C1-C4 Нефтен газ [Съставна комбинация от въглеводороди, получени в условия на термичен крекинг и абсорбционни процеси, както и чрез дестилация на сурово масло. Състои се от въглеводороди с брой въглеродните атоми в диапазона C1-C4 и с точка на кипене в областта от (от - 164 до - 0,5°C)]	Н К	271-032-2	68514-31-8	Carc. Cat 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-089-00-3	Въглеводороди, C1-C4, без да съдържат сяра (сламки) Нефтен газ [Съставна комбинация от въглеводороди, получена чрез обработване на въглеводородните газове чрез процеси за отделяне на сероводород при превръщането им в меркаптани или за отстраняване на киселосъдържащи примеси. Състои се главно от въглеводороди с брой въглеродни атоми в диапазона C1 - C4, с точка на кипене в областта (от - 164°C до -0,5°C)]	Н К	271-038-5	68514-36-3	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-090-00-9	Въглеводороди, C1-C3, Нефтен газ [Съставна комбинация от въглеводороди, с брой въглеродни атоми в диапазона C1 - C3, с точка на кипене в диапазона (от - 164°C до - 42°C)]	Н К	271-259-7	68527-16-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-091-00-4	Въглеводороди, C1-C4	Н К	271-261-8	68527-19-5	Канц. кат. 1; R45	T		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
	фракциониран, чрез дебутанатор нефтен газ				Мут. кат. 2; R46	R: 45-46 S: 53-45		
649-092-00-X	Газове(нефтени), Нефтен газ C1-C5 въгледороди, маслен [Съставна комбинация от въгледороди, получена при дестилацията на суров нефт и/или чрез крекинг на газъл. Състои се от въгледороди с брой въглеродните атоми главно в диапазона C1 - C5]	Н К	271-624-0	68602-83-5	Канц. кат. 1; R45  Мут. кат. 2; R46	T  R: 45-46  S: 53-45		
649-093-00-5	Въгледороди, C2-C4, Нефтен газ	Н К	271-734-9	68606-25-7	Канц. кат. 1; R45  Мут. кат. 2; R46	T  R: 45-46  S: 53-45		
649-094-00-0	Въгледороди, C3, Нефтен газ	Н К	271-735-4	68606-26-8	Канц. кат. 1; R45  Мут. кат. 2; R46	T  R: 45-46  S: 53-45		
649-095-00-6	Газове (нефтени), алкилиращо захранване нефтен газ [Съставна комбинация от въгледороди, получени при каталитичен крекинг на газъл. Състои се от въгледороди с брой въглеродни атоми в диапазона в диапазона C3 - C4]	Н К	271-737-5	68606-27-9	Канц. кат. 1; R45  Мут. кат. 2; R46	T  R: 45-46  S: 53-45		
649-096-00-1	Газове (нефтени), Нефтен газ при изключен долен депропанатор [Съставна комбинация от въгледороди, получени чрез фракциониране с депропанаер. Състои сеглавно от бутан, изобутан и будадиен]	Н К	271-742-2	68606-34-8	Канц. кат. 1; R45  Мут. кат. 2; R46	T  R: 45-46  S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
649-097-00-7	Газове (нефтени), нефтопреработени смеси. Нефтен газ [Съставна комбинация, получена при различни процеси. Състои се от водород, сероводород и въглеродни атоми в диапазона главно от C1 - C5]	Н К	272-183-7	68783-07-3	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-098-00-2	Газове (нефтени), чрез каталитично крекиране. Нефтен газ [Съставна комбинация от въглеродни атоми, получена при дестилацията на продукти чрез каталитичен крекинг процес. Състои се главно от въглеродни атоми в диапазона C3 - C5]	Н К	272-203-4	68783-64-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-099-00-8	Газове (нефтени), Нефтен газ, от C2-C4 въглеродни атоми, сладък ( без сероводород) [Съставна комбинация, от въглеродни атоми, получена чрез обработване на нефтен дестилат за отделяне на сероводорода чрез превръщане в меркаптани или за отстраняване на киселинните примеси. Състои се главно от наситени и ненаситени въглеродни атоми в диапазона C2 - C4, с точка на кипене в областта (от- 51°C до 34°C)]	Н К	272-205-5	68783-65-3	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-100-00-1	Газове (нефтени), Нефтен газ, от суров нефт	Н К	272-871-7	68918-99-0	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46		



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	без фракциониране [Съставна комбинация, от въгледороди, получена чрез фракциониране на суров нефт. Състои се от наситени алифатни въгледороди с брой въглеродните атоми в диапазона главно в диапазона C1 - C5]					S: 53-45		
649-101-00-7	Газове (нефтени), Нефтен газ, получен при изключен дехексанатор [Съставна комбинация от въгледороди, получена чрез фракциониране на непрекъснати нефтени потоци Състои се от наситени алифатни въгледороди с брой въглеродните атоми главно в диапазона C1 - C5]	Н К	272-872-2	68919-00-6	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-102-00-2	Газове (нефтени), Нефтен газ, от лек първично дестилиран бензин, при изключен фракционен стабилизатор [Съставна комбинация от въгледороди, получена при фракциониране на първично дестилиран бензин. Състои се от наситени алифатни въгледороди с брой въглеродните атоми главно в диапазона C1 - C5]	Н К	272-878-5	68919-05-1	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-103-00-8	Газове (нефтени) Нефтен газ, без стрипер,	Н К	272-879-0	68919-06-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	десулфуриран [Съставна комбинация от въглеродороди, получена чрез процес на нефт десулфуриране и дестилране от нефтопродукта. Състои се главно от наситени алифатни въглеродороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C4]							
649-104-00-3	Газове (нефтени), Нефтен газ, чрез флуидизирани горни фракции, каталитичен крекер сплитер	Н К	272-882-7	68919-09-5	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-105-00-9	[Съставна комбинация от въглеродороди, получена чрез фракциониране на порции C3-C4 сплитер. Състои се главно от C3 въглеродороди.]	Н К	272-893-7	68919-20-0	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-106-00-4	Газове (нефтени), Нефтен газ, получен при изключен стабилизатор на потока [Съставна комбинация от въглеродороди, получена при фракциониране на течността от първата колона, използвана при дестилация на сурово масло. Състои се главно от наситени алифатни въглеродороди с брой на въглеродните атоми от C1 - C4]	Н К	272-883-2	68919-10-8	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45 S: 53-45		
649-107-00- X	Газове (нефтени), Нефтен газ чрез каталитично крекиран нефт дебутанатор [Съставна комбинация от въглеродороди, получена при фракционирането на каталитично крекиран нефт.	Н К	273-169-3	68952-76-1	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
	Състои се главно от въглеродороди с брой на въглеродните атоми от C1 - C4]							
649-108-00-5	Отстагъчен нефтен газ, Нефтен газ от каталитично крекиран дестилат и нефт стабилизатор [Съставна комбинация от въглеродороди, получена при фракционирането на каталитично крекиран нефт и дестилат. Състои сеглавно от въглеродороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C4]	Н К	273-170-9	68952-77-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-109-00-0	Остагъчен нефтен газ, Нефтен газ от термично крекиран дестилат от газьол, нефт абсорбер [Съставна комбинация от въглеродороди, получена при разделянето на термично- крекирани дестилати от нефт и газьол. Състои сеглавно от въглеродороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C6]	Н К	273-175-6	68952-81-8	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-110-00-6	Остагъчен нефтен газ, Нефтен газ чрез термично крекиран въглеводороден фракционен стабилизатор при коксуване на нефт.	Н К	273-176-1	68952-82-9	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	[Съставна комбинация от въгледороди, получена при фракционно стабилизиране на термично крекирани въгледороди чрез коксуване на нефт. Състои се от въгледороди с брой на въглеродните атоми, главно в диапазона C1 - C6]							
649-111-00-1	Газове (нефтени), Нефтен газ от парокрекиран бутadiensов концентрат. [Съставна комбинация от въгледороди, получена при дестилацията на продукти от термично-крекинг процес. Състои се от въгледороди с брой на въглеродните атоми, главно в диапазона C4]	Н К	273-265-5	68955-28-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-112-00-7	Газове (нефтени) Нефтен газ чрез каталитичен реформинг на първично дестилиран нефт стабилизатор [Съставна комбинация от въгледороди, получена при каталитичен реформинг на първично дестилиран нефт и фракциониране на целия протичащ поток. Състои се от наситени алифатни въгледороди с брой на въглеродните атоми, главно в диапазона C2 - C4]	Н К	273-270-2	68955-34-0	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-113-00-2	Въгледороди, C4, Нефтен газ	Н К	289-339-5	87741-01-3	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-114-00-8	Алкани, Нефтен газ, богат на C1-C4-	Н К	292-456-4	90622-55-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
	C3- въгледороди					S: 53-45		
649-115-00-3	Газове (нефтени), Нефтен газ, богат на C3- въгледороди, чрез парокрекер [Съставна комбинация от въгледороди, получена при дестилацията на продукти чрез парен крекинг процес. Състои се главно от пропилен и малко пропан, с точка на кипене в областта (от -70°C до 0°C)]	Н К	295-404-9	92045-22-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-116-00-9	Въгледороди, Нефтен газ от паро крекиран дестилат, съдържа C4-въгледороди. [Съставна комбинация от въгледороди, получена при дестилацията на продукти чрез парокрекинг процес. Състои се главно от въгледороди с брой на въглеродните атоми от C4, състои се главно, 1-бутен и 2-бутен, съдържа също бутан и изобутен, с точка на кипене в областта (от - 12°C до - 5°C)]	Н К	295-405-4	92045-23-3	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-117-00-4	Газове (нефтени), Нефтен газ, C-4-фракция, втечен, сяропречистен [Съставна комбинация от въгледороди, получена от смесени втечени петролни	НКС	295-463-0	92045-80-2	F+; R12 Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	F+; T R: 12-45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	газове чрез прилагане на процеси за отделяне на сероводород при оксидиране на меркаптани, както и отделянето на киселинни примеси. Състои съгласно от от C4 наситени и ненаситени въглеводороди]							
649-119-00-5	Нефтени рафинати, парокрекинг, C4 фракция меден амониев ацетат екстр., C3-C5 ненаситени C3-C5, несъдържащ бутадиен	Н К	307-769-4	97722-19-5	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-120-00-0	Газове (нефтени) Рафинерен газ, получен чрез аминно системно подаване [Състои се от водород, въглероден оксид, въглероден диоксид, сероводород и алифатни въглеводороди с брой на въглеродните атоми, главно в диапазона C1 - C5]	Н К	270-746-1	68477-65-6	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-121-00-6	Газове (нефтени), Рафинерен газ от бензенови инсталации, при изключен хидродесулфуризер [Отпаден газ, получен от бензенови инсталации. Състои се главно от водород. Съдържа въглероден монооксид и въглеводороди с брой на въглеродните атоми главно в диапазона C1 - C6, включително и бензен]	Н К	270-747-7	68477-66-7	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-122-00-1	Газове (нефтени), Рафинерен газ, богат на водород, от бензен рециклираща инсталация	Н К	270-748-2	68477-67-8	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	[Съставна комбинация от въгледороди, получен от бензен рециклираща инсталация. Съдържат главно водород с малки количества въглероден монооксид и въгледороди с брой на въглеродните атоми в диапазона от C1 - C6]							
649-123-00-7	Газове (нефтени), Рафинерен газ, получен от смесени масла, богат на водород и азот [Съставна комбинация от въгледороди, получена при дестилацията на смесени масла. Състои сглавно от водород и азот с малки количества въглероден монооксид, въглероден диоксид и алифатни въгледороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C5]	Н К	270-749-8	68477-68-9	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-124-00-2	Газове (нефтени), Рафинерен газ, горна фракция чрез каталитичен рефоминг стрипер [Съставна комбинация от въгледороди, получени при стабилизация на нефт от каталитичен реформинг. Състои се от водород и наситени алифатни въгледороди с брой на въглеродните атоми, главно в диапазона C1 - C4]	Н К	270-759-2	68477-77-0	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-125-00-8	Газове (нефтени), Рафинерен газ, съдържа C6-C8 въгледороди, чрез	Н К	270-761-3	68477-80-5	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	каталитичен реформинг рециркулация [Съставна комбинация от въглеводороди, получена при дестилацията на продукти от каталитичен реформинг на С6-С8 въглеводороди и рециркулация за съхраняване на водорода. Състои се главно от водород малки количества въглероден монооксид, въглероден диоксид, азот и въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона С3 - С6]							
649-126-00-3	Газове (нефтени), Рафинерен газ, съдържа С6-С8, чрез каталитичен реформер [Съставна комбинация от въглеводороди, получена при дестилацията на продукти при каталитичен реформинг на С6-С8 въглеводородно захранване. Състои се от въглеводороди с брой на въглеродните атоми от С1 - С5 и водород]	Н К	270-762-9	68477-81-6	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-127-00-9	reformer recycle, hydrogen-Газове (нефтени), Рафинерен газ, от С6-С8 въглеводороди, чрез каталитичен реформинг рециркулация, богат на водород	Н К	270-763-4	68477-82-7	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-128-00-4	Газове (нефтени), Рафинерен газ от С2 възвратен поток [Съставна комбинация от въглеводороди, получена	Н К	270-766-0	68477-84-9	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирани	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
	при екстракцията на водород от газов поток, състоящ се основно от водород и малки количества азот, въглероден монооксид, метан, етан и етилен. Съдържа главно въглеводороди, като метан, етан и етилен с малки количества водород, азот и въглероден монооксид]							
649-129-00-X	Газове (нефтени), Рафинерен газ, безводен, от газова коценр. инсталация [Съставна комбинация от безводни газове, от газ концентрираща инсталация. Състои се от водород, сероводород и въглеводороди с брой на въглеродните атоми безводни, главно в диапазона C1 - C3]	Н К	270-774-4	68477-92-9	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-130-00-5	Газове (нефтени), Рафинерен газ от газ концентриращ реабсорбер [Съставна комбинация въглеводороди, получена при дестилация на смесени газови потоци в газов концентриращ реабсорбер. Състои сеглавно от водород, въглероден монооксид, въглероден диоксид, азот, сероводород и въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C3]	Н К	270-776-5	68477-93-0	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-131-00-0	Газове (нефтени), Рафинерен газ, изключен водороден абсорбер	Н К	270-779-1	68477-96-3	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	[Съставна комбинация, получена при абсорбция на водород от ботат на водород поток. Състои се главно от водород, въглероден монооксид, азот и метан с малки количества C2 въглеводороди]							
649-132-00-6	Газове (нефтени), с високо съдържание на водород, Рафинерен газ [Съставна комбинация от отделен газ чрез охлаждане на въглеводородни газове. Състои сеглавно от водород, незначителни количества въглероден монооксид, азот, метан с C2 въглеводороди]	Н К	270-780-7	68477-97-4	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-133-00-1	Газове (нефтени), Рафинерен газ от хидротретирано отпадъчно рециклирано масло, богато на водород и азот. [Съставна комбинация, получена от рециклирано, хидротретирано. Състои сеглавно от водород и азот и различни малки количества въглероден монооксид, въглероден диоксид, въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1-C5]	Н К	270-781-2	68477-98-5	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-134-00-7	Газове (нефтени), Рафинерен газ, богат на водород [Съставна комбинация, получена от газ рециркулиращ реактор. Състои се, главно от водород и малки количества въглероден монооксид, въглероден диоксид, азот, сероводород и наситени алифатни въглеводороди с	Н К	270-783-3	68478-00-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
	дължина на въглеродната верига диапазона C1-C5]							
649-135-00-2	Газове (нефтени), Рафинерен газ, богат на водород, получен в дообработващ реформер [Съставна комбинация, получена при процеси в дообработващ реформинг. Състои се главно от водород и малки количества въглероден монооксид и алифатни въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1-5]	Н К	270-784-9	68478-01-3	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-136-00-8	Газове (нефтени), Рафинерен газ, получен чрез реформинг хидрообработване [Съставна комбинация, получена чрез реформинг хидрообработващи процеси. Състои се главно от водород, метан, етан и малки количества сероводород, алифатни въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона на C3-C5]	Н К	270-785-4	68478-02-4	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-137-00-3	Газове (нефтени), Рафинерен газ, богат на водород – метан, получен чрез реформинг хидрообработка [Съставна комбинация, получена чрез процеси на реформинг хидрообработка. Състои се	Н К	270-787-5	68478-03-5	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	главно от водород и метан с малки количества въглероден монооксид, въглероден диоксид, азот и наситени алифатни въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C2-C5]							
649-138-00-9	Газове (нефтени), Рафинерен газ, богат на водород, получен чрез реформер за хидрообработка [Съставна комбинация, получена чрез процеси на реформинг хидрообработка. Състои се главно от водород с малки количества въглероден монооксид и алифатни въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1-C5]	Н К	270-788-0	68478-04-6	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-139-00-4	Газове (нефтени), Рафинерен газ, получен чрез термичен крекинг дестилация [Съставна комбинация, получена чрез дестилация на продукти, при термичен крекинг процес. Съдържа главно водород, сероводород, въглероден монооксид, въглероден диоксид и въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1-C6]	Н К	270-789-6	68478-05-7	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-140-00-X	Остатъчен нефтен газ, Рафинерен газ, получен чрез абсорбер за каталитичен крекинг рефракция [Съставна комбинация от	Н К	270-805-1	68478-25-1	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	въгледороди от рефракционирането на продукти при каталитичен крекинг метод. Състои се главно от водород и въгледороди с брой на въглеродните атоми от в диапазона C1 - C3]							
649-141-00-5	Остагъчен нефтен газ, Рафинерен газ, получен чрез сепаратор за каталитичен реформинг на нефт [Съставна комбинация от въгледороди, получена чрез каталитичен реформинг на първично дестилиран нефт. Състои се главно от водород и въгледороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C6]	Н К	270-807-2	68478-27-3	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-142-00-0	Остагъчен нефтен газ, Рафинерен газ, получен чрез стабилизатор за каталитичен реформинг на нефт [Съставна комбинация от въгледороди, получена чрез стабилизиране на нефт от каталитичен реформинг. Състои се от водород и въгледороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C6]	Н К	270-808-8	68478-28-4	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-143-00-6	Остагъчен нефтен газ, Рафинерен газ, получен от крекиран дестилат чрез хидрообработващ сепаратор [Съставна комбинация, от въгледороди, получена при обработка на крекирани дестилати с водород в присъствие на катализатор. Състои се от водород и наситени алифатни	Н К	270-809-3	68478-29-5	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	въглеводородиглавно с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C5]							
649-144-00-1	Остатъчен нефтен газ, Рафинерен газ, от хидродесулфуриран първично дестилиран нефт сепаратор [Съставна комбинация от въглеводороди, получена чрез хидродесулфуриране на първично дестилиран нефт. Състои се от водород и наситени алифатни въглеводороди с дължина на въглеродната верига в диапазона C1 - C6]	Н К	270-810-9	68478-30-8	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-145-00-7	Газове (нефтени), Рафинерен газ от каталитичен реформинг на стабилизирен нефт, горна фракция [Съставна комбинация от въглеводороди, получена при каталитичен реформинг на първично дестилиран нефт, следван от фракциониране на целия остатък. Състои се главно от водород, метан, етан и пропан]	Н К	270-999-8	68513-14-4	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-146-00-2	Газове (нефтени), Рафинерен газ чрез преобразувател на ефлюента при високо налягане [Съставна комбинация, получена чрез изпаряване при високо налягане на потока от реформинг реактор. Състои се главно от водород с различни малки количества метан, етан и пропан]	Н К	271-003-4	68513-18-8	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
649-147-00-8	Газове (нефтени), Рафинерен газ, реформиран ефлюент при ниско ниско налягане [Съставна комбинация, получена чрез дестилация при ниско налягане на ефлюент от реформинг реактор. Състои се главно от водород с различни малки количества метан, етан и пропан]	Н К	271-005-5	68513-19-9	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-148-00-3	Газове (нефтени), Рафинерен газ, от рафинирани масла от маслени рафинерии, [Съставна комбинация, отделена чрез дестилация на газов поток, съдържащ водород, въглероден монооксид, въглероден диоксид и въглеродороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C6, чрез крекиране на етан и пропан. Състои се главно от въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C2, водород, азот и въглероден монооксид]	Н К	271-258-1	68527-15-1	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-149-00-9	Газове (нефтени), Рафинерен газ от бензенова инсталация чрез водородна обработка в депентанатор [Съставна комбинация, получена чрез обработване на продукта от бензенова	Н К	271-623-5	68602-82-4	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	инсталация с водород в присъствие на катализатор, последвано от депентанизиране. Състои съгласно от водород, етан и пропан с малки количества азот, въглероден монооксид, въглероден диоксид и въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C6. Може да съдържа следи от бензен]							
649-150-00-4	Газове (нефтени), Рафинерен газ, втечнена горна фракция чрез каталитичен крекинг фракционер, при изключен вторичен абсорбер [Съставна комбинация, получена чрез фракциониране на горната фракция на продукти от каталитичен крекинг във втечняващ каталитичен крекер. Състои се от водород, азот и въглеводороди с брой на въглеродните атоми главно в диапазона C1 - C3]	Н К	271-625-6	68602-84-6	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-151-00-X	Нефтени продукти, рафинирани газове; Рафинерен газ [Съставна комбинация, съдържаща главно водород с малки количества метан, етан и пропан]	Н К	271-750-6	68607-11-4	Car. Cat. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-152-00-5	Газове (нефтени), сепаратор за хидрокрекиране при ниско налягане, Рафинерен газ [Съставна комбинация, получена чрез разделянето на течност - пара посредством реактор за хидрокрекиране на ефлюент. Състои се главно	Н К	272-182-1	68783-06-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	от водород и наситени въглеводороди с брой на въглеродните атоми от C1 - C3]							
649-153-00-0	Газове (нефтени), Рафинерен газ [Съставна комбинация, получена от различни процеси на нефтообработка. Състои се от водород и въглеводороди с брой на въглеродните атоми от C1 - C3]	Н К	272-338-9	68814-67-5	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-154-00-6	Газове (нефтени), платформинг-продукти от крекиране чрез сепаратор изключен; Рафинерен газ [Съставна комбинация, получена от химичен реформинг на нефтени в ароматни съединения. Състои се от водород и наситени алифатни въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C2 - C4]	Н К	272-343-6	68814-90-4	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-155-00-1	Газове (нефтени), Рафинерен газ, хидротретиран керосин, чрез депентанатор при изключен стабилизатор [Съставна комбинация, получена от хидрообработен керосин, чрез стабилизиран депентанатор. Състои се главно от водород, метан, етан и пропан с малки количества азот, сероводород, въглероден монооксид и въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C4 - C5]	Н К	272-775-5	68911-58-0	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-156-00-7	Газове (нефтени),	Н К	272-776-0	68911-59-1	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	Рафинерен газ, хидротретриран кисел керосин [Съставна комбинация, получена от инсталация за обработка на кисел керосин с водород в присъствието на катализатор. Състои се главно от водород и метан, с малки количества азот, въглероден монооксид и въглеродороди с брой на въглеродните атоми от C2 - C5]					S: 53-45		
649-157-00-2	Газове (нефтени), Рафинерен газ, получен от дестилат чрез десулфориран обединител, при изключен стрипер; [Съставна комбинация, отделена от течен продукт от обединен десулфориран процес. Състои се от сероводород, метан, етан и пропан]	Н К	272-873-8	68919-01-7	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-158-00-8	Газове (нефтени), Рафинерен газ, втечен чрез каталитичен крекинг фракциониране [Съставна комбинация, получена от фракциониране на продукт от горна фракция при течен каталитичен крекинг. Състои се от водород, сероводород, азот и въглеродороди с брой на въглеродните атоми диапазона C1 - C5]	Н К	272-874-3	68919-02-8	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-159-00-3	Газове (нефтени), Рафинерен газ, от поточен каталитичен крекер, при изключен абсорбер [Съставна комбинация, получена чрез пречистване на горна фракция на газ, при	Н К	272-875-9	68919-03-9	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
	поточен каталитичен крекинг. Състои се от водород, азот, метан, етан и пропан]							
649-160-00-9	Газове (нефтени), Рафинерен газ, тежък дестилат, хидрообработване и десулфуриране при изключен стрипер [Съставна комбинация, отделена от течен продукт на тежък дестилат, хидратретиран при процес на десулфуриране. Състои се от водород, сероводород и наситени алифатни въглеводороди с брой на въглеродните атоми диапазона C1 - C5]	Н К	272-876-4	68919-04-0	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-161-00-4	Газове (нефтени), Рафинерен газ, лек, фракциониран, при изключен платформен стабилизатор [Съставна комбинация, получена чрез крайно фракциониране на леки съставни части в платинен реактор на платформена инсталация. Състои се от водород, метан, етан и пропан]	Н К	272-880-6	68919-07-3	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-162-00-X	Газове (нефтени), Рафинерен газ, отпаден, от сурова дестилация в кули; [Съставна комбинация, получена от първата кула на нефтена дестилация. Състои се от азот и наситени алифатни въглеводороди с брой на въглеродните атоми от C1- C5]	Н К	272-881-1	68919-08-4	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
649-163-00-5	Газове (нефтени), Рафинерен газ, чрез изключен катранен стрипер [Съставна комбинация, получена при фракциониране на сурово нефтено масло. Състои се от водород и въглеродни с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C4]	Н К	272-884-8	68919-11-9	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-164-00-0	Газове (нефтени), Рафинерен газ, получен от очистител при изключен стрипер [Комбинация от водород и метан, получена при фракциониране на продукти от очистваща инсталация]	Н К	272-885-3	68919-12-0	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-165-00-6	Остатъчен нефтен газ, Рафинерен газ, получен от каталитичен хидродесулфуриран нефт сепаратор [Съставна комбинация от въглеродни, получена при хидродесулфуриране на нефт. Състои се от водород, метан, етан и пропан]	Н К	273-173-5	68952-79-4	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-166-00-1	Остатъчен нефтен газ от първично дестилиран нефт [Съставна комбинация, получена при хидродесулфуриране на първично дестилиран нефт. Съдържа въглеродни с брой на въглеродните атоми в диапазона C1-C5.]	Н К	273-174-0	68952-80-7	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-167-00-7	Остатъчен нефтен газ, Рафинерен газ, получен чрез нефт хидродесулфуризатор [Съставна комбинация,	Н К	273-269-7	68955-33-9	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	получена при хидродесулфуриране на първично дестилиран нефт. Състои се от водород и въглеродороди с брой на въглеродните атоми от C1 - C5]							
649-168-00-2	Газове (нефтени), Рафинерен газ, чрез поточен каталитичен крекер и десулфуратор на горна фракция, при изключен порест абсорбер [Съставна комбинация, получена чрез фракциониране на продукти от поточен крекинг и десулфуриране на газьол. Състои се от водород и въглеродороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C4]	Н К	273-563-5	68989-88-8	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-169-00-8	Газове (нефтени), Рафинерен газ, получен от сурова дестилация и каталитичен крекинг [Съставна комбинация, получена от процеси на сурова дестилация и каталитичен крекинг. Състои се от водород, сероводород, азот, въглероден монооксид, парафинсъдържащи и олефинсъдържащи въглеродороди с брой на въглеродните атоми главно в диапазона C1 - C6]	Н К	295-397-2	92045-15-3	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-170-00-3	Газове (нефтени), Рафинерен газ, получен чрез хидродесулфуриране на	Н К	295-398-8	92045-16-4	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
	газъл [Съставна комбинация, получена чрез отделяне на течната фаза от ефлюента при реакция на хидриране. Състои се от сероводород, водород и алифатни въглеводороди с брой на въглеродните атоми от C1 - C3]							
649-171-00-9	Газове (нефтени), Рафинерен газ, получен чрез хидродесулфурирано почистване на газъл [Съставна комбинация от газове, получена чрез реформинг и почистване в хидрогенерирани реактори. Състои се от водород и алифатни въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C4]	Н К	295-399-3	92045-17-5	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-172-00-4	Gases (petroleum), hydrogenator effluent flash drum off Газове (нефтени), Рафинерен газ, получен чрез хидрогенератор за дестилация на ефлюенти при изключен барабан [Съставна комбинация от газове, получени от ефлюенти след след реакция на хидрогениране. Състои се от водород и алифатни въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C6]	Н К	295-400-7	92045-18-6	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-173-00-X	Газове (нефтени), Рафинерен газ, остатък от парокрекиран при високо налягане нефт [Съставна комбинация, получена от некондензирани компоненти след	Н К	295-401-2	92045-19-7	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
	парокрекинг процес, както и от остатъчни газове при подготовката на следващи продукти. Състои се главно от водород и парафинсъдържащи и олифинсъдържащи въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C5, както и примесен със земен газ]							
649-174-00-5	Газове (нефтени), Рафинерен газ, остатък чрез изключена инсталация за вискозитет [Съставна комбинация, получена при понижен вискозитет на остатъци в пещи. Състои се главно от сероводород, парафинсъдържащи и олефинсъдържащи въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C5]	Н К	295-402-8	92045-20-0	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-177-00-1	Газове (нефтени), Рафинерен газ, съдържа C3-C4-въглеводороди [Съставна комбинация, получена от дестилация на продукти чрез крекинг на суров нефт. Състои се от въглеводороди с брой на въглеродните атоми от C3 - C4, главно пропан и пропилен и с точка на кипене в диапазона [от - 51°C до -1°C]]	Н К	268-629-5	68131-75-9	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-178-00-7	Остатъчен нефтен газ, Рафинерен газ, получен от каталитично крекиран дестилат и каталитично крекиран нефт чрез	Н К	269-617-2	68307-98-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	фракционен абсорбер [Съставна комбинация главно от въглеродороди, получена при дестилация на продукти от каталитично крекирани дестилати и каталитично крекиран нефт. Състои се от въглеродороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C4]							
649-179-00-2	Остатъчен нефтен газ, Рафинерен газ, получен чрез фракционен стабилизатор за каталитично полимеризиран нефт [Съставна комбинация от въглеродороди, получена от продукти при стабилизирано фракциониране при полимеризация на нефт. Състои се от въглеродороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C4]	Н К	269-618-8	68307-99-3	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-180-00-8	Остатъчен нефтен газ, каталитичен реформинг на нефт фракционен стабилизатор [, несъдържащ сероводород; Остатъчен нефтен газ, Рафинерен газ, получен чрез фракционен стабилизатор за каталитичен реформинг на нефт [Съставна комбинация от въглеродороди, получена от фракционна стабилизация и каталитичен реформинг на нефт след отстраняване на сероводород посредством обработване с амини. Състои се от въглеродороди с брой на въглеродните атоми главно в диапазона C1 - C4]	Н К	269-619-3	68308-00-9	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-181-00-3	Остатъчен нефтен газ, крекиран дестилат	Н К	269-620-9	68308-01-0	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46		



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
	хидротретиран стрипер. Остатъчен нефтен газ, Рафинерен газ, крекиран дестилат чрез хидрообработващ стрипер [Съставна комбинация от въглеродороди, получена при обработка чрез термичен крекинг на дестилати с водород в присъствието на катализатор. Състои се главно от наситени въглеродороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C6]					S: 53-45		
649-182-00-9	Остатъчен нефтен газ, Нефтен газ от първично дестилиран нефт чрез хидродесулфуратор, без сероводород [Съставна комбинация от въглеродороди, получена при каталитично хидродесулфуриране на първично дестилиран нефт и обработка с амини за отстраняване на сероводород. Състои се от въглеродороди с брой на въглеродните атоми главно в диапазона C1 - C4]	Н К	269-630-3	68308-10-1	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-183-00-4	Остатъчен нефтен газ, Рафинерен газ, получен от инсталация за повторно преработване на газ	Н К	269-623-5	68308-03-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-184-00- X	[Съставна комбинация от въглеродороди, получена от дестилацията на продукти на различни въглеродородни отпадъци. Състои се главно от въглеродороди с брой на въглеродните атоми от C1 - C5]	Н К	269-624-0	68308-04-3	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
649-185-00-5	Остатъчен нефтен газ, Нефтен газ от газпречистващ деетанатор [Съставна комбинация от въглеродороди, получена при дестилация на продукти от различни въглеродородни потоци. Състои се главно от въглеродороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C4]	Н К	269-625-6	68308-05-4	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-186-00-0	Остатъчен нефтен газ, Нефтен газ от хидродесулфуриран дестилат чрез хидродесулфуриращ нефтен фракционер, не съдържа киселини [Съставна комбинация от въглеродороди, чрез фракциониране на продукти от хидродесулфуриран нефт и въглеродородни дестилати, обработени за отстраняване на киселинни примеси. Състои се главно от въглеродороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C5]	Н К	269-626-1	68308-06-5	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-187-00-6	Остатъчен нефтен газ, Нефтен газ чрез хидродесулфуриращ вакуум газ стрипер, не съдържа сероводород [Съставна комбинация от въглеродороди, получени от стрипинг стабилизация на каталитично хидродесулфуриран вакуум газол и от обработен с амини за отстраняване на сероводород. Състои се главно от въглеродороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 -C6]	Н К	269-627-7	68308-07-6	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
649-188-00-1	Остагъчен нефтен газ, Нефтен газ от лек първично дестилиран нефт чрез стабилизатор, нефтен газ без сероводород [Съставна комбинация от въглеводороди, получени от стабилизиран фракциониран ле лек първично дестилиран нефт и обработен с амини за отделяне на сероводород Състои се главно от въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C5]	Н К	269-629-8	68308-09-8	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-189-00-7	Остагъчен нефтен газ, Нефтен газ чрез пропан-пропилен алкилиращ Деетанатор [Съставна комбинация от въглеводороди, получена от дестилация на реакционни продукти на пропан с пропилен. Състои се главно от въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C4]	Н К	269-631-9	68308-11-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-190-00-2	Остагъчен нефтен газ, Нефтен газ чрез вакуум газьол хидродесулфуратор, не съдържа сероводород [Съставна комбинация от въглеводороди, получени чрез каталитично хидродесулфуриране на вакуум газьол, обработен с амини за отстраняване на сероводород. Състои се главно от въглеводороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C1 - C6]	Н К	269-632-4	68308-12-3	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-191-00-8	Газове (нефтени), Нефтен газ от каталитично крекиран нефт, горна фракция [Съставна комбинация от	Н К	270-071-2	68409-99-4	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратa
	въглеродороди, получена чрез дестилация на продукти посредством каталитично крекингови процеси. Състои се от въглеродороди с брой на въглеродните атоми в диапазона C3 - C5 и точка на кипене [- 48° – 32°C]]							
649-193-00-9	Алкани, C1-C2 Нефтен газ	Н К	270-651-5	68475-57-0	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-194-00-4	Алкани, C2-C3 Нефтен газ	Н К	270-652-0	68475-58-1	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-195-00-X	Алкани, C3-C4 Нефтен газ	Н К	270-653-6	68475-59-2	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-196-00-5	Алкани, C4-C5 Нефтен газ	Н К	270-654-1	68475-60-5	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-197-00-0	Горивни газове Нефтен газ [Комбинация от леки газове. Състои сеглавноот водород и/или въглеродороди с ниска молекулна маса]	Н К	270-667-2	68476-26-6	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-198-00-6	Горивни газове, Нефтен газ [Съставна комбинация от леки газове, получени чрез дестилация на суров нефт и чрез каталитичен реформинг. Състои се от водород	Н К	270-670-9	68476-29-9	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	въглеводороди с брой на въглеродните атоми предимно в диапазона C1 - C4 и точка на кипене (от - 217° до - 12°C)]							
649-199-00-1	Въглеводороди, Нефтен газ от C3-C4 въглеводороди	Н К	270-681-9	68476-40-4	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-200-00-5	Въглеводороди, Нефтен газ C4-C5 въглеводороди	Н К	270-682-4	68476-42-6	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-201-00-0	Въглеводороди, Нефтен газ от C2-C4 въглеводороди, богати на C3 въглеводороди	Н К	270-689-2	68476-49-3	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-202-00-6	Газове (нефтени), Нефтен газ, втечен [Съставна комбинация от въглеводороди, получена при дестилация на суров нефт. Състои се от въглеводороди с брой на въглеродните атоми, главно в диапазона C3 - C7 и точка на кипене (от - 40 до 80°C)]	НКС	270-704-2	68476-85-7	F+; R12 Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	F+; T R: 12-45-46 S: 53-45		
649-203-00-1	Petroleum gases, liquefied, sweetened Втечени Газове (нефтени), Нефтен газ, пречистен от сероводород [Съставна комбинация от въглеводороди, получена чрез въздействие посредством процеси върху втечнена газова смес с цел конвертиране на меркаптани или почистване от кисели примеси, състои се от въглеводороди с брой на въглеродните атоми в областта C3 - C7 и точка на	НКС	270-705-8	68476-86-8	F+; R12 Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	F+; T R: 12-45-46 S: 45-53		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	кипене[ от -40 до 80°C ]							
649-204-00-7	Газове (нефтени), Нефтен газ от C3-C4 въглеродороди, богат на изобутан [Съставна комбинация от въглеродороди, от дестилация на наситени и ненаситени въглеродороди, обикновено с брой на въглеродните атоми от C3 - C6, главно от бутан и изобутан]	Н К	270-724-1	68477-33-8	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-205-00-2	Нефтени дестилати, Нефтен газ от C3-C6 въглеродороди, богат на пиперилен. [Съставна комбинация от въглеродороди, получена от дестилацията на наситени и ненаситени алифатни въглеродороди главно с брой на въглеродните атоми C3 - C6. Състои се от наситени и ненаситени въглеродороди, с брой на въглеродните атоми C3 - C6, главно пиперилени]	Н К	270-726-2	68477-35-0	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-206-00-8	Газове [нефтени], Нефтен газ, получен чрез бутанов разделител на челните фракции [Съставна комбинация от въглеродороди, получена от дестилация на бутанов поток. Състои се от алифатни въглеродороди, с брой на въглеродните атоми C3 - C4]]	Н К	270-750-3	68477-69-0	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
649-207-00-3	Газове [нефтени], Нефтен газ от C2-въгледороди [Съставна комбинация от въгледороди, получена от дестилация на продукти при каталитично фракциониране. Съдържа главно етан, етилен, пропан и пропилен]	Н К	270-751-9	68477-70-3	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-208-00-9	Газове [нефтени], Нефтен газ от каталитично крекиран газол посредством долен депропанатор, богат на C4, без киселини [Съставна комбинация от въгледороди, получени от фракциониране на каталитично крекиран газол във въгледороден поток и обработена за отстраняване на сероводород и други киселосъдържащи компоненти. Състои се от въгледороди, с брой на въглеродните атоми C3 - C5, предимно C4]	Н К	270-752-4	68477-71-4	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-209-00-4		Н К	270-754-5	68477-72-5	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-210-00-X	Остатъчен нефтен газ, Нефтен газ от изомеризирана нефт чрез фракционен стабилизатор [Съставна комбинация от въгледороди, получена от фракционирани стабилизирани продукти от изомеризирана нефт. Състои се от въгледороди, с брой на	Н К	269-628-2	68308-08-7	Канц. кат. 1; R45 Мут. кат. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	въглеродните атоми C1 -C4]							
649-224-00-6	Бензин, дизелово гориво, газьол-неспецифичен [Съставна комбинация от въглеродороди, получени от дестилация на сурово масло. Състои се от въглеродороди с брой на въглеродните атоми C9 – C20 и с точка на кипене в областта от 163 до 357°C]	H N	269-822-7	68334-30-5	Канц. кат. 3; R40	Xn R: 40 S: (2-)36/37'		

### Приложение 1В

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетиране	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
'005-009-00-3	Тетраметиламониев бутилтрифенилборат		418-080-4	120307-06-4	R 43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-56-61		
005-010-00-9	N,N-диметиланилинтетраakis (пентафлуорофенил)борат		422-050-6	118612-00-3	Канц. кат.3; R40 Xn; R22 Xi; R38-41	Xn R: 22-38-40-41 S: (2-)22-26-36/37/39		
005-012-00-X	диетил{4-[1,5,5-трис(4-диетиламинофенил)пента-2,4-диенилиден]циклоhexa-2,5-диенилиден}амониев бутилтрифенилборат		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	Натриев пропоксикарбазон		—	—	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	натриев((п-бутил)х(етил)у-1,5-		418-720-2	—	F; R11 R14/15	F; C		



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	дихидро)алуминат) x = 0,5 y=1,5				R17 Xn; R20 C; R35	R: 11-14/15-17-20-35 S: (1/2-)6-16-26-30-36/ 37/39-43-45		
014-026-00-5	дихлоро-(3-(3-хлоро-4-флуоро-фенил)пропил)метилсилан		407-180-3	—	C; R35	C R: 35 S: (1/2-)26-36/37/39-45		
014-027-00-0	хлоро(3-(3-хлоро-4-флуорофенил)пропил)диметилсилан		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-оксопроп-2-енил)-1-окси-пропил]диметоксисилокси-ω-[3(1-оксопроп-2-енил)-1-оксипропил]диметоксисилилоли (диметилсилоксан)		415-290-8	—	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
014-029-00-1	O,O'-(етенилметилсилилен) ди[(4-метилпентан-2-он) оксим]		421-870-1	—	Репр. кат.3; R62 Xn; R22-48/22	Xn R: 22-48/22-62 S: (2-)36/37		
014-030-00-7	[(диметилсилинен)бис ((1,2,3,3а,7а-η)-1Н-инден-1-илиден)диметил]хафний		422-060-0	137390-08-0	T+; R28	T+ R: 28 S: (1/2-)6-22-28-36/37-45		
014-031-00-2	бис(1-метилетил)-диметоксисилан		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		
014-032-00-8	дициклопенти диметоксисилан		404-370-8	126990-35-0	Xi; R38-41 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-50/53 S: (2-)26-37/39-60-61		
015-180-00-6	[R-(R*,S*)]-[[2-метил-1-(1-оксопропокси)прокси]- (4-фенилбутил) фосфинил] оцетна киселина, (-)-цинхонидин (1:1) сол		415-820-8	137590-32-0	Xi; R41 R43 R 52-53	Xi R: 41-43-52/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
015-181-00-1	фосфин		232-260-8	7803-51-2	F+; R12 R17	F+; T+; N		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					T+; R26 C; R34 N; R50	R: 12-17-26-34-50 S: (1/2-)28-36/37-45-61-63		
015-184-00-8	Соли на глифозат с изключение на посочените в това приложение		—	—	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
015-186-00-9	хлорпирифосметил		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	Смес от: тетранатриев((2-хидроксиетил)имино)бис(метилен) бисфосфонат, N-оксид, тринатриев ((тетраhydro-2-хидрокси-4H-1,4,2-оксазафосфорин-4-ил)-метил)фосфонат, N-оксид, P-оксид		417-540-1	—	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
015-189-00-5	фенил бис(2,4,6-триметилбензоил)фосфин		423-340-5	162881-26-7	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)22-24-37-61		
016-086-00-8	тетранатриев 10-амино-6,13-дихлоро-3-(3-(4-(2,5-дисулфонатоанилино)-6-флуоро-1,3,5-триазин-2-иламино)проп-3-иламино)-5,12-диокси-7,14-диазапентасцен-4,11-дисулфонат		402-590-9	109125-56-6	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
016-087-00-3	Смес от: тиобис(4,1-фенилен)-S, S', S'-тетрафенилдисулфониев бисхексафлуорофосфат дифенил(4-фенилтиофенил)сулфониев		403-490-8	74227-35-3	Xi; R36 R43 N; R50-53	Xi; N R: 36-43-50/53 S: (2-)24-26-37-60-61		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	хексафлуорофосфат пропиленкарбонат							
016-088-00-9	4-(бис(4-(диетиламино)фенил)-метил)бензен-1,2-диметансулфонова киселина		407-280-7	71297-11-5	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
016-089-00-4	Смес от естери на 5,5',6,6',7,7'-хексахидрокси-3,3',3'-тетраметил-1,1'-спиробииндан и 2-диазо-1,2-дихидро-1-оксо-5-сулфонафтаден		413-840-1	—	E; R2 F; R11 R53	E R: 2-11-53 S: (2-)33-35-40-61		
016-090-00-X	4-метил-N-(метилсулфонил)бензенсулфонамид		415-040-8	14653-91-9	Xn; R22 Xi; R37-41	Xn R: 22-37-41 S: (2-)26-39		
016-091-00-5	C12-14-трет-алкиламониев 1-амино-9,10-дихидро-9,10-диоксо-4-(2,4,6-триметиланилино)-антрацен-2-сулфонат		414-110-5	—	Xi; R41 N; R50-53	Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
016-093-00-6	Смес от 2:1: 4-(7-хидрокси-2,4,4-триметил-2-хромамил)резорцинол сорцинол-4-ил-трис(6-диазо-5,6-дихидро-5-оксонафтаден-1-сулфонат) 4-(7-хидрокси-2,4,4-триметил-2-хромамил)резорцинолбис(6-диазо-5,6-дихидро-5-оксонафтаден-1-сулфонат)		414-770-4	140698-96-0	F; R11 Канц. кат.3; R40	F; Xn R: 11-40 S: (2-)7-36/37		
016-095-00-7	Смес от: реакционен продукт на 4,4'-метиленбис[2-(4-хидроксибензил)-3,6-диметил-фенол] и 6-диазо-5,6-дихидро-5-оксонафтаденсулфонат (1:2) реакционен продукт на 4,4'-метиленбис[2-(4-хидроксибензил)-3,6-диметилфенол] и 6-диазо-5,6-дихидро-5-оксо-нафтаденсулфонат (1:3)		417-980-4	—	F; R11 Канц. кат.3; R40	F; Xn R: 11-40 S: (2-)7-36/37		
016-096-00-2	тифенсулфурон-метил		—	79277-27-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
017-015-00-3	(2-(аминометил)фенил)ацетилахлоридхидрохлорид		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	метилтрифенилфосфониев хлорид		418-400-2	1031-15-8	Xn; R21/22 Xi; R38-41 N; R51-	Xn; N R: 21/22-38-41-		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					53	51/53 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
017-017-00-4	(Z)-13-докозенил-N,N-бис(2-хидроксиетил)-N-метиламониев хлорид		426-210-6	120086-58-0	C; R34 N; R50-53	C; N R: 34-50/53 S: (2-)26-36/37/39-45-60-61		
017-018-00-X	N,N,N-триметил-2,3-бис(стеароил окси)пропиламониев хлорид		405-660-7	—	N;R51-53	N R: 51/53 S: 61		
017-019-00-5	(R)-1,2,3,4-тетрахидро-6,7-диметокси-1-вератрилизохинолин хидрохлорид		415-110-8	54417-53-7	Xn; R22 R52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		
017-020-00-0	етилпропоксиалуминиев хлорид		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	бененамидопропилдиметил (дихидроксипропил)амониев хлорид		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	Смес от: ди калциев (бис(2-хидрокси-5-тетра-пропенилфенил-метил)метиламин)дихидроксид три-калциев (трис(2-хидрокси-5-тетра-пропенилфенилметил)-метиламин)трихидроксид поли[калциев ((2-хидрокси-5-тетра-пропенил-фенилметил)-метиламин)хидроксид]		420-470-4	—	Xi; R36/38 R43	Xi R: 36/38-43 S: (2-)24-26-37		
024-019-00-9	Основен компонент: ацетоцетен оцетен анирид / 3-амино-1-хидроксибензен (ATAN-MAP): тринатриев {6-[1-(2 или 3 или 4)-амино (4 или 5 или 6)-хидроксифенилазо]-5'-(фенил-сулфамоил)-3-сулфонатофтаден-2-азобензен-1,2'-диолато}- {6''-[1-(фенилкарбамоил)етилазо]-5'''-(фенилсулфамоил)-3'''-сулфонатофтаден-2''-азобензен-1'',2'''-диолато}хромат (III)		419-230-1	—	R43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	продукт 1: ацетоцетна киселина анилд /ацетоцетна киселина анилд (ATAN-ATAN): тринатриев бис{6-[1-(фенилкарбамоил)етилазо]-5'-(фенилсулфонил)-3-сулфонато-нафтален-2-азобензен-1,2'-диолато}хромат (III) продукт 2: 3-амино-1-хидроксибензен / 3-амино-1-хидроксибензен (MAP-MAP): тринатриев бис{6-[(2 или 3 или 4)-амино-(4 или 5 или 6)-хидроксифенилазо]-5'-(фенилсулфамил)-3-сулфонато-нафтален-2-азобензен-1,2'-диолато}хромат (III)							
024-020-00-4	тринатриев бис[(3'-нитро-5'-сулфонато(6-амино-2-[4-(2-хидрокси-1-нафтилазо)фенилсулфониламино]пиримидин-5-азо)-бензен-2',4-диолато)]хромат(III)		418-220-4	—	R43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		
025-005-00-5	Смес от: тринатриев [29Н, 31Н-фталоцианин-С,С,С-трисулфонато (6-)-N29,N30,N31,N32] манганат (3-) тетранатриев [29Н,31Н- фталоцианин-С,С,С,С-тетрасулфонато (6-)-N29,N30,N31,N32], манганат (3-) пентанатриев [29Н,31Н-фталоцианин- С,С,С,С,С-пентасулфонато(6-)- N29,N30,N31,N32],манганат(3-)		417-660-4	—	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
029-012-00-4	натриев ((N-(3-триметиламониопропил)сулфамоил)метилсулфонатофталоцианинато)мед(II)		407-340-2	124719-24-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
029-013-00-X	тринатриев(2-(α-(3-(4-хлоро-6-(2-(2-(винилсулфонил)етокси)етиламино)-1,3,5-триазин-2-иламино)-2-оксидо-5-сулфонатофенилазо)-бензилиденхидразино)-4-сулфонатобензоато)мед(II)		407-580-8	130201-51-3	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)24-37-61		
030-011-00-6	трицинков бис(ортофосфат)		231-944-3	7779-90-0	N; R50-53	N		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
						R: 50/53 S: 60-61		
030-013-00-7	цинков оксид		215-222-5	1314-13-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
034-003-00-3	натриев селенит		233-267-9	10102-18-8	T+; R28 T; R23 R31 R43  N; R51-53	T+; N R: 23-28-31-43-51/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61		
053-005-00-5	(4-(1-метилетил)фенил)-(4-метилфенил)йодониев тетра-кис(пентафлуорофенил)борат (1-)		422-960-3	178233-72-2	Xn; R21/22-48/22 N; R50-53	Xn; N R: 21/22-48/22-50/53 S: (2-)22-36/37-60-61		
601-056-00-4	Смес от изомери на: метилдифенилметан диметилдифенилметан		405-470-4	—	Xi; R38 N; R50-53	Xi; N R: 38-50/53 S: (2-)37-60-61		
601-057-00-X	N-додецил-[3-(4-диметиламино)-бензами до]-пропил]диметиламониев тозилат		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	ди-L-пара-ментен		417-870-6	—	Xi; R38 R43 N; R50-53	Xi; N R: 38-43-50/53 S: (2-)23-24-37-60-61		
601-059-00-0	метил 2-бензилден-3-оксобутират		420-940-9	15768-07-7	Xi; R36/38 N; R51-53	Xi; N R: 36/38-51/53  S: (2-)26-37/39-61		
601-060-00-6	1,2-бис[4-флуоро-6-{4-сулфо-5-(2-(4-сулфонафтален-3-илазо)-1-хидрокси-3,6-дисулфо-8-аминонафтален-7-илазо)фениламино}-1,3,5-триазин-2иламино]етан; x-натриев, y-калиева сол x = 7,755 y = 0,245		417-610-1	155522-09-1	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
601-061-00-1	(етил-1,2-етандиил)[-2-[[[2-хидроксиетил]метиламино]ацетил]пропил]ω-(нонилфенокси)поли]окси(метил-1,2-етандиил)		418-960-8	—	C; R34 R43 N; R51-53	C; N R: 34-43-51/53 S: (1/2-)26-28-		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
						36/37/39-45-61		
601-062-00-7	Смес от: разклонен триаконтан, разклонен дотриасонтан, разклонен тетратриаконтан, разклонен хексатриаконтан		417-030-9	151006-59-6	R 53	R: 53 S: 61		
601-063-00-2	Смес от разклонени изомери на тетракозан		417-060-2	151006-61-0	Xn; R20 R53	Xn R: 20-53 S: (2-)61		
601-064-00-8	Разклонен хексатриакотан		417-070-7	151006-62-1	R53	R: 53 S: 61		
601-065-00-3	Смес от: (1'- $\alpha$ ,3'- $\alpha$ ,6'- $\alpha$ -2,2,3',7',7'-пентаметилспиро(1,3-диоксан-5,2'-норкаран) (1' $\alpha$ ,3' $\beta$ ,6' $\alpha$ )-2,2,3',7',7'-пентаметилспиро(1,3-диоксан-5,2'-норкаран)		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-(транс-4-хептилциклохексил)-фенил)етан		426-820-2	78531-60-9	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
601-067-00-4	Триетиларсенат		427-700-2	15606-95-8	Канц. кат.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-диацетоксибут-3-ен		421-720-5	18085-02-4	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)		
601-069-00-5	2-етил-1-(2-(1,3-диоксанил)етил)пиридин бромид		422-680-1	—	R52-53	R: 52/53 S: 61		
601-071-00-6	1-диметоксиметил-2-нитробензен		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-бромом-3,5-дифлуоробензен		416-710-2	461-96-1	R10 Xn; R22-48/22 Xi; R38 R43 N; R50-53	Xn; N R: 10-22-38-43-48/22-50/53 S: (2-)24-36/37-60-61		
601-074-00-2	Смес от: 4-(2,2,3-триметилциклопент-3-ен-1-ил)-1-метил-2-оксабицикло[2.2.2]октан 1-(2,2,3-триметилциклопент-3-ен-1-ил)-5-метил-6-оксабицикло[3.2.1]октан		422-040-1	—	Xi; R36/38 N; R51-53	Xi; N R: 36/38-51/53 S: (2-)26-37-61		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	спиро[циклохекс-3-ен-1-ил-[(4,5,6,6а-тетрахидро-3,6',6',6'а-тетраметил)-1,3'(3'аН)-[2Н]циклопента[б]фуран] спиро[циклохекс-3-ен-1-ил-[(4,5,6,6а-тетрахидро-4,6',6',6'а-тетраметил)-1,3'(3'аН)-[2Н]циклопента[б]фуран]							
602-093-00-9	$\alpha, \alpha, \alpha, 4$ -тетрахлоротолуен p-хлоробензотрихлорид	Е	226-009-1	5216-25-1	Канц. кат.2; R45 Репр. кат.3; R62 Т; R48/23 Xn; R21/22 Xi; R37/38	Т R: 45-21/22-37/38-48/23-62 S: 53-45		
602-094-00-4	дифенилетер; октабромо производно		251-087-9	32536-52-0	Репр. кат.2; R61 Репр. кат.3; R62	Т R: 61-62  S: 53-45		
602-096-00-5	Малахитенозелен хидрохлорид [1] Малахитенозелен оксалат [2]		209-322-8 [1] 219-441-7 [2]	569-64-2 [1] 18015-76-4 [2]	Xn; R22 Xi; R41 Репр. кат. 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-бромо-9-(4,4,5,5,5-пентафлуоропентилтио)нонан		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'-тетра-трет-бутилбифенил-2,2'-диол		407-920-5	6390-69-8	R 53	R: 53 S: 61		
603-168-00-9	3-(2-етилхексилокси)пропан-1,2-диол		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	(+/-)-транс-4-(4-флуорофенил)-3-хидроксиметил-N-метилпиперидин		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	Смес от: 2-метил-1-(6-метилбицикло[2.2.1]хепт-5-ен-2-ил)пент-1-ен-3-ол 2-метил-1-(1-метилбицикло[2.2.1]хепт-5-ен-2-ил)-пент-1-ен-3-ол 2-метил-1-(5-метилбицикло[2.2.1]хепт-5-ен-2-ил)пент-1-ен-3-ол		415-990-3	67739-11-1	Xi; R36 N; R51-53	Xi; N R: 36-51/53 S: (2-)26-61		
603-171-00-5	5-тиазолилметанол		414-780-9	38585-74-9	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
603-172-00-0	моно-2-[2-(4-добензо[b,f][1,4]тиазепин-11-ил)пиперазин-1-ил]етоксиетанол азин-1-ил]етоксиетанол транс-бутендиоат		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-диметил-3,5,8-триоксабицикло[5.1.0]октан		421-750-9	57280-22-5	Xi; R36 R43	Xi R: 36-43 S: (2-)26-36/37		
603-174-00-1	4-циклохексил-2-метил-2-бутанол		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-хексилоксиетокси)едиетиленгликолмонохексил етер 3,6-диокса-1-додеканол хексилкарбитол 3,6-диоксадодекан-1-ол		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-бис(2-метоксиетокси)етан ТЕГДМЕ триетиленгликолдиметилетер триглим		203-977-3	112-49-2	R19 Репр. кат.2; R61 Репр. кат.3; R62	T R: 61-19-62 S: 53-45		
603-177-00-8	1-етоксипропан-2-ол 1-етокси-2-пропанолпропиленгликолов моноетилов етер[1] 2-етокси-1-метилетилацетат [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-хексилоксиетанол етиленгликолмонохексилетер п-хексилгликол		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	ергокалциферол Витамин D2		200-014-9	50-14-6	T+; R26 T; R24/25-48/25	T+ R: 24/25-26-48/25 S: (1/2-)28-36/37-45		
603-180-00-4	Колекалциферол Витамин 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	трет-бутилметилетер 2-метокси-2-метилпропан		216-653-1	1634-04-4	F; R11 Xi; R38	F; Xi R: 11-38 S: (2-)9-16-24		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
603-183-00-0	2-[2-(2-бутоксietокси)етокси]етанол триетиленглико лмонобутилeтер ТЕГБЕ бутокситриетиленгликол		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-(хидроксиметил)-2-[[2-хидрокси-3-(изооктадецилокси)про-рокси]метил]-1,3-пропандиол		416-380-1	146925-83-9	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
603-185-00-1	2,4-дихлоро-3-етил-6-нитрофенол		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	транс-(5RS,6SR)-6-амино-2,2-диметил-1,3-диоксепан-5-ол		419-050-3	79944-37-9	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24/25-26-37		
603-187-00-2	2-((4,6-бис(4-(2-(1-метилпиридин-4-ил)винил)фениламино)-1,3,5-триазин-2-ил)(2-хидроксиетил)амино)етанолов дихлорид		419-360-9	163661-77-6	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
603-189-00-3	Съставна смес от: титаниев, 2,2'-оксидетанол, амониев лактат нитрилотрис(2-пропанол) и етиленгликол		405-250-8	—	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
603-191-00-4	2-(4,6-бис(2,4-диметилфенил)-1,3,5-триазин-2-ил)-5-(3-((2-етилхексил)окси)-2-хидроксипропокси)фенол		419-740-4	137658-79-8	R53	R: 53 S: 61		
603-195-00-6	2-[4-(4-метоксифенил)-6-фенил-1,3,5-триазин-2-ил]фенол		430-810-3	154825-62-4	R52-53	R: 52/53 S: 61		
603-196-00-1	2-(7-етил-1H-индол-3-ил)етанол		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-хлорофенил)-4,4-диметил-3-(1,2,4-триазол-1-илметил)пентан-3-ол		403-640-2	107534-96-3	Репр. кат.3; R63 Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53-63 S: (2-)22-36/37-61		
603-199-00-8	етоксазол		—	153233-91-1	N; R50-53	N R: 50/53	C ≥ 0,25%: N; R50/53 0,025% ≤ C < 0,25%: N; R51/53	

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
						S: 60-61	0,0025% ≤ C < 0,025%: R52/53	
604-065-00-1	4,4',4''-(1-метилпропан-1-ил-3-или ден)трис(2-циклохексил-5-метилфенол)		407-460-5	111850-25-0	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
604-066-00-7	Смес от: фенол, 6-(1,1-диметилетил)-4-тетрапропил-2-[(2-хидрокси-5-тетра-пропилфенил)метил (C41-съединение) и метан, 2,2'-бис[6-(1,1-диметилетил)-1-хидрокси-4-тетрапропил-фенил]]-(C45-съединение)  2,6-бис(1,1-диметилетил)-4-тетра-пропил-фенол и 2-(1,1-диметилетил)-4-тетрапропилфенол  2,6-бис[(6-(1,1-диметилетил)-1-хидрокси-4-тетрапропилфенил)-метил]-4-(тетрапропил)фенол и 2-[(6-(1,1-диметилетил)-1-хидрокси-4-тетрапропилфенил)-метил]-6-[1-хидрокси-4-тетрапропил фенил)метил]-4-(тетрапропил)фенол		414-550-8	—	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
604-067-00-2	Смес от: 2,2'-[[2-хидроксиетил)имино]бис(метилен) бис[4-додецилфенол] формалдехид, олигомер с 4 до децилфенол и 2-аминоетанол (n = 2) формалдехид, олигомер с 4 до децилфенол и 2-аминоетанол (n = 3, 4 и повече)		414-520-4	—	Xi; R38-41 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-50/53 S: (2-)26-37/39-60-61		
604-068-00-8	(+/-)-4-[2-[[3-(4-хидроксифенил)-1-метилпропил]амино]-1-хидроксиетил]фенолхидрохлорид		415-170-5	99095-19-9	Xn; R20/22 R43	Xn R: 20/22-43 S: (2-)24-26-37		
604-069-00-3	2-(1-метилпропил)-4-трет-бутилфенол		421-740-4	51390-14-8	C; R34 N; R51-	C; N		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					53	R: 34-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		
604-070-00-9	триклозан 2,4,4'-трихлоро-2'-хидрокси-дифенилетер 5-хлоро-2-(2,4-дихлорофенокси)фенол		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	Смес от: 2,2-Диметоксиетанал ( този компонент се приема за безводен при идентифициране на структура и състав. Но, 2,2-диметоксиетанал съществува в хидратна форма 60% от безводната форма е еквивалентна на 70,4% хидратна форма) вода (включвайки вода в свободна форма, както и под форма на хидрат с 2,2-диметоксиетанал)		421-890-0	—	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
606-062-00-0	тетраhidротиопиран-3-карбоксалдехид		407-330-8	61571-06-0	Репр. кат.2; R61 Xi; R41 R 52-53	T R: 61-41-52/53 S: 53-45-61		
606-063-00-6	(Е)-3-(2-хлорофенил)-2-(4-флуорофенил)пропенал		410-980-5	112704-51-5	Xi; R36 R43	Xi R: 36-43 S: (2-)24-26-37		
606-064-00-1	прегн-5-ен-3,20-дион бис(етиленкетал)		407-450-0	7093-55-2	R 53	R: 53 S: 61		
606-065-00-7	1-(4-морфолинофенил)бутан-1-он		413-790-0	—	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
606-066-00-2	(Е)-5[(4-хлорофенил)метилен]-2,2-		410-440-9	131984-21-9	N; R51-53	N		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	диметилциклопентанон					R: 51/53 S: 61		
606-067-00-8	Смес от: 1-(2,3,6,7,8,9-хексахидро-1,1-диметил-1Н-бенз(г)инден-4-ил)етанон 1-(2,3,5,6,7,8-хексахидро-1,1-диметил-1Н-бенз(г)инден-4-ил)етанон 1-(2,3,6,7,8,9-хексахидро-1,1-диметил-1Н-бенз(г)инден-5-ил)етанон 1-(2,3,6,7,8,9-хексахидро-3,3-диметил-1Н-бенз(г)инден-5-ил)етанон		414-870-8	96792-67-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-068-00-3	2,7,11-триметил-13-(2,6,6-триметилциклохекс-1-ен-1-ил)тридекахексен-2,4,6,8,10,12-ал		415-770-7	1638-05-7	Xn; R48/22 R43 R 52-53	Xn R: 43-48/22-52/53 S: (2-)22-36/37-61		
606-069-00-9	спиро[1,3-диоксолан-2,5'-(4',4',8',8'-тетраметилхексахидро-3',9'-метанофтален)]		415-460-1	154171-77-4	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24-61		
606-070-00-4	5-(3-бутирил-2,4,6-триметилфенил)-2-[1-(етоксиимино)пропил]-3-хидроксициклохекс-2-ен-1-он		414-790-3	138164-12-2	Репр. кат.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-спиро(5,5-диметил-1,3-диоксап-2-ил)андроста-1,4-диен-3-он		421-050-3	13258-43-0	N; R50-53	N R: 50/53 S: 22-60-61		
606-072-00-5	3-ацетил-1-фенил-пирролидин-2,4-дион		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'-бис(диметиламино)бензофенон Кетон на Michler		202-027-5	90-94-8	Канц. кат.2; R45 Мут. кат.3; R68 Xi; R41	T R: 45-41-68 S: 53-45		
606-075-00-1	1-бензил-5-етоксиимидазолин-2,4-дион		417-340-4	65855-02-9	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)22		
606-076-00-7	1-((2-хинолинилкарбонил)окси)-		418-630-3	136465-99-1	Xi; R41	Xi		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	2,5-пирролидин дион				R43	R: 41-43 S: (2-)24-26-37/39		
606-077-00-2	(3S,4S)-3-хексил-4-[(R)-2-хидрокси-тридецил]-2-оксетанон		418-650-2	104872-06-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-078-00-8	1-октилазепин-2-он		420-040-6	59227-88-2	C; R34 R43 N; R51-53	C; N R: 34-43-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		
606-079-00-3	2-п-бутил-бензо[d]изотиазол-3-он		420-590-7	—	C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
606-080-00-9	Реакционен продукт от: 3-хидрокси-5,7-ди-трет-бутилбензофуран-2-он с о-ксилен		417-100-9	—	R53	R:53 S: 61		
606-081-00-4	(3β,5α,6β)-3-(ацетилокси)-5-бромо-6-хидроксиандростан-17-он		419-790-7	4229-69-0	R43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-36/37-61		
606-082-00-X	Смес от: бутан-2-он Оксим син-О,О'-ди(бутан-2-оноксим)-Диетоксисилан		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-хлоро-5-втор-хексадецилхидрохинон		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-метокси-5-бензофуранил)-3-фенил-1,3-пропандион		414-540-3	484-33-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-085-00-6	(1R,4S)-2-азабицикло[2.2.1]хепт-5-ен-3-он		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-диметилциклохексил)пент-4-ен-1-он		422-330-8	56973-87-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
606-087-00-7	6-етил-5-флуоро-4(3H)-пиримидон		422-460-5	137234-87-8	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
						S: (2-)60-61		
606-088-00-2	2,4,4,7-тетраметил-6-октен-3-он		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	Смес от: 1,4-диамино-2-хлоро-3-феноксипантрахинон 1,4-диамино-2,3-бис-феноксипантрахинон		423-220-2	12223-77-7	R53	R: 53 S: 61		
606-091-00-9	6-хлоро-5-(2-хлороетил)-1,3-дихидроиндол-2-он		421-320-0	118289-55-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-092-00-4	Смес от: (E)-оксациклохексадек-12-ен-2-он (E)-оксациклохексадек-13-ен-2-он а) (Z)-оксациклохексадек-(12)-ен-2-он и б) (Z)-оксациклохексадек-(13)-ен-2-он		422-320-3	111879-80-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-379-00-7	Смес от: 2-[N-(2-хидроксиетил)стеарамидо]етиллов стеарат натриев [бис[2-(стераоилокси)етил]амино]метил-сулфонат натриев [бис(2-хидроксиетил)амино]метилсулфонат N,N-бис(2-хидроксиетил)стеарамид		401-230-8	55349-70-7	R52-53	R: 52/53 S: 61		
607-380-00-2	Смес от: амониев-1,2-бис(хексилоксикарбонил)етансулфонат амониев-1-хексилоксикарбонил-2-октилоксикарбонилетансулфонат амониев-2-хексилоксикарбонил-1-октилоксикарбонилетансулфонат		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	Смесени триестери от 2,2-бис(хидроксиетил)бутанол с C7-алканова киселина и етилхексанова киселина Смесени триестери от 2,2-бис(хидроксиетил)бутанол с C7-алканови киселина и 2-етилхексанова киселина		413-710-4	—	R53	R:53 S: 61		
607-382-00-3	2-((4-амино-2-нитрофенил)амино)бензоена киселина		411-260-3	117907-43-4	Xi; R41 R43 R 52-53	Xi R: 41-43-52/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
607-383-00-9	Смес от: 2,2,6,6-		415-430-8	86403-32-9	Xi; R41	Xi; N		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	тетраметилпиперидин-4-ил-хексадеcanoат 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-илоктадеcanoат				R43 N; R50-53	R: 41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-384-00-4	Смес от:естери C14-C15 Разклонени алкохоли с 3,5-ди-т-бутил-4-хидроксифенилпропионова киселина C15 разклонени и линейни алкил-3,5-бис(1,1-диметилетил)-4-хидроксибензенпропаноат C13 разклонени и линейни алкил-3,5-бис(1,1-диметилетил)-4-хидроксибензенпропаноат		413-750-2	171090-93-0	R 53	R: 53 S: 61		
607-385-00-X	Кополимер от винилов алкохол и винилов ацетат частично ацетилян с 4-(2-(4-формилфенил)етенил)-1-метилпиридинметилов сулфат		414-590-6	125229-74-5	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-386-00-5	Смес от: тетрадеканова киселина (42,5-47,5%) поли(1-7)лактатестери на тетрадекановата киселина (52,5-57,5%)		412-580-6	174591-51-6	Xi; R38-41 R43 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-387-00-0	Смес от: додеканова киселина (35-40%) поли(1-7)лактатестери на додекановата киселина (60-65%)		412-590-0	58856-63-6	Xi; R38-41 R43 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-388-00-6	4-етиламино-3-нитробензоена киселина		412-090-2	2788-74-1	Xn; R22 R43 R 52-53	Xn R: 22-43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		
607-389-00-1	тринатриев N,N-бис(карбоксиметил)-3-амино-2-хидроксипропионат		414-130-4	119710-96-2	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)22		
607-390-00-7	1,2,3,4-тетрахидро-6-нитрохиноксалин		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	диметилциклопропан-1,1-дикарбоксилат		414-240-2	6914-71-2	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-392-00-8	2-феноксietил 4-((5-циано-1,6-дихидро-2-хидрокси-1,4-диметил-6-оксо-3-пиридинил)азо)бензоат		414-260-1	88938-37-8	R 53	R: 53 S: 61		
607-393-00-3	3-(дис-1-пропенил)-7-амино-8-оксо-5-тиа-1-азабицикло[4.2.0]окт-2-ен-2-карбоксилна киселина		415-750-8	106447-44-3	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
607-394-00-9	5-метилпиразин-2-карбоксилна киселина		413-260-9	5521-55-1	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-395-00-4	Смес от: натриев 1-тридецил-4-алил-(2 или 3)-сулфобутандиоат натриев 1-додецил-4-алил-(2 или 3)-сулфобутандиоат		410-230-7	—	C; R34 R43 N; R51-53	C; N R: 34-43-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		
	бис(1,2,2,6,6-пентаметил-4-пиперидинил) 2-(4-метоксибензиден)малонат		414-840-4	147783-69-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 22-60-61		
607-397-00-5	Смес от: Са салицилати (разклонени C10-14 и C18-30 алкилирани) Са фенати (разклонени C10-14 и C18-30 алкилирани) Са сулфурирани фенати (разклонени C10-14 и C18-30 алкилирани)		415-930-6	—	R43	Xi R: 43 S: (2-)36/37		
607-398-00-0	етил N-(5-хлоро-3-(4-(диетиламино)-2-метилфенилимино)-4-метил-6-оксо-1,4-цикло-хексаденил)карбамат		414-820-5	125630-94-6	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-399-00-6	2,2-диметил 3-метил-3-бутенилпропаноат		415-610-6	104468-21-5	Xi; R38 R52-53	Xi R: 38-52/53 S: (2-)37-61		
607-400-00-X	метил 3- [[(дибутиламино)тиоксометил]-тио]пропаноат		414-400-1	32750-89-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-401-00-5	етил-3-хидрокси-5-оксо-3-циклохексен-1-карбоксилат		414-450-4	88805-65-6	Xi; R38-41 R43	Xi R: 38-41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-402-00-0	метил N-(феноксикарбонил)-L-валинат		414-500-5	153441-77-1	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-403-00-6	Смес от: бис(1S,2S,4S)-(1-бензил-4-трет-бутоксикарбоксамидо-2-хидрокси-5-фенил) пентиламониев сукцинатизопропилов алкохол		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	Смес от: ((Z)-3,7-диметил-2,6-октаденил)оксикарбонилпропанова киселина ди-((E)-3,7-диметил-2,6-октаденил) бутандиоат ди-((Z)-3,7-диметил-2,6-октаденил)бутандиоат (Z)-3,7-диметил-2,6-октаденил		415-190-4	—	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	бутандиоат (Е)-3,7-диметил-2,6-октадиенил оксикарбонилпропанова киселина							
607-405-00-7	2-хексилдецил- p-хидроксibenзоат		415-380-7	148348-12-3	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-406-00-2	калиев 2,5-дихлоробензоат		415-700-5	—	Xn; R22 Xi; R41	Xn R: 22-41 S: (2-)26-39		
607-407-00-8	Етил- 2-карбокси-3-(2-тиенил)пропионат		415-680-8	143468-96-6	Xi; R38-41 R43	Xi R: 38-41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-408-00-3	калиев N-(4-флуорофенил)глицинат		415-710-1	—	Xn; R48/22 Xi; R41 R43 R 52-53	Xn R: 41-43-48/22-52/53 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
607-409-00-9	Смес от: (3R)-[1S-(1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ , 6 $\beta$ -((2S)-2-метил-1-оксобоутокси)-8 $\alpha$ гама.)хексахидро-2,6-диметил-1-нафтаген]-3,5-дихидроксиheптанова киселина Инертна биомаса от <i>Aspergillus terreus</i>		415-840-7	—	R43 R 52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)36/37-61		
607-410-00-4	моно[2-(диметиламино)етил]-монохидроген-2-(хексадек-2-енил)бутандиоат и/или моно[2-(диметиламино)етил]-монохидроген-3-(хексадек-2-енил)бутандиоат		415-880-5	—	Xi; R38-41 R43 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-411-00-X	оксиранметанол, 4-метилбензенсулфонат, (S)-		417-210-7	70987-78-9	Канц. кат.2; R45 Мут. кат.3; R68 Xi; R41 R43 N; R51-53	T; N R: 45-41-43-51/53 S: 53-45-61		
607-412-00-5	етил 2-(1-цианоциклохексил)ацетат		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	транс-4-фенил-L-пролин		416-020-1	96314-26-0	Репр. кат.3; R62 R43	Xn R: 43-62 S: (2-)22-36/37		
607-414-00-6			402-070-1	88122-99-0	R53	R: 53		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	трис(2-етилхексил)-4,4',4''-(1,3,5-триазин -2,4,6-триилтримино)трибензоат					S: 61		
607-415-00-1	поли-(метилметакрилат)-со-(бутилметакрилат)-со-(4-акрилоксибутил-изопренил-.алфа.,.алфа.-диметибензилкарбамат)-со-(малеианхидрид)		419-590-1	—	F; R11 R43	F; Xi R: 11-43 S: (2-)24-37-43		
607-416-00-7	4-(2-карбоксиметилтио)етокси-1-хидрокси-5-изобутилоксикарбониламино-N-(3-додецилоксипропил)-2-нафтамид		420-730-7	—	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-418-00-8	2-етилхексил 4-аминобензоат		420-170-3	26218-04-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-419-00-3	(3'-карбоксиметил-5-(2-(3-етил-3Н-бензотиазол-2-илиден)-1-метил-етилиден)-4,4'-диоксо-2'-тиоксо-(2,5')бтиазолидинилиден-3-ил)-оцетна киселина		422-240-9	166596-68-5	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)26-36/37/39		
607-420-00-9	2,2-бис(хидроксиметил)бутанова киселина		424-090-1	10097-02-6	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
607-421-00-4	циперметрин цис/транс +/-40/60 (RS)- $\alpha$ -циано-3-феноксibenзил (1RS,3RS ;1RS,3SR)-3-(2,2-дихлоровинил)-2,2-диметилциклопропанкарбоксилат		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	$\alpha$ -циперметрин		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	естери на мекопроп и на мекопроп-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	трифлуксистробин (ISO) (E,E)- $\alpha$ -метоксиимино-2-[[[1-[3-(трифлуорометил)фенил]етилиден		—	141517-21-7	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-46-60-61		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	]амино]окси]метил]бензоцетна киселина, метилов естер							
607-425-00-6	Металаксил (ISO) метил-N-(2,6-диметилфенил)- N-(метоксиацетил)-DL-аланинат		260-979-7	57837-19-1	Xn; R22 R43 R52-53	Xn R: 22-43-52/53 S: (2-)13-24-37-46-61		
607-426-00-1	1,2-бензендикарбоксилна киселина, дипентилестер, разклонена и линейна[1] n-пентил-изопентилфталат[2] ди-n-пентилфталат[3] диоопентилфталат [4]		284-032-2 [1] - [2] 205-017-9 [3] 210-088-4 [4]	84777-06-0 [1] - [2] 131-18-0 [3] 605-50-5 [4]	Репр. кат. 2; R60-61 N; R50	T; N R: 60-61-50 S: 53-45-61		
607-427-00-7	бромоксинилхептаноат (ISO) 2,6-дибромо-4-цианофенилхептаноат		260-300-4	56634-95-8	Репр. кат. 3; 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	ББФ бензилбутилфталат		201-622-7	85-68-7	Репр. кат.2; R61 Репр. кат.3; R62 N; R50-53	T; N R: 61-62-50/53 S: 53-45-60-61		
607-431-00-9	пралетрин ЕТОС 2-метил-4-оксо-3-(проп-2-инил)-циклопент-2-ен-1-ил 2,2-диметил-3-(2-метилпроп-1-енил)циклопропанкарбоксилат		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-метоалахлор смес от: (S)-2-хлоро-N-(2-етил-6-метил-фенил)-N-(2-метокси-1-метилетил)-ацетамид (80-100%) [1] S-метоалахлор (R)-2-хлоро-N-(2-етил-6-метилфенил)-N-(2-метокси-1-метилетил)ацетамид (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	циперметрин цис/транс +/-80/20 (RS)-алфа-циано-3-феноксibenзил (1RS ;3RS ;1RS ,3SR )-3-(2,2-		257-842-9	52315-07-8	Xn; R22 Xi; R37/38	Xn; N R: 22-37/38-43-50/53		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	дихлоровинил)-2,2-диметилциклопропанкарбоксилат				R43 N; R50-53	S: (2-)36/37/39-60-61		
607-434-00-5	мекопроп-Р [1] и соли (R)-2-(4-хлоро-2-метилфенокси)пропионова киселина		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	2S-изопропил-5R-метил-1R-циклохексил 2,2-дихидроксиацетат		416-810-6	111969-64-3	Xn; R48/22 Xi; R41 N; R51-53	Xn; N R: 41-48/22-51/53 S: (2-)22-26-36/39-61		
607-436-00-6	2-хидрокси-3-(2-етил-4-метилимидазол)пропилов неоеканоат		417-350-9	—	Xi; R38-41 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-50/53 S: (2-)26-28-37/39-60-61		
607-437-00-1	3-(4-аминофенил)-2-циано-2-пропенова киселина		417-480-6	—	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-438-00-7	метил-2-[(аминосулфонил)-метил]бензоат		419-010-5	—	Xn; R22 Xi; R36	Xn R: 22-36 S: (2-)22-26		
607-439-00-2	метилтетрахидро-2-фуранкарбоксилат		420-670-1	37443-42-8	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-440-00-8	метил 2-аминосулфонил-6-(трифлуорометил)пиридин-3-карбоксилат		421-220-7	144740-59-0	R43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)22-24-37-61		
607-441-00-3	3-[3-(2-додецилокси-5-метилфенилкарбамоил)-4-хидрокси-1-нафтилтио]пропионова киселина		421-490-6	167684-63-1	R53	R: 53 S: 57-61		
607-442-00-9	бензил [хидрокси-(4-фенилбутил)фосфинил]ацетат		416-050-5	87460-09-1	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-36/39		
607-443-00-4	бис(2,4-ди-трет-бутил-6-метилфенил)етилфосфат		416-140-4	145650-60-8	R 53	R: 53 S: 61		
607-444-00-X	Смес от: цис-1,4- диметилциклохексилдобензоат транс-1,4-диметилциклохексилдобензоат		416-230-3	35541-81-2	R 53	R: 53 S: 61		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
607-445-00-5	Железен (III) трис(4-метилбензенсулфонат)		420-960-8	77214-82-5	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)24-26-39		
607-446-00-0	метил 2-[4-(2-хлоро-4-нитрофенилазо)-3-(1-оксопропил)амино]фениламинопропионат		416-240-8	155522-12-6	R 43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)22-24-37-61		
607-447-00-6	натриев 4-[4-(4-хидроксифенилазо)фениламино]-3-нитробензенсулфонат		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	2,3,5,6-тетрафлуоробензоена киселина		416-800-1	652-18-6	Xi; R38-41	Xi R: 38-41 S: (2-)22-26-37/39		
607-449-00-7	Смес от: 4,4',4''-[(2,4,6-триоксо-1,3,5(2Н,4Н,6Н)-триазин-1,3,5-триил)трис [метилен(3,5,5-триметил-3,1-циклохександиол)иминокарбонилокси-2,1-етандиол (етил)амино] ]трисбензендиазониев-три[бис(2-метилпропил)-нафталенсулфонат] 4,4',4'',4-[[5,5'-[карбонилбис[имино(1,5,5-триметил-3,1-циклохександиол)метилен]]]-2,4,6-триоксо-1,3,5(2Н,4Н,6Н)-триазин 1,1',3,3'-тетраил]тетракис[метилен(3,5,5-триметил-3,1-циклохександиол)иминокарбонилокси-2,1-етандиол (етил)амино]]тетракисбензендиазониев тетра[-бис(2-метилпропил)нафталенсулфонат]		417-080-1	—	E; R2 R43 N; R50-53	E; Xi; N R: 2-43-50/53 S: (2-)24-35-37-60-61		
607-450-00-2	2-меркаптобензогиазол-ил-(Z)-(2-аминотиазол-4-ил)-2-(трет-бутоксикарбонил)изопропоксииминоацетат		419-040-9	89604-92-2	R 53	R: 53 S: 61		
607-451-00-8	4-[4-амино-5-хидрокси-3-(4-(2-сулфоксиетиленсулфонил)фенилазо)-2,7-дисулфонафт-6-илазо]-6-[3-(4-амино-5-хидрокси-3-(4-(2-сул-		417-640-5	161935-19-9	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	фоксипетилсулфонил)фенилазо)-2,7-дисулфонат-6-илазо]фенил-карбониламино]бензенсулфонова киселина, натриева сол							
607-453-00-9	4-бензил-2,6-дихидрокси-4-аза-хептилен бис(2,2-диметилоктаноат)		418-100-1	172964-15-7	R 43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
607-454-00-4	Смес от: транс-2-(1-метилетил)-1,3-дионсан-5-карбоксилна киселина; цис-2-(1-метилетил)-1,3-диоксан-5-карбоксилна киселина;		418-170-3	—	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)25-26-39-61		
607-455-00-X	1-амино-4-(3-[4-хлоро-6-(2,5-дисулфофениламино)-1,3,5-триазин-2-иламино]-2,2-диметилпропиламино)-антрахахинон-2-сулфонова киселина, Na/Li сол		419-520-8	172890-93-6	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-456-00-5	3-амино-4-хлоробензоенакиселина, хексадецилестер		419-700-6	143269-74-3	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-457-00-0	тетранатриев дихидроген-1,1"-дихидрокси-8,8"-[p-фенилбис(имино-{6-[4-(2-аминоетил)пиперазин-1-ил]}-1,3,5-триазин-4,2-диил-имино)]бис(2,2'-азонафтаден-1',3,6-трисулфонат)		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	Смес от: 2-етил-[2,6-дибромо-4-[1-[3,5-дибромо-4-(2-хидроксиетокси)фенил]-1-метилетил]фенокси]пропеноат 2,2'-диетил-[4,4'-бис(2,6-дибромофенокси)-1-метилетилиден]дипропеноат 2,2'-[(1-метилетилиден)-бис[[2,6-дибромо-4,1-фенилен)окси]етано л]]		420-850-1	—	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-459-00-1	изопентил 4-{2-[5-циано-1,2,3,6-тетрахидро-1-(2-изопропоксипетоксикарбонивметил)-4-метил-2,6-диоксо-3-пиридилен]хидразино}бензоат		418-930-4	—	R53	R:53 S: 61		
607-460-00-7	3-тридецилоксипропиламониев 9-октадецеаноат		418-990-1	—	Xn; R48/22 Xi;	Xn; N		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					R36/38 N; R50-53	R: 36/38-48/22-50/53 S: (2-)23-26-37/39-60-61		
607-461-00-2	Смес от: пентанатриев 2-{4-{3-метил-4-[6-сулфонато-4-(2-сулфонатофенилазо)-нафтаден-1-илазо]-фениламино}-6-[3-(2-сулфонато етансулфонил)-фениламино]-1,3,5-триазин-2-иламино}-бензен-1,4-дисулфонат; пентанатриев 2-{4-{3-метил-4-[7-сулфонато-4-(2-сулфонатофенилазо)-нафтаден-1-илазо]-фениламино}-6-[3-(2-сулфонато-етансулфонил)-фениламино]-1,3,5-триазин-2-иламино}-бензен-1,4-дисулфонат;		421-160-1	—	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-462-00-8	Смес от: 1-хексилацетат; 2-метил-1-пентилацетат; 3-метил-1-пентилацетат; 4-метил-1-пентилацетат; други смесени линейни и разклонени C6-алкилацетати		421-230-1	88230-35-7	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-463-00-3	3-(фенотиазин-10-ил)пропионова киселина		421-260-5	362-03-8	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24/25-61		
607-464-00-9	Смес от: 7-хлоро-1-етил-6-флуоро-1,4-дихидро-4-оксо-хинолин-3-карбоксилна киселина; 5-хлоро-1-етил-6-флуоро-1,4-дихидро-4-оксо-хинолин-3-каг-карбоксилна киселина;		421-280-4	68077-26-9	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-465-00-4	трис(2-хидроксиетил)амониев 7-{4-[4-(2-цианоамино-4-хидрокси-6-оксидопиримидин-5-илазо)бензамидо]-2-етокси-фенилазо}нафтаден-1,3-дисулфонат		421-440-3	—	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-466-00-X	Смес от: фенил 1-(1-[2-хлоро-5-(хексадециклокси карбонил)фенилкарбамоил]-3,3-диметил-2-оксобутил)-1Н-2,3,3а,7а-тетрахидробензотриазол-5-карбоксилат; фенилов 2-(1-(2-хлоро-5-(		421-480-1	—	N; R51-53	N R: 51/53 S: 37/39-61		



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	хексадеци кло ксикарбонил) фенилкарбамоил)-3,3-диметил-2-оксобутил)-1Н-2,3,3а,7а-тетраhydro-( хексадециклоксикарбонил) фенилкарбамоил)-3,3-диметил-2-оксобутил)-1Н-2,3,3а,7а-тетраhydro- бензотриазол-5-карбоксилат; фенилов 3-(1-(2-хлоро-5-( хексадеци кло ксикарбонил) фенилкарбамоил)-3,3-диметил-2-оксобутил)-1Н-2,3,3а,7а-тетраhydroбензотриазол-5- карбоксилат							
607-467-00-5	1,1,3,3-тетрабутил-1,3-дикалаенокси дикаприлат		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	Смес от: мононатриев 4-((4-(5-сулфонато-2-метоксифениламино)-6-хлоро-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2-((1,4-диметил-6-оксидо-2-оксо-5-сулфонатометил-1,2-азо)бензенсулфонат-3-ил)азо)бензенсулфонат; динатриев 4-((4-(5-сулфонато-2-метоксифениламино)-6-хлоро-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2-((1,4-диметил-6-оксидо-2-оксо-5-сулфонатометил-1,2-дихидропиридин-3-ил)азо)бензенсулфонат; тринатриев 4-((4-(5-сулфонато-2-метоксифениламино)-6-хлоро-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2-((1,4-диметил-6-оксидо-2-оксо-5-сулфонатометил-1,2-дихидропиридин-3-ил)азо)бензенсулфонат; тетранатриев 4-((4-(5-сулфонато-2-метоксифениламино)-6-хлоро-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2-((1,4-диметил-6-оксидо-2-оксо-5-сулфонатометил-1,2-дихидропиридин-3-ил)азо)бензенсулфонат		419-450-8	—	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-469-00-6	динатриев 7-((4,6-бис(3-диетиламинопропиламино)-1,3,5- триазин -2-ил)амино)-4-хидрокси-3-(4-(4-сулфонатофенилазо) фенилазо)-2-нафталенсулфонат		419-460-2	120029-06-3	R52-53	R: 52/53 S: 61		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
607-470-00-1	Калиево натриев 6,13-дихлоро-3,10-бис{2-[4-[3-(2-хидрокси сулфнил оксигетан сулфнил)фениламино]-6-(2,5-дисулфонатофениламино)-1,3,5-триазин-2-иламино]етиламино}бензо[5,6][1,4]оксазино[2,3-b]феноксазин-4,11-дисулфонат		414-100-0	—	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)39-22-26-61		
607-472-00-2	амониев фери(III) триметилендиаминтетраацетат хемихидрат		400-660-3	111687-36-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-474-00-3	(4-(4-(4-диметиламинобензилиден-1-ил)-3-метил-5-оксо-2-пиразолин-1-ил)бензоена киселина		410-430-4	117573-89-4	R53	R: 53 S: 61		
607-475-00-9	Смес от (50/50): тетранатриев 7-(4-[4-хлоро-6-[метил(3-сулфонатофенил)амино]-1,3,5-триазин-2-иламино]-2-уреидофенилазо)нафтален-1,3,6-трисулфонат; тетранатриев 7-(4-[4-хлоро-6-[метил(4-сулфонатофенил)амино]-1,3,5-триазин-2-иламино]-2-уреидофенилазо)нафтален-1,3,6-трисулфонат		412-940-2	148878-18-6	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-476-00-4	тринатриев N,N-бис(карбоксиметил)-β-аланин		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	тетраметиламониев хидрогенфталат		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	хексадецил-4-хлоро-3-[2-(5,5-диметил-2,4-диоксо-1,3-оксазолидин-3-ил)-4,4-диметил-3-оксопентамидо]бензоат		418-550-9	168689-49-4	R53	R: 53 S: 61		
607-480-00-6	1,2-бензенидикарбоксилна киселина ди-C7-11-разклонени и линейни алкилестери		271-084-6	68515-42-4	Репр. кат. 2; R61 Репр. кат. 3; R62	T R: 61-62 S: 53-45		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
607-487-00-4	Смес от: динатриев 4-(3-етоксикарбонил-4-(5-(3-етоксикарбонил-5-хидрокси-1-(4-сулфонатофенил)пиразол-4-ил)пента-2,4-диенилиден)-4,5-дихидро-5-оксопиразол-1-ил)бензенсулфонат		402-660-9	—	Репр. кат.2; R61 R52-53	T R: 61-52/53 S: 53-45-61		
607-488-00-X	етил(2-ацетиламино-5-флуоро-4-изотиоцианатофенокси)ацетат		414-210-9	147379-38-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-489-00-5	Смес от: 2-етилхексиллиноленат, и олеат; 2-етилхексилероксиолеат 2-етилхексилдиепоксидиноленат 2-етилхексилтриепоксилиноленат		414-890-7	71302-79-9	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
607-490-00-0	N-[2-хидрокси-3-(C12-16-алкилокси)пропил]-N-метил глицинат		415-060-7	—	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-492-00-1	2-(1-(3',3'-диметил-1'-циклохексил)етокси)-2-метил пропилпропаноат		415-490-5	141773-73-1	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-493-00-7	метил (3aR,4R,7aR)-2-метил-4-(1S,2R,3-триасетоксипропил)-3a,7a-дихидро-4H-пирано[3,4-d]оксазол-6-карбоксилат		415-670-3	78850-37-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-494-00-2	бис(2-етилхексил)октилфосфонат		417-170-0	52894-02-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-495-00-8	натриев 4-сулфофенил-6-((1-оксононил)амино)хексаноат		417-550-6	168151-92-6	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
607-496-00-3	2,2'-метиленбис(4,6-ди-трет-бутилфенил)-2-етилхексилфосфит		418-310-3	126050-54-2	R53	R: 53 S: 61		
607-497-00-9	цериовоксиди зостеарат		419-760-3	—	R53	R: 53 S: 61		
607-498-00-4	(E)-3,7-диметил-2,6-октадиенилхексадеканоат		421-370-3	3681-73-0	Xi; R38 R53	Xi R: 38-53 S: (2-)37-61		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
607-499-00-X	бис(диметил-(2-хидроксиетил)амониев) 1,2-етандиил-бис(2-хексадеценилсукцинат)		421-660-1	—	Xi; R41 R43 N; R51-53	Xi; N R: 41-43-51/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
607-500-00-3	калциев 2,2,бис[(5-тетрапропилен-2-хидрокси)фенил]етаноат		421-670-4	—	Xi; R38 N; R50-53	Xi; N R: 38-50/53 S: (2-)37-60-61		
607-501-00-9	Смес от: трифенилтиофосфат и третичнобутилирани фенилови производни		421-820-9	—	R53	R: 53 S: 61		
607-502-00-4	(N-бензил-N,N,N-трибутил)амониев- 4-додецилбензен сулфонат		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-три-n-пропил-2,4,6-триоксо-1,3,5,2,4,6-триоксатрифосфоринан		422-210-5	68957-94-8	C; R34	C R: 34 S: (1/2-)26-36/37/39-45		
607-505-00-0	пентанатриев 7-(4-(4-(5-амино-4-сулфонато-2-(4-((2-(сулфонатоетокси)сулфонил)фенилазо)фениламино)-6-хлоро-1,3,5-триазин-2-ил)амино-2-уреидофенилазо)нафтален-1,3,6-трисулфонат		422-930-1	171599-84-1	R52-53	R: 52/53 S: 22-61		
607-506-00-6	Смес от: стронциев (4-хлоро-2-((4,5-дихидро-3-метил-5-оксо-1-(3- сулфонатофенил)-1H-пиразол-4-ил)азо)-5-метил)бензенсулфонат; динатриев (4-хлоро-2-((4,5-дихидро-3-метил-5-оксо-1-(3- сулфонатофенил)-1H- пиразол -4-ил)азо)-5-метил)бензенсулфонат		422-970-8	136248-04-9	N; R51-53	N R: 51/53 S: 22-61		
607-507-00-1	калиево натриев 2,4-диамино-3-[4-(2- сулфонатоетокси сулфонил)-фенилазо]-5-[4-(2- сулфонат оксисулфонил)-2- сулфонатофенилазо]-бензенсулфонат		422-980-2	187026-95-5	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
607-508-00-7	динатриев 3,3'-[иминобис[сулфонил-4,1-фенилен-(5-хидрокси-3-метил пиразол-1,4-диил)азо-4,1-фенилен-сулфонилимино-(4-амино-6-хидроксипиримидин-2,5-диил)азо-4,1-фениленсулфонилимино(4-амино-6-хидроксипиримидин-2,5-диил)азо]бис(бензенсулфонат)]		423-110-4	—	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
607-512-00-9	тринатриев 2,4-диамино-3,5-бис-[4-(2-сулфонатоетокси)сулфонил]-фенилазо]бензенсулфонат		423-970-0	182926-43-8	R52-53	R: 52/53 S: 22-61		
607-513-00-4	Смес от: тринатриев 4-бензоиламино-6-(6-етенсулфонил-1-сулфато-нафтален-2-илазо)-5-хидрокси нафтален-2,7-дисулфонат 5-(бензоиламино)-4-хидрокси-3-((1-сулфо-6-(2-(сулфоокси)етил)-сулфонил)-2-нафтил)азо)нафтален-2,7-дисулфонова киселина, натриева сол  5-(бензоиламино)-4-хидрокси-3-((1-сулфо-6-(2-(сулфоокси)етил)-сулфонил)-2-нафтил)азо)нафтален-2,7-дисулфонова киселина		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	Смес от: динатриев хексилдифенилетердисулфонат; динатриев дихексилдифенилетердисулфонат		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'-бис(трифлуороацетил)-S,S'-бис-L-хомоцистеин		429-670-6	105996-54-1	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-517-00-6	(S)- $\alpha$ -(ацетилтио)бензенпропанова киселина		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	картап 1,3-бис(карбамоилтио)-2-(диметиламино)пропан		—	15263-53-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
607-527-00-0	Смес от: 1-(1'Н,1'Н,2'Н,2'Н-тридекафлуорооктил)-12-(1"Н,1"Н,2"Н,2"Н-тридекафлуорооктил)додекандиоат; 1-(1'Н,1'Н,2'Н,2'Н-тридекафлуорооктил)-12-(1"Н,1"Н,2"Н,2"Н-хертдекафлуородецил)до декандиоат 1-(1'Н,1'Н,2'Н,2'Н-тридекафлуорооктил)-12-(1"Н,1"Н,2"Н,2"Н-хенеикозафлуорододецил) додекандиоат 1-(1'Н,1'Н,2'Н,2'Н-тридекафлуорооктил)-12-(1"Н,1"Н,2"Н,2"Н-пентакозафлуоротетрадецил)до декандиоат 1-(1'Н,1'Н,2'Н,2'Н-heptadeca-флуородецил)-12-(1"Н,1"Н,2"Н,2"Н-хертадекафлуородецил)додекандиоат 1-(1'Н,1'Н,2'Н,2'Н-хептадекафлуородецил)-12-(1"Н,1"Н,2"Н,2"Н-еникоза-флуорододецил) додекандиоат		423-180-6	—	Xn; R48/22	Xn R: 48/22 S: (2-)36		
608-031-00-7	2-бензил-2-метил-3-бутенилтрил		407-870-4	97384-48-0	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)61		
608-033-00-8	N-бутил-3-(2-хлоро-4-нитрофенилхидразоно)-1-циано-2-метилпроп-1-ен-1,3-дикарбонсимид		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	хлорфенапир 4-бромо-2-(4-хлорофенил)-1-етоксиметил-5-трифлуорометилпирол-3-карбонитрил		—	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-ацетил-5-метилфенил)-амино]-2,6-дихлоробензенацетонитрил		419-290-9	—	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
608-036-00-4	3-(2-{4-[2-(4-цианофенил)винил]-фенил}винил)бензонитрил		419-060-8	79026-02-1	R 53	R: 53 S: 61		
608-037-00-X	Смес от: (E)-2,12-тридекадиеннитрил (E)-3,12-тридекадиеннитрил; (Z)-3,12-тридекадиеннитрил		422-190-8	124071-40-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
608-038-00-5	2,2,4-триметил-4-фенил-бутаннитрил		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-фенилхексаннитрил		423-460-8	3508-98-3	Xn; R22	Xn; N		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					N; R50-53	R: 22-50/53 S: (2-)23-60-61		
608-040-00-6	4,4'-дитиобис(5-амино-1-(2,6-дихлоро-4-(трифлуорометил)фенил)-1H-пиразол-3-карбонитрил)		423-490-1	130755-46-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
608-041-00-1	4'-((2-бутил-4-оксо-1,3-дiazаспиро [4.4]нон-1-ен-3-ил)метил)(1,1'-бифенил)-2-карбонитрил		423-500-4	138401-24-8	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
608-043-00-2	3-(цис-3-хексенилокси)пропанитрил		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	мезотрион 2-[4-(метилсулфонил)-2-нитробензоил]-1,3-циклохександион		—	104206-82-8	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
609-066-00-0	литиево-натриев 3-амино-10-{4-(10-амино-6,13-дихлоро-4,11-дисулфонатобензо[5,6][1,4]оксазино)-[2,3-b]феноксазин-3-иламино-6-[метил(2-сулфонатоетил)амино-1,3,5-триазин-2-иламино]-6,13-дихлоробензо[5,6][1,4]оксазино[2,3-b]феноксазин-4,11-дисулфонат		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	натриев и калиев 4-(3-аминопропиламино)-2,6-бис[3-(4-метокси-2-сульфопенилазо)-4-хидрокси-2-сульфо-7-нафтиламино]-1,3,5-триазин		416-280-6	156769-97-0	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
609-068-00-1	мускус ксилен 5-трет-бутил-2,4,6-тринитро-m-ксилен		201-329-4	81-15-2	Канц. кат. 3; R40 E; R2 N; R50-53	E; Xn; N R: 2-40-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
609-070-00-2	1,4-дихлоро-2-(1,1,2,3,3,3-хексафлуоропропокси)-5-нитробензен		415-580-4	130841-23-5	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)36/37/39-60-61		
609-071-00-8	Смес от: 2-метилсулфанил-4,6-бис-(2-хидрокси-4-метоксифенил)-1,3,5-триазин 2-(4,6-бис-метилсулфанил-1,3,5-триазин-2-ил)-5-метоксифенол		423-520-3	156137-33-6	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-099-00-0			401-500-5	—	Канц. кат. 2;	T; N		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	(метиленбис(4,1-фениленазо(1-(3-(диметиламино)пропил)-1,2-дихидро-6-хидрокси-4-метил-2-оксопиридин-5,3-диил)))-1,1'-дипиридин дихлорид, дихидрохлорид				R45 N; R51-53	R: 45-51/53 S: 53-45-61		
611-100-00-4	калиево-натриев 3,3'-(3(или 4)-метил-1,2-фениленбис(имино(6-хлоро)-1,3,5-триазин 4,2-дилимино(2-ацетиамидо-5-метокси)-4,1-фениленазо)ди-нафтален-1,5-дисулфонат		403-810-6	140876-13-7	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
611-101-00-X	2'-(4-хлоро-3-циано-5-формил-2-тиенил)азо-5'-диетиламиноацетанилид		405-200-5	104366-25-8	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-103-00-0	тринатриев (1-(3-карбоксилато-2-оксидо-5-сулфонатофенилазо)-5-хидрокси-7-сулфонатофтаален-2-амидо)никел(II)		407-110-1	—	Xi; R41 R43 N; R51-53	Xi; N R: 41-43-51/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
611-104-00-6	Смес от: тринатриев (2,4(или 2,6 или 4,6)-бис(3,5-динитро-2-оксидофенилазо)-5-хидроксифенолато) (2(или 4 или 6)-(3,5-динитро-2-оксидофенилазо)-5-хидрокси-4(или 2 или 6)-(4-(4-нитро-2-сулфонатоанилино)фенилазо)фенолато)ферат(1-) тринатриев бис(2,4(или 2,6 или 4,6)-бис(3,5-динитро-2-оксидофенилазо)-5-хидроксифенолато)ферат(1-) тринатриев (2,4(или 2,6 или 4,6)-бис(3,5-динитро-2-оксидофенилазо)-5-хидроксифенолато)(2(или 4 или 6)-(3,5-динитро-2-оксидофенилазо)-5-хидрокси-4(или 2 или 6)-(4-нитро-2-ферат(1-) тринатриев (2,4(или 2,6 или 4,6)-бис(3,5-динитро-2-оксидофенилазо)-5-хидроксифенолато)(2(или 4 или 6)-(3,5-динитро-2-оксидофенилазо)-5-хидрокси-4(или 2 или 6)-(3-сулфонатофенилазо)фенолато)-ферат(1-)		406-870-1	—	R43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	динатриев 3,3'-(2,4-дихидрокси-1,3(или 1,5 или 3,5)-фенилен диазо)добензенсулфонат							
611-105-00-1	натриев 4-(4-хлоро-6-(N-етиланилино)-1,3,5-триазин-2-иламино)-2-(1-(2-хлорофенил)-5-хидрокси-3-метил-1Н-пиразол-4-илазо)бензенсулфонат		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	хексанатриев 4,4'-дихидрокси-3,3'-бис[2-сулфонато-4-(4-сулфонатофенилазо)фенилазо]-7,7'[p-фениленбис[имино(6-хлоро-1,3,5-триазин-4,2-диил)имино]]динафта лен-2-сулфонат		410-180-6	—	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
611-107-00-2	калиево-натриев 4-(4-хлоро-6-(3,6-дисулфонато-7-(5,8-дисулфонато)нафта лен-2-илазо)-8-хидрокси)нафта лен-1-иламино)-1,3,5-триазин-2-иламино)-5-хидрокси-6-(4-(2-сулфонато)етан-сулфонил)-фенилазо)-нафта лен-1,7-дисулфонат		412-490-7	—	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-108-00-8	динатриев 5-((4-((4-хлоро-3-сулфонато)фенилазо)-1-нафта л)азо)8-(фениламино)-1-нафта л)енсулфонат		413-600-6	6527-62-4	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
611-109-00-3	Реакционни подукти от: меден(II) сулфат и тетра натриев 2,4-бис[6-(2-метокси-5-сулфонато-фенилазо)-5-хидрокси-7-сулфонато-2-нафта ламино]-6-(2-хидрокси)етиламино)-1,3,5-триазин (2:1)		407-710-3	—	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
611-110-00-9	тетра-натриев/литиев 4,4'-бис-(8-амино-3,6-дисулфонато-1-нафта л-2-илазо)-3-метилазо)бензен		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	динатриев 2-[[4-(2-хлоро)етилсулфонил)фенил]-[(2-		414-230-8	—	R43	Xi R: 43		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	хидрокси-5-сулфо-3-[3-[2-(2- (сулфокси)етилсулфонил)етилазо]-4- сулфобензоато(3-)]купрат(1-)					S: (2-)22-24-37		
611-112-00-X	тетранатриев 4-хидрокси-5-[4-[3-(2- сулфатоетансулфонил)фениламино]-6- морфолин-4-ил-1,3,5-триазин-2-иламино]-3-(1- сулфонато-нафтаден-2-илазо)нафтаден-2,7- дисулфонат		413-070-6	—	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-113-00-5	литиево- натриев (2-(((5-((2,5- дихлорофенил)азо)-2-хидрокси- фенил)метил)амино)бензоато (2-))(2-((4,5-дихидро-3- метил-5-оксо-1-фенил-1Н-пиразол- 4-ил)азо)-5-сулфобензоато(3- ))хромат(2-)		414-280-0	149626-00-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24/25-61		
611-114-00-0	литиево- натриев (4-((5-хлоро-2- хидроксифенил)азо)-2,4-дихидро-5-метил-3Н- пиразол-3-онато(2-))(3-((4,5-дихидро-3-метил-1- (4-метилфенил)-5-оксо-1Н-пиразол-4-ил)азо)-4- хидрокси-5-нитро-бензенсулфонато(3-))хромат (2-)		414-250-7	149564-66-9	Xn; R22 Xi; R41 R 52-53	Xn R: 22-41-52/53 S: (2-)22-26-39-61		
611-115-00-6	трилитиев бис(4-((4-(диетиламино)-2- хидроксифенил)- азо)-3-хидрокси-1-нафтаден- сулфонато(3-))хромат(3-)		414-290-5	149564-65-8	Xn; R22 R 52- 53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		
611-116-00-1	Смес от: тринатриев 5-{4- хлоро-6-[2-(2,6-дихлоро-5-цианопиримидин-4- иламино)-пропиламино]-1,3,5-триазин-2- иламино}-4-хидрокси-3-(1-сулфонато- нафтаден-2-илазо)-нафтаден-2,7-дисулфонат; тринатриев 5-{4-хлоро-6-[2-(2,6- дихлоро-5-цианопиримидин-4- иламино)-1-метилетиламино]- 1,3,5-триазин-2-иламино}-4- хидрокси-3-(1-сулфонато)нафтаден)-2-илазо)- нафтаден-2-илазо)-нафтаден-2,7- дисулфонат; тринатриев 5-{4-хлоро-6-[2-(4,6- дихлоро-5-цианопиримидин-2- иламино)-пропиламино]-1,3,5-		414-620-8	—	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26- 37/39		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	триазин-2-иламино}-4-хидрокси-3-(1-сулфонатофтаден-2-илазо)-нафтаден-2,7-дисулфонат ; тринатриев 5-(4-хлоро-6-[2-(4,6-дихлоро-5-цианоимидин-2-иламино)-1-метилетиламино]-1,3,5-триазин-2-иламино)-4-хидрокси-3-(1-сулфонатофтаден)-2-илазо)-нафтаден-2-илазо)-нафтаден-2,7-дисулфонат							
611-117-00-7	1,3-бис{6-флуоро-4-[1,5-дисулфо-4-(3-аминокарбонил-1-етил-6-хидрокси-4-метил-пирид-он-5-илазо)-фенил-2-иламино]-1,3,5-триазин-2-иламино}пропан литиева-, натриева сол		415-100-3	149850-29-3	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-118-00-2	натриев 1,2-бис[4-[4-(4-сулфофенилазо)-2-сулфофенилазо]-2-уреидо-фениламино]-6-флуоро-1,3,5-триазин-2-иламино]-пропан, натриева сол		413-990-8	149850-31-7	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-119-00-8	тетранатриев 4-[4-хлоро-6-(4-метил-2-сулфофениламино)-1,3,5-триазин-2-иламино]-6-(4,5-диметил-2-сулфофенилазо)-5-хидроксинафтаден-2,7-дисулфонат		415-400-4	148878-22-2	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-120-00-3	5-[4-[5-амино-2-[4-(2-сулфокси-етилсулфонил)фенилазо]-4-сулфофениламино]-6-хлоро-1,3,5-триазин-2-иламино]-4-хидрокси-3-(1-сулфофтаден-2-илазо)-нафтаден-2,7-дисулфонова киселина, натриева сол		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	Основен компонент 6 (изомер): асим. 1:2 Cr(III)-комплекс от: А: 3-хидрокси-4-(2-хидроксинафтаден-1-илазо) нафтаден -1-сулфонова киселина, Na-сол и		417-280-9	30785-74-1	Xi; R41 N; R50-53	Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	В: 1-[2-хидрокси-5-(4-метокси-фенилазо)фенилазо] нафтален -2-ол Основен компонент 8 (изомер): асим. 1:2 Сг-комплекс от: А: 3-хидрокси-4-(2-хидрокси-нафтален-1-илазо)-нафтален-1-сулфонова киселина, Na-сол и В: 1-[2-хидрокси-5-(4-метоксифенилазо)-фенилазо]-нафтален-2-ол							
611-122-00-4	хексанатриев (ди[N-(3-(4-[5-(5-амино-3-метил-1-фенилпиразол-4-илазо)-2,4-дисулфоанилино]-6-хлоро-1,3,5-триазин-2-иламино)фенил)сулфамойл](дисулфо)фталоцианинато)никел		417-250-5	151436-99-6	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-123-00-X	3-(2,4-бис(4-((5-(4,6-бис(2-аминопропиламино)-1,3,5-триазин-2-иламино)-4-хидрокси-2,7-дисулфонафтален-3-илазо)фениламино)-1,3,5-триазин-6-иламино)-пропилдиетиламониев лактат		424-310-4	178452-66-9	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
611-124-00-5	Смес от: пентанатриев 5-амино-3-(5-{4-хлоро-6-[4-(2-сулфоксиетоксисулфонато)фениламино]-1,3,5-триазин-2-иламино}-2-сулфонатофенилазо)-6-[5-(2,3-дибромопропиониламино)-2-сулфонатофенилазо]-4-хидроксиафтален-2,7-дисулфонат; пентанатриев 5-амино-6-[5-(2-бромоакриоиламино)-2-сулфонатофенилазо]-3-(5-{4-хлоро-6-[4-(2-сулфоксиетоксисулфонато)фениламино]-1,3,5-триазин-2-иламино}-2-сулфонатофенилазо)-4-хидроксиафтален-2,7-дисулфонат тетранатриев 5-амино-3-[5-{4-хлоро-6-[4-(винилсулфопил)фениламино]-1,3,5-триазин-2-иламино}-2-сулфонатофенилазо]-6-[5-(2,3-дибромопропиониламино)-2-сулфонатофенилазо]-4-хидроксиафтален-2,7-дисулфонат		424-320-9	180778-23-8	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
611-125-00-0	Смес от: динаатриев 6-[3-карбокси-4,5-дихидро-5-оксо-4-сулфонатофенил)пиразолин-4-илазо]-3-		423-940-7	—	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	[2-оксидо-4-(етенсулфонил)-5-метоксифенилазо]-4-оксидонафтален-2-сулфонат меден (II) комплекс; динатриев 6-[3-карбокси-4,5-дихидро-5-оксо-4-сулфонатофенил]пиразолин-4-илазо]-3-[2-оксидо-4-(2-хидроксиетилсулфонил)-5-метоксифенилазо]-4-оксидонафтален-2-сулфонат меден (II) комплекс					S: (2-)26-39-61		
611-126-00-6	2,6-бис-(2-(4-(4-аминофениламино)-фенилазо)-1,3-диметил-3Н-имидазол)-4-диметиламино-1,3,5-триазин, дихлорид		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	пентанатриев 4-амино-6-(5-(4-(2-етил-фениламино)-6-(2-сулфатоетансулфонил)-1,3,5-триазин-2-иламино)-2-сулфонатофенилазо)-5-хидрокси-3-(4-(2-сулфатоетансулфонил)фенилазо)нафтален-2,7-дисулфонат		423-790-2	—	R5 Xi; R41 R43  R 52-53	Xi R: 5-41-43-52/53 S: (2-)22-26-36/37/39-41-61		
611-128-00-7	N,N'-бис{6-хлоро-4-[6-(4-винилсулфонилфенилазо)-2,7-дисулфонова киселина-5-хидрокси]нафт-4-иламино}-1,3,5-триазин-2-ил} N-(2-хидроксиетил)диамин, натриева сол		419-500-9	171599-85-2	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-129-00-2	Смес от: 5-[(4-[(7-амино-1-хидрокси-3-сулфо-2-нафтил)азо]-2,5-диетоксифенил)азо]-2-[(3-фосфофенил)азо]бензоена киселина 5-[(4-[(7-амино-1-хидрокси-3-сулфо-2-нафтил)азо]-2,5-диетоксифенил)азо]-3-[(3-фосфофенил)азо]бензоена киселина		418-230-9	163879-69-4	E; R2 Repr. cat.3; R62 Xn; R48/22  R43 N; R51-53	E; Xn; N R: 2-43-48/22-62-51/53 S: (2-)26-35-36/37-61		
611-130-00-8	тетра-амониев 2-[6-[7-(2-карбоксилато-фенилазо)-8-хидрокси-3,6-дисулфонато-1-нафтиламино]-4-хидрокси-1,3,5-триазин-2-иламино]бензоат		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-хидрокси-3-(2-хлорофенил)карбамоил-1-		420-580-2	—	Repr.Cat.2;	T		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препаратта
	нафтилазо]-7-[2-хидрокси-3-(3-метилфенил)-карбамоил-1-нафтилазо]]флуорен-9-он				R61 R53	R: 61-53 S: 53-45-61		
611-132-00-9	пентанатриев бис{7-[4-(1-бутил-5-циано-1,2-дихидро-2-хидрокси-4-метил-6-оксо-3-пиридилазо)фенилсулфониламино]-5'-нитро-3,3'-дисулфонато нафтален-2-азобензен-1,2'-диолато} хромат (III)		419-210-2	—	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
611-133-00-4	Продукт на реакцията между железен комплекс на азобоя, получена чрез купелуване на смес от от диазотиран 2-амино-1-хидроксибензен-4-сулфанид и 2-амино-1-хидроксибензен-4-сулфонамид с резорцин, получената смес е подложена на вторично купелуване със смес от диазотиран 3-аминобензен-1-сулфонова киселина(метанилова киселина) и 4'-амино-4-нитро-1,1'-дифениламин-2-сулфонова киселина и метализиране с ферихлорид, натриева сол		419-260-5	—	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
611-134-00-X	тринатриев 2-{α[2-хидрокси-3-[4-хлоро-6-[4-(2,3-дибромопропиониламино)-2-сулфонатофениламино]-1,3,5-триазин-2-иламино]-5-сулфонатофенилазо]-бензилиденхи дразино}-4-сулфонатобензоат, меден комплекс		423-770-3	—	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)22-26-39-61		
611-135-00-5	Реакционен продукт на: 2-[[4-амино-2-уреидофенилазо]-5-[(2-(сулфоокси)етил)сулфонил]]бензен сулфонат с 2,4,6-трифлуоропиримидин и частична хидролиза на съответно винилсулфонилово производно, смес от калиева/натриева сол		424-250-9	—	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
611-136-00-0	2-{4-(2-амониевпропиламино)-6-[4-хидрокси-3-(5-метил-2-метокси-4-сулфамоилфенилазо)-2-сулфонато нафт-7-иламино]-1,3,5-триазин-2-иламино}-2-аминопропилформат		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		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
611-137-00-6	6-трет-бутил-7-хлоро-3-тридецил-7,7а-дихидро-1Н-пиразоло[5,1-с]-1,2,4-триазол		419-870-1	159038-16-1	R 53	R: 53 S: 61		
611-138-00-1	2-(4-аминофенил)-6-трет-бутил-1Н-пиразоло[1,5-б][1,2,4]триазол		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	азафенидин		—	68049-83-2	T; R48/22 Репр. кат. 2; R61 Репр. кат. 3; R62 N; R50-53	T; N R: 61-48/22-62-50/53 S: 53-45-60-61	$C \geq 0,025\%$ : N; R50/53 $0,0025\% \leq C < 0,025\%$ : N; R51/53 $0,00025\% \leq C < 0,0025\%$ : R52/53	
612-184-00-5	6'-(дибутиламино)-3'-метил-2'-(фениламино)спиро[изобензофуран-1(3Н),9-(9Н)-ксантен-3]-он		403-830-5	89331-94-2	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
612-185-00-0	1-[3-[4-((хептадекафлуорононил окси)-бензамидо)пропил]-N,N,N-триметиламониев йодид		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	бис(N-(7-хидрокси-8-метил-5-фенилфеназин-3-илилиден)диметиламониев) сулфат		406-770-8	149057-64-7	Xn; R48/22 Xi; R41 R43 N; R50-53	Xn; N R: 41-43-48/22-50/53 S: (2-)22-26-36/37/39-60-61		
612-187-00-1	2,3,4-трифлуороанилин		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'-(9Н-флуорен-9-илилиден)бис(2-хлороанилин)		407-560-9	107934-68-9	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
612-189-00-2	4-амино-2-(аминометил)фенол дихидрохлорид		412-510-4	135043-64-0	Xn; R22 R43	Xn; N R: 22-43-50/53		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					N; R50-53	S: (2-)22-24-37-60-61		
612-190-00-8	4,4'-метиленбис(2-изопропил-6-метиланилин)		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	Полимер от алиламинхидрохлорид		415-050-2	71550-12-4	Xn; R22 R43	Xn R: 22-43 S: (2-)36/37		
612-192-00-9	2-изопропил-4-(N-метил)аминометилгиазол		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-метиламинометилфениламин		414-570-7	18759-96-1	Xn; R21/22 C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 21/22-34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
612-194-00-X	2-хидрокси-3-[(2-хидроксиетил)-[2-(1-оксотетрадецил)амино]етил]амино]-N,N,N-триметил-1-пропанамониев хлорид		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	бис[трибутил 4-(метилбензил)амониев] 1,5-нафтагендисулфонат		415-210-1	—	Xn; R20/22 Xi; R41 N; R50-53	Xn; N R: 20/22-41-50/53 S: (2-)26-36/39-60-61		
612-196-00-0	4-хлоро-о-толуидин [1] 4-хлоро-о-толуидин хидрохлорид [2]	Е	202-441-6 [1] 221-627-8 [2]	95-69-2 [1] 3165-93-3 [2]	Канц. кат.2; R45 Мут. кат.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-триметиланилин [1] 2,4,5-триметиланилин хидрохлорид [2]	Е	205-282-0 [1] - [2]	137-17-7 [1] 21436-97-5 [2]	Канц. кат.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'-тиоданилин и негови соли	Е	205-370-9	139-65-1	Канц. кат.2;	T; N		



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
					R45 Xn; R22 N; R51-53	R: 45-22-51/53 S: 53-45-61		
612-199-00-7	4,4'-оксидианилин и негови соли <i>p</i> -аминофенилетер	Е	202-977-0	101-80-4	Канц. кат.2; R45 Мут. кат.2; R46 Репр. кат.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-диаминоанизол; 4-метокси- <i>m</i> -фенилендиамин [1] 2,4-диаминоанизолсулфат [2]		210-406-1 [1] 254-323-9 [2]	615-05-4 [1] 39156-41-7 [2]	Канц. кат.2; R45 Мут. кат.3; R68 Xn; R22 N; R51-53	T; N R: 45-22-68-51/53 S: 53-45-61		
612-201-00-6	<i>N,N,N',N'</i> -тетраметил-4,4'- метилендианилин		202-959-2	101-61-1	Канц. кат.2; R45 N; R50-53	T; N R: 45-50/53 S: 53-45-60-61		
612-202-00-1	3,4-дихлороанилин		202-448-4	95-76-1	T; R23/24/25 Xi; R41 R43 N; R50-53	T; N R: 23/24/25-41-43- 50/53 S: (1/2-)26-36/37/39- 45-60-61		
612-204-00-2	C.I. Basic Violet 3 4-[4,4'-бис(диметиламино) бензхидрилиден]ци клохекса-2,5-диен-1- илиден]диметиламониев хлорид		208-953-6	548-62-9	Канц. кат.3; R40 Xn; R22 Xi; R41 N; R50-53	Xn; N R: 22-40-41-50/53 S: (2-)26-36/37/39- 46-60-61		
612-205-00-8	C.I. Basic Violet 3 с $\geq 0,1\%$ на кетон на Michler (ЕС №. 202-027-5)	Е	208-953-6	548-62-9	Канц. кат.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	фамоксадон 3-анилино-5-метил-5-(4- феноксифенил)-1,3-оксазолидин-2,4-дион		—	131807-57-3	Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-50/53 S: (2-)46-60-61		
612-209-00-X	6-метокси- <i>m</i> -толуидин <i>p</i> -крезидин	Е	204-419-1	120-71-8	Канц. кат.2; R45 Xn; R22	T R: 45-22 S: 53-45		
612-210-00-5	5-нитро- <i>o</i> -толуидин [1] 5-нитро- <i>o</i> -толуидин хидрохлорид [2]		202-765-8 [1] 256-960-8 [2]	99-55-8 [1] 51085-52-0 [2]	Канц. кат.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-[(бензотриазол-1-ил)метил]-		416-470-9	—	Xi; R36	Xi; N		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	4-карбоксибензенсулфонамид				N; R51-53	R: 36-51/53 S: (2-)26-61		
612-212-00-6	2,6-дихлоро-4-трифлуорометиланилин		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	изобутилен-(2-(2-изопропил-4,4-диметилорксазолидин-3-ил)-1,1-диметилетил)амин		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-дифенилетенил)-N,N-дифенилбензенамин		421-390-2	89114-90-9	R 53	R: 53 S: 61		
612-215-00-2	3-хлоро-2-изопропилтио)анилин		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-метокси-2-пропиламин		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-диметилперхидропиримидин-2-он $\alpha$ -(4-трифлуорометилстирил)- $\alpha$ -(4-трифлуорометил)цинамилиденхидразон		405-090-9	67485-29-4	T; R48/25 Xn; R22 Xi; R36 N; R50-53	T; N R: 22-36-48/25-50/53 S: (1/2-)22-26-36/37-45-60-61		
613-182-00-7	1-(1-нафтилметил)хинолинхлорид		406-220-7	65322-65-8	Канц. кат.3; R40 Мут. кат.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	Смес от: 5-(N-метилперфлуорооктилсулфонамидо)метил-3-октадецил-1,3-оксазолидин-2-он 5-(N-метилперфлуорооктилсулфонамидо)метил-3-октадецил-1,3-оксазолидин-2-он		413-640-4	—	Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-50/53 S: (2-)36-60-61		
613-184-00-8	нитрилоетиленамониопропан-2-олов 2-етилхексаноат		413-670-8	—	Xi; R36 R43	Xi R: 36-43 S: (2-)24-26-37		
613-185-00-3	2,3,5,6-тетраhydro-2-метил-2H-циклопента[d]-1,2-тиазол-3-он		407-630-9	82633-79-2	T; R25 Xi; R41 R43 N; R50-53	T; N R: 25-41-43-50/53		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
						S: (1/2-)22-26-36/37/39-45-60-61		
613-186-00-9	(2R,3R)-3-((R)-1-(трет-бутилдиметилсилокси)етил)-4-оксоазетидин-2-илов ацетат		408-050-9	76855-69-1	Xi; R36 R43 N; R51-53	Xi; N R: 36-43-51/53 S: (2-)24-26-37-61		
613-188-00-X	1-(3-(4-флуорофенокси)пропил)-3-метокси-4-пиперидинон		411-500-7	116256-11-2	Xn; R22 Xi; R41 R43  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-тетраakis(р-толуенсулфонил)-1,4,7,10-тетраазацикло доде кан		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	динатриев 1-амино-4-(2-(5-хлоро-6-флуоро-пиримидин-4-иламинометил)-4-метил-6-сулфофениламино)-9,10-диоксо-9,10-дихидроантрацен-2-сулфонат		414-040-5	149530-93-8	Xn; R22 R43	Xn R: 22-43 S: (2-)22-24-37		
613-191-00-6	3-етил-2-метил-2-(3-метилбутил)оксазолидин		421-150-7	143860-04-2	Репр. кат.2; R60 C; R34 N; R50-53	T; N R: 60-34-50/53 S: 53-45-60-61		
613-193-00-7	пентаkis[3-(диметиламонио)-пропилсулфамоил]-[(6-хидрокси-4,4,8,8-тетраметил-4,8-дiazониаундекан-дилдисулфамоил)ди[фталоцианин мед (II)]] хепталактат		414-930-3	—	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
613-194-00-2	6,13-дихлоро-3,10-бис {2-[4-флуоро-6-(2-сулфофениламино)-1,3,5-триазин-2-иламино]пропиламино}бензо[5,6][1,4]оксазино-[2,3-b.]феноксазин-4,11-дисулфонова киселина, литиева-, натриева сол натриева сол		418-000-8	163062-28-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
613-195-00-8	2,2-(1,4-фенилен)бис((4Н-3,1-бензоксазин-4-он)		418-280-1	18600-59-4	R 43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
613-196-00-3	5-[[4-хлоро-6-[2-[4-флуоро-6-[[5-хидрокси-6-[(4-метокси-2-сулфофенил)азо]-7-сулфо-2-нафталенил]амино]-1,3,5-триазин-2-ил]амино]-1-метилетил]амино]-1,3,5-триазин-2-ил]амино]-		418-380-5	168113-78-8	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	3-[[4-(етенилсулфонил)фенил] азо]-4-хидрокси-нафтален-2,7-дисулфонова киселина, натриева сол							
613-197-00-9	Смес от: 2,4,6-три(бутилкарбамоил)-1,3,5-триазин 2,4,6-три(метилкарбамоил)-1,3,5-триазин [(2-бутил-4,6-диметил)трикарбамоил]-1,3,5-триазин [(2,4-дибутил-6-метил)трикарбамоил]-1,3,5-триазин		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	Смес от: 1,3,5-трис(3-аминометилфенил)-1,3,5-(1Н,3Н,5Н)-триазин-2,4,6-трион Смес от олигомери на 3,5-бис(3-аминометилфенил)-1-поли[3,5-бис(3-аминометилфенил)-2,4,6-триоксо-1,3,5-(1Н,3Н,5Н)-триазин-1-ил]-1,3,5-(1Н,3Н,5Н)-триазин-2,4,6-трион		421-550-1	—	Канц. кат.2; R45 Репр. кат.2; R61 R43 R 52-53	T R: 45-61-43-52/53 S: 53-45-61		
613-200-00-3	Реакционен продукт от: меден, (29Н,31Н-фталоцианинато(2-)-N29,N30,N31,N32)-, хлоросярна киселина и 3-(2-сулфооксиетилсулфонил)анилин, натриеви соли		420-980-7	—	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
613-201-00-9	(R)-5-бромо-3-(1-метил-2-пирролидинилметил)-1Н-индол		422-390-5	143322-57-0	Репр. кат.3; R62 T; R39-48/25 Xn; R20/22 Xi; R41 R43 N; R50-53	T; N R: 20/22-39-41-43-48/ 25-62-50/53 S: (1/2-)53-45-60-61		
613-202-00-4	пиметрозин (ISO) (E)-4,5-дихидро-6-метил-4-(3-пиридилметиленамино)-1,2,4-триазин-3(2Н)-он		—	123312-89-0	Carc.Cat3; R40 R52-53	Xn R: 40-52/53 S: (2-)36/37-61		
613-203-00-X	пирафлуфен -етил [1] пирафлуфен[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	оксадиаргил (ISO) 3-[2,4-дихлоро-5-(2-пропинил-окси)фенил]-5-(1,1-дидиметилетил)-1,3,4-оксадиазол-2(3Н)-он 5-трет-бутил-3-[2,4-дихлоро-5-(проп-2-инилокси)фенил]-1,3,4-оксадиазол-2(3Н)-он		254-637-6	39807-15-3	Репр. кат. 3; R63 Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-63-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
613-205-00-0	пропиконазол (+)-1-[2-(2,4-дихлорофенил)-4-пропил-1,3-диоксолан-2-илметил]-1Н-1,2,4-триазол		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	фенамидон (ISO) (S)-5-метил-2-метилтио-5-фенил-3-фениламино-3,5-дихидроимидазол-4-он		—	161326-34-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-207-00-1	имазалилсулфат, воден разтвор 1-[2-(алилокси)етил-2-(2,4-дихлорофенил)]-1Н-имидазолхидроген сулфат (±)-1-[2-(алилокси)етил-2-(2,4-дихлорофенил)]-1Н-имидазолхидроген сулфат		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	Имазамокс		—	114311-32-9	N; R50-53	N		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
						R: 50/53 S: 60-61		
613-209-00-2	цис-1-(3-хлоропропил)-2,6-диметилпиперидин хидрохлорид		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-хлоропропил)-2,5,5-три-метил-1,3-диоксан		417-650-1	88128-57-8	Xn; R48/22 R52-53	Xn R: 48/22-52/53 S: (2-)23-25-36-61		
613-211-00-3	N-метил-4-(p-формилстирил)пиримидинметиллов сулфат		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-етилхексилокси)фенил (1,4-тиазинан-1,1-диоксид)		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	цис-1-бензоил-4-[(4-метилсулфонил)окси]-L-пролин		416-040-0	120807-02-5	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
613-214-00-X	N,N-ди-n-бутил-2-(1,2-дихидро-3-хидрокси-6-изопропил-2-хинолилиден)-1,3-диоксоиндан-5-карбоксамид		416-260-7	147613-95-4	R 53	R: 53 S: 61		
613-215-00-5	2-хлорометил-3,4-диметоксипиридинов хлорид		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-трет-бутил-7-(6-диетиламино-2-метил-3-пиридилимино)-3-(3-метилфенил)пиразоло[3,2-c][1,2,4]триазол		416-490-8	—	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-217-00-6	4-[3-(3,5-ди-трет-бутил-4-хидроксифенил)пропионилокси]-1-[2-[3-(3,5-ди-трет-бутил-4-хидрофенил)пропионилокси]етил]-2,2,6,6-тетраметилпиперидин		416-770-1	73754-27-5	R 53	R: 53 S: 61		
613-218-00-1	6-хидроксииндол		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		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
613-219-00-7	7а-етил-3,5-бис(1-метилетил)-2,3,4,5-тетраhydroоксазол[3,4-с]-2,3,4,5-тетраhydroоксазол		417-140-7	79185-77-6	Xi; R38 N; R51-53	Xi; N R: 38-51/53  S: (2-)37-61		
613-220-00-2	транс-(4S,6S)-5,6-дихидро-6-метил-4Н-тиено[2,3-б]тио-пиран-4-ол, 7,7-диоксид		417-290-3	147086-81-5	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)36		
613-221-00-8	2-хлоро-5-метил-пиридин		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-оксо-2-пропенил)-морфолин		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-изопропил-3-(4-флуорофенил)-1Н-индол		418-790-4	93957-49-4	R 53	R: 53 S: 61		
613-224-00-4	2,5-димеркаптометил-1,4-дитиан		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	Смес от: [2-(антрахинон-1-иламино)-6-[(5-бензоиламино)-антрахинон-1-иламино]-4-фенил]-1,3,5-триазин 2,6-бис-[(5-бензоиламино)-антрахинон-1-иламино]-4-фенил-1,3,5-триазин		421-290-9	—	Xn; R48/22 R53	Xn R: 48/22-53 S: (2-)22-36-61		
613-226-00-5	1-(2-(етил(4-(4-(4-(етил(2-пиридиноетил)амино)-2-метил-фенилазо)бензоиламино)-фенилазо)-3-метилфенил)амино)етилпиридин дихлорид		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*)and(R*,S*)]-6-флуоро-3,4-дихидро-2-оксиранил-1-2Н-1-бензопиран		419-600-2	—	R43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-28-36/37-61		
613-228-00-6	(+/-)-(R*,S*)-6-флуоро-3,4-дихидро-2-		419-630-6	—	N; R51-53	N		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	оксиранил-2Н-1-бензопиран					R: 51/53 S: 24-61		
613-230-00-7	флоразулам (ISO) 2',6',8-трифлуоро-5-метокси-5-триазоло[1,5-с] пиримидин-2-сулфонанилид		—	145701-23-1	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-233-00-3	4,4'-(окси-(бисметилен))-бис-1,3-диоксолан		423-230-7	56552-15-9	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
614-028-00-1	Смес от: 2-етилхекси-моно-D-глокопиранозид 2-етилхексилди-D-глокопиранозид		414-420-0	—	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
614-029-00-7	Състав от изомери на пента-О-алил-β-D-фруктофуранозил-α-D-глокопиранозид Състав от изомери на хекса-О-алил-β-D-фруктофуранозил-α-D-глокопиранозид Състав от изомери на херта-О-алил-β-D-фруктофуранозил-α-D-глокопиранозид		419-640-0	68784-14-5	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)		
615-030-00-5	алкални соли, алкалоземни соли и други соли на тиоциановата киселина not mentioned elsewhere in this Annex other Salts of thiocyanic acid not mentioned elsewhere in this Annex	A	—	—	Xn; R20/21/22 R32 R52-53	Xn R: 20/21/22-32-52/53 S: (2-)13-61		
615-031-00-0	талиева сол на тиоциановата киселина	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	метални соли на тиоциановата киселина not mentioned elsewhere in this Annex	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	Полимеризационен продукт на бицикло[2.2.1]херта-2,5-диен, етен, 1,4-хексадиен, 1-ргорен с N,N-ди-2-пропенилформамид		404-035-6	—	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
616-093-00-1	Реакционен продукт на:		406-620-1	129217-90-9	R 43	Xi; N		



Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	анилин-терeftалалдехид-о-толуидин кондензиран с малеинов анхидрид				N; R51-53	R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		
616-094-00-7	3,3'-дициклохексил-1,1'-метилен бис(4,1-фенилен)диуреа		406-370-3	58890-25-8	R 43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
616-095-00-2	3,3'-диоктадецил-1,1'-метилен-бис(4,1-фенилен)диуреа		406-690-3	43136-14-7	R 53	R: 53 S: 61		
616-096-00-8	N-(3-хекса децилокси-2-хидрокси-проп-1-ил)-N-(2-хидроксиетил)-палмитамид		408-110-4	110483-07-3	R 53	R: 53 S: 61		
616-097-00-3	N,N'-1,4-фениленбис(2-((2-метокси-4-нитрофенил)азо)-3-оксобутанамид		411-840-6	83372-55-8	R 53	R: 53 S: 61		
616-098-00-9	1-[4-хлоро-3-((2,2,3,3,3-пентафлуоропропокси)метил)фенил]-5-фенил-1H-1,2,4-триазол-3-карбоксамид		411-750-7	119126-15-7	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
616-099-00-4	2-[4-[(4-хидроксифенил)сулфонил]фенокси]-4,4-диметил-N-[5-[(метилсулфонил)амино]-2-[4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенокси]фенил]-3-оксопентанамид		414-170-2	135937-20-1	R 53	R: 53 S: 61		
616-100-00-8	1,3-диметил-1,3-бис(триметилсил)уреа		414-180-7	10218-17-4	Xn; R22 Xi; R38	Xn R: 22-38 S: (2-)36/37		
616-101-00-3	(S)-N-трет-бутил-1,2,3,4-тетрахидро-3-изохинолинкарбоксамид		414-600-9	149182-72-9	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)61		
616-102-00-9	Смес от: алфа-[3-(3-меркаптопропаноксикарбониламино)метилфениламинокарбонил]-ω-[3-(3-меркаптопропаноксикарбониламино)метилфениламинокарбонил]поли-(оксиетилен-со-оксипропилен) 1,2-(или 1,3-)бис[алфа-(3-меркаптопропаноксикарбониламино)метилфениламинокарбонил]-ω-окси-поли(оксиетилен-со-оксипропилен)]-3-(или 2-)пропанол		415-870-0	—	R43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)36/37-61		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	1,2,3-трис[ $\alpha$ -(3-меркаптопропаноокси карбониламино) метилфениламино карбонил)- $\omega$ -окси-поли-(оксиетилен-со-оксипропилен)]пропан]							
616-103-00-4	(S,S)-транс-4-(ацетиламино)-5,6-дихидро-6-метил-7,7-диоксо-4Н-тиено[2,3-б]тиопиран-2-сулфонамид		415-030-3	120298-38-6	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		
616-104-00-X	бенаксил метилов N-(2,6-диметилфенил)-N-(фенилацетил)-DL-аланинат		275-728-7	71626-11-4	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-105-00-5	хлоротолурон 3-(3-хлоро-р-толил)-1,1-диметилуреа		239-592-2	15545-48-9	Канц. кат. 3; R40 Репр. кат. 3; R63 N; R50-53	Xn; N R: 40-63-50/53 S: (2-)36/37-26-46-60-61		
616-106-00-0	фенмеди фам метил 3-(3-метилкарбанилоилокси)карбанилат (ISO)		237-199-0	13684-63-4	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-108-00-1	йодосулфурон-метил-натриев		—	144550-36-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-109-00-7	сулфосулфурон 1-(4,6-диметоксипиримидин-2-ил)-3-(2-етилсулфонилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)сулфонилуреа		—	141776-32-1	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-110-00-2	цикланилид 1-(2,4-дихлороанилинокарбонил)-циклопропанкарбоксилна киселина		419-150-7	113136-77-9	Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)61		
616-111-00-8	фенхексамид N-(2,3-дихлор-4-хидроксифенил)-1-метилциклохексан карбоксамид		422-530-5	126833-17-8	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
616-112-00-3	оксасулфурон оксетан-3-ил 2-[(4,6-диметилпиримидин-2-ил)-карбамоилсулфамойл]бензоат		—	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	десмедифам етил 3-фенилкарбамоилоксифенилкарбамат		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	додеканамид, N,N'- (9,9',10,10'-тетраhydro-9,9',10,10'-тетраоксо(1,1'-биантрацен)-4,4'-дил)бис-		418-010-2	136897-58-0	R53	R: 53 S: 22-61		
616-115-00-X	N-(3-ацетил-2-хидроксифенил)-4-(4-фенилбутоксид)бензамид		416-150-9	136450-06-1	R 53	R: 53 S: 61		
616-116-00-5	N-(4-диметиламинопиридин)-3-метокси-4-(1-метил-5-нитроиндол-3-илметил)-N-(о-толилсулфонил)бензамид		416-790-9	—	R53	R:53 S: 61		
616-117-00-0	N-[2-(3-ацетил-5-нитрофенил)-2-илазо]-5-диетиламино фенил]ацетамид		416-860-9	—	Repr.Cat.3; R62 R43 N; R50-53	Xn; N R: 43-62-50/53 S: (2-)22-36/37-60-61		
616-118-00-6	N-(2',6'-диметилфенил)-2-пиперидинкарбоксамиден хидрохлорид		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-бутил-3,5-диоксо-2-фенил-(1,2,4)-триазолидин-4-ил)-4,4-диметил-3-оксо-N-(2-метокси-5-(2-(додецил-1-сулфонил)пропиониламино)фенил)-пентанамид		418-060-5	118020-93-2	R 53	R: 53 S: 61		
616-120-00-7	Смес от: N-(3-диметиламино-4-метилфенил)бензамид N-(3-диметиламино-2-метилфенил)-бензамид N-(3-диметиламино-3-метилфенил)-бензамид		420-600-1	—	Xn; R48/22 N; R51-53	Xn; N R: 48/22-51/53 S: (2-)36/37-61		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
616-121-00-2	2,4-дихидрокси-N-(2-метоксифенил)бензамид		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-(диетиламино)-2-метилфенил]имино]-6-оксо-1,4-циклохексадиенил]ацетамид		414-740-0	96141-86-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-124-00-9	литиев бис(трифлуорометилсулфонил)имид		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-циано-N-(1,1-диметилетил)андроста-3,5-диен-17-β-карбоксамид		415-730-9	151338-11-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-127-00-5	Смес от: N,N'-етан-1,2-диилбис(деканамид) -12-хидрокси-N-[2-[1-оксидецил)амино]етил]октадеканамид N,N'-етан-1,2-диилбис(12-хидроксиоктадеканамид)		430-050-2	—	R43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		
616-128-00-0	N-(2-(1-алил-4,5-дицианоимидазол-2-илазо)-5-(дипропиламино)фенил)ацетамид		417-530-7	123590-00-1	R53	R: 53 S: 61		
616-129-00-6	N,N'-бис(2,2,6,6-тетраметил-4-пиперидил)изофталамид		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-диметил-2,5-диоксо-имидазолин-1-ил)-4,4-диметил-3-оксо-пентапоиламино)-4-метоксифенил)-октадеканамид		421-780-2	150919-56-5	R53	R: 53 S: 61		
616-132-00-2	N-[4-(4-циано-2-фурурилиден-2,5-дихидро-5-оксо-3-фурил)фенил]бутан-1-сулфонамид		423-250-6	130016-98-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-133-00-8	N-циклохексил-S,S-диоксобензо[b]-тиофен-2-карбоксамид		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		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
616-134-00-3	3,3'-бис(диоктилокси фосфинотиолтио)-N,N'-оксибис(-мегилен)дипропионамид		401-820-5	—	R52-53	R: 52/53 S: 61		
616-135-00-9	(3S,4aS,8aS)-2-[(2R,3S)-3-амино-2-хидрокси-4-фенилбутил]-N-трет-бутил декахидроизохинолин-3-карбоксамид		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-бис(винилсулфонилацетамидо)пропан		428-350-3	93629-90-4	Мут. кат.3; R68 Xi; R41 R43 R 52-53	Xn R: 41-43-68-52/53 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
616-143-00-2	N,N'-дихекса децил -N,N'-бис(2-хидроксиетил)пропандиа мид		422-560-9	149591-38-8	Xn; Репр. кат.3; R62 Xi; R36 R53	Xn R: 62-36-53 S: (2-)26-36/37-61		
617-018-00-5	Смес от: 1-метил-1-(3-(1-метилетил)фенил)етил-1-метил-1-фенилетилпероксид, 63% спрямо теглото 1-метил-1-(4-(1-метилетил)-фенил)етил-1-метил-1-фенилетилпероксид, 31% спрямо теглото		410-840-3	71566-50-2	O; R7 N; R51-53	O; N R: 7-51/53 S: (2-)3/7-14-36/37/39-61		
617-019-00-0	6-(фталимидо)пероксихексанова киселина		410-850-8	128275-31-0	O; R7 Xi; R41 N; R50	O; Xi; N R: 7-41-50 S: (2-)3/7-14-26-36/37/39-61		
617-020-00-6	1,3-ди(проп-2,2-диил)бензен бис(неодеканолпероксид)		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	Реакционен продукт от: полиетилен-полиамин-(C16-C18)-алкиламиди с монотио-(C2)-алкилови фосфонати		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	Реакционен продукт от: 3,5-бис-трет-Бутилсалицилова киселина и алуминиев сулфат		420-310-3	—	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)22-56-60-61		
650-044-00-5	Смесени линейни и разклонени C14-15 алкохолни етоксилати, реакционен продукт с епихлорхидрин		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	Реакционен продукт от: 1,2,3-		417-110-3	—	F; R11	F; Xi; N		

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
	Пропантрикарбоксилна киселина, 2-хидрокси, диетилов естер, 1 Пропанол и циркониев тетра-п-пропанолат				Xi; R38-41 N; R51-53	R: 11-38-41-51/53 S: (2-)9-16-26-37/39-61		
650-046-00-6	ди(тетраметил амониев)(29Н,31Н-фталоцианин-N29,N30,N31,N32)дисулфо нами ден ди сулфонат, купрат(2-)комплекс, производни		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	добензилфенилсулфонхекса флуороантимонат		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	Реакционен продукт от: боракс, хидропероксид, анхидрид на оцетната киселина и оцетната киселина		420-070-1	—	O; R7 Xn; R20/21/22 C; R35 N; R50	O; C; N R: 7-20/21/22-35-50 S: (1/2-)3/7-14-26-36/ 37/39-45-61		
650-049-00-2	2-алкоилоксиетилхидрогенмалеат, в който алкоилът представлява 70-85% (спрямо тегло) ненаситен октадекоил, 0,5 - 10% наситен октадекоил и 2 -18% наситен хексаоктадекоил		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	Смес от: 1-метил-3-хидроксипропил 3,5-[1,1-диметилетил]-4-хидрокси ди гидроцинамат и/или 3хидроксипропил 3,5-[1,1-диметилетил]-4-хидрокси ди гидроцинамат 1,3-бутандиол бис[3-(3'-(1,1-диметилетил)4'-хидрокси-фенил)пропионат] изомери 1,3-бутандиол бис[3-(3',5'-(1,1-диметилетил)-4'-хидрокси фенил)пропионат] изомери		423-600-8	—	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
650-055-00-5	Сребърен натриев циркониев хидрогенфосфат		422-570-3	—	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61'		

Приложение II

Индекс №	Химично наименование	Бележки, свързани с веществото	ЕС №	CAS №	Класификация	Етикетирание	Гранични концентрации	Бележки, свързани с препарата
*048-002-00-0	Кадмий (непирофорен-незапалим) [1]  Кадмиев оксид (непирофорен-незапалим) [2]	Е	231-152-8 [1] 215-146-2 [2]	7440-43-9 [1] 1306-19-0 [2]	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 3; R68 Репр. кат. 3; R62-63 Т; R48/23/25 Т+; R26 N; R50-53	Т+; N R: 45-26-48/23/25-62-63-68-50/53 S: 53-45-60-61		
048-011-00-Х	Кадмий (пирофорен, запалим)	Е	231-152-8	7440-43-9	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 3; R68 Репр. кат. 3; R62-63 Т; R48/23/25 Т+; R26 F; R17 N; R50-53	F; Т+; 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-нитротолуен	С	202-808-0	99-99-0	Т; R23/24/25 R33 N; R51/53	Т; N R: 23/24/25-33-51/53 S: (1/2-)28-37-45-61		
609-065-00-5	2- нитротолуен	Е	201-853-3	88-72-2	Канц. кат. 2; R45 Мут. кат. 2; R46 Репр. кат. 3; R62 Xn; R22 N; R51-53	Т; N R: 45-46-22-62-51/53 S: 53-45-61		
612-039-00-6	2-етоксианилин о-етоксианилин  <i>О-фенетидин</i>	С	202-356-4	94-70-2	Т; R23/24/25 R33	Т R: 23/24/25-33  S: (1/2-)28-36/37-45		
612-207-00-9	4-етоксианилин р- фенетидин		205-855-5	156-43-4	Мут. кат. 3; R68 Xn; R20/21/22 Xi; R36 R43	Xn R: 20/21/22-36-43-68 S: (2-)36/37-46'		





## ПРИЛОЖЕНИЕ 2А

### “А.21. ОКСИДИРАЩИ СВОЙСТВА (ТЕЧНОСТИ)

#### 1. МЕТОД

##### 1.1. ВЪВЕДЕНИЕ

Този метод за изпитване е предназначен за измерване на потенциала на вещество в течно състояние да повишава степента си на изгаряне или на интензивността на изгаряне на запалимите вещества, или да образува смес със запалимо вещество, която може спонтанно да се възпламени при пълно смесване на двете вещества. Той се основава на метода на ООН за оксидиращи течности (1) и е еквивалентен на него. Въпреки това обаче, тъй като този метод А.21 е предназначен преди всичко да отговори на изискванията на Директива 67/548, се изисква да се направи сравнение само с едно вещество за съпоставка. Може да се наложи провеждането на допълнителни изследвания и сравнения с други вещества за съпоставка, когато се очаква резултатите от изследването да бъдат използвани за други цели <sup>1</sup>.

Този метод не може да бъде използван, когато изследването на структурната формула установи по безспорен начин, че веществото не може да реагира екзотермично със запалим материал.

Полезно е, преди провеждане на изследването, да се разполага с предварителна информация за евентуалните експлозивни свойства на веществото.

Този метод не може да бъде приложен за твърди вещества, газове, експлозивни или силно запалими вещества, или органични пероксиди.

Не е необходимо провеждането на това изпитване, когато вече има налични резултати за изпитването на веществото по метода на ООН за оксидиращи течности (1).

##### 1.2. ОПРЕДЕЛЕНИЯ И МЕРНИ ЕДИНИЦИ

**Средно време за повишаване на налягането** е средноаритметичната стойност от измерените времена, за които изпитваната смес предизвиква повишаване на налягането от 690 kPa до 2 070 kPa над атмосферното налягане.

##### 1.3. ВЕЩЕСТВА ЗА СРАВНЕНИЕ

Като вещество за сравнение <sup>2</sup> се използва воден разтвор 65 тегл.% (мас, мас) на азотна киселина. (х.ч.а). В случаите, когато лицето, провеждащо изпитването предполага, че резултатите от това изпитване може да бъдат използвани за други цели, може също да се проведе едно изпитване с други допълнителни вещества за сравнение <sup>3</sup>.

##### 1.4. ПРИНЦИП НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

<sup>1</sup> Както например, в рамките на разпоредбите на ООН, свързани с транспорта.

<sup>2</sup> Киселината следва да се титрува, за да се установи нейната концентрация.

<sup>3</sup> Например: В сравнение 1 се използват 50 мас. % (m/m) перхлорна киселина и 40 мас. % (m/m) натриев хлорат.

Течността, която ще бъде изпитвана, се смесва в тегловно съотношение 1:1 с фиброзна (нишковидна) целулоза и се вкарва в съд (реактор) под налягане. Ако по време на смесването или при въвеждането ѝ в реактора възникне спонтанно запалване, не е необходимо по-нататъшно изпитване.

Ако не възникне спонтанно запалване по време на провеждане на изпитването, сместа се нагрява в съда под налягане, докато налягането не нарасне от 690 kPa до 2 070 kPa над атмосферното налягане, и се отчита средното време за повишаване на налягането. То се сравнява със средното време за повишаване на налягането на смес в съотношение 1:1 на вещество(а) за сравнение и целулозата.

## 1.5. КРИТЕРИИ ЗА КАЧЕСТВО

В серии от по пет опита за едно вещество следва резултатите да не се различават с повече от 30% от средноаритметичната стойност. Резултати, които се различават с повече от 30% от стойността, се пренебрегват, процедурите по смесване и напълване се оптимизират и изпитването се повтаря.

## 1.6. ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

### 1.6.1 Подготовка

#### 1.6.1.1 Запалими вещества

Като запалим материал се използва изсушена фиброзна целулоза с нишки с дължина между 50 и 250  $\mu\text{m}$  и среден диаметър 25  $\mu\text{m}$ <sup>4</sup>. Материалът се суши до достигане постоянно тегло на слоя с дебелина, не повече от 25 mm, при 105 °C в продължение на 4 часа и се оставя в сушилня в присъствие на консервант, докато изстине и стане подходящ за използване. Съдържанието на вода в сухия остатък целулоза (в проба) не следва да надвишава 0,5% сухо тегло<sup>5</sup>. Ако е необходимо, времето на сушене се удължава до постигане на тези параметри<sup>6</sup>. По време на експеримента трябва да се използва целулоза от една проба.

#### 1.6.1.2 Апаратура

##### 1.6.1.2.1 Съд под налягане

Изисква се съд под налягане. Съдът представлява цилиндричен стоманен съд под налягане с дължина 89 mm и 60 mm външен диаметър (виж фигура 1). Двете плоскости/ части са свързани с противоположните си страни (намаляйки напречното сечение/ профила на съда до 50 mm), за да се подобри прикрепването,

<sup>4</sup> Напр. хроматографска колона на Whatman с целулоза на прах CF 11, каталожен No 4021 050.

<sup>5</sup> Потвърдено чрез (напр.) титруване по Карл-Фишер.

<sup>6</sup> По друг начин това водно съдържание може да бъде постигнато (напр.) чрез нагряване при 105 °C под вакуум в продължение на 24 часа.

докато се монтират пожарния хидрант и пробката с вентилационния отвор. Съдът, който има отвор с диаметър 20 mm, е вътрешно вдълбан във всеки край до такава дебелина, че там да бъде поставена 1" тръба по Британски стандарт (BSP) или с метричен еквивалент.

Приспособлението за повишаване на налягането, в разклонението (коляното), е завинтено към извивката на съда под налягане на 35 mm от едния край и е на 90° спрямо механично обработените повърхности. Вдълбнатината за него е с дълбочина 12 mm и е вътрешно резбована, за да приеме 1/2" BSP (или метричен еквивалент) външно резбования край на разклонението. Ако е необходимо, се използва инертно уплътнение, за да се осигури неподвижна газонепропусклива свързка. Разклонението продължава 55 mm след тялото на съда под налягане и има 6 mm отвор. Краят на разклонението е вжлебен и е предназначен да приеме датчика за налягане във вид на диафрагма. За измерване на налягането може да бъде използван всякакъв уред, при условие че не може да бъде повлиян от горещи газове или разграждащи се продукти и може да отговори на повишаването на налягане в интервала 690-2 070 kPa в рамките на не повече от 5 ms.

Най-отдалеченият от разклонението край на съда под налягане е близо до пожарния хидрант, който е свързан с два електрода-единият изолиран от, а другият заземен към тялото на хидранта. Другият край на съда под налягане е близо до предпазната мембрана (предпазваща от налягане приблизително 2 200 kPa), здраво неподвижно закрепена за спирателния клапан, който има 20 mm отвор. Ако е необходимо, се използва уплътнение от инертен материал с пожарния хидрант, за да се осигури непронпусклива за газове неподвижна сглобка. Поддържащ стенд (фигура 2) поддържа апаратурата на подходящата височина през периода на използването ѝ. Обикновено той се състои от мека стоманена плоска основа с размери 235 mm x 184 mm x 6 mm и една 185 mm дълга квадратна куха част (S.H.S.) с размери 70 mm x 70 mm x 4 mm. Частта е скосена от всяка от двете срещуположни страни в единия край по дължината на квадратната куха част (S.H.S.), така че да се получи структура с две допълнителни плоски подпори, надхвърлящи с 86 mm дължината на цялата част.. Краищата на тези плоски подпори са прорязани под ъгъл 60 °С към хоризонтала и са заварени към повърхността на основата. Прорезът с размери 22 mm ширина x 46 mm дълбочина се обработва от едната страна на по-горния край на основната част, така че когато монтираният съд под налягане е по-надолу, пожарният хидрант да спре първи, в частта, поддържаща кутията, а коляното е разположено в прореза. Стоманен детайл с размери 30 mm ширина и 6 mm дебелина е заварен към по-ниската вътрешна повърхност на кутията и действа като дистанционен елемент (раздалечител). Два 7 mm винта с крилчати глави, поставени на срещуположната повърхност, задържат неподвижен на място съда под налягане. Две 12 mm широки шини от стомана с дебелина 6 mm, заварени към стената на детайлите, допиращи се към основата на кутията, поддържат отдолу съда под налягане.

#### 1.6.1.2.2 Система за запалване

Системата за запалване се състои от 25 cm дълга Ni/ Сг жица с диаметър 0,6 mm и съпротивление 3.85 ohm/m. Жицата се намотава, чрез използване на пръчка с диаметър 5 mm, под формата на спирала и се прибавя към електродите на пожарния хидрант. Спиралата следва да е с някоя от конфигурациите, показани на фигура 3. Разстоянието между дъното на съда и долната повърхност на запалващата спирала следва да бъде 20 mm. Ако електродите не са подвижни, краищата на запалващата жица между серпентината и дъното на съда следва да бъдат изолирани с керамична обвивка. Жицата се загрява чрез постоянен електроизточник, осигуряващ поне 10 А ток.

### 1.6.2 Извършване на изпитването<sup>7</sup>

Апаратурата, цялостно сглобена с датчик за налягане и нагриваща система, но без позиционирана предпазна мембрана, се поддържа от пожарен хидрант в долния край. 2,5 g от изпитваната течност се смесват с 2,5 g изсушена целулоза в чаша от химично стъкло, чрез използване на стъклена пръчка за разбъркване<sup>8</sup>. За осигуряване на безопасност, смесването следва да бъде извършвано при наличието на защитна преграда между оператора и сместа. Ако сместа се запали по време на смесването или разбъркването, не е необходимо провеждането на изпитването до край. Сместа се вкарва на малки порции в съда под налягане и следва да сте сигурни, че тя се натрупва около запалващата спирала и прави добър контакт с нея. Важно е спиралата да не се изкриви по време на процеса на натрупване, тъй като това може да доведе до погрешни резултати<sup>9</sup>. Предпазната мембрана е поставена в готовност и спирателният клапан е завинтен плътно.. Напълненият съд се премества до поддържащия пожарен стенд, предпазната мембрана най-отгоре следва да бъде поставена най-отгоре в подходящ армиран смукателен (вентилационен) шкаф или в камерата за изгаряне. Електроенергия се доставя чрез свързване на пожарния хидрант с външен източник и се пуска ток с големина 10 А. Времето между започването на смесването и включването към енергоизточник следва да не надвишава 10 мин. Сигналят, получаван чрез датчика за налягане, се записва от подходяща за целта система, която позволява едновременно оценяването и генерирането на траен запис на получения времеви контур на налягането (напр. свързани самопишещо и графично устройства). Сместа се нагрива, докато предпазната мембрана се пробие или докато изминат поне 60 секунди. Ако предпазната мембрана не се разкъса, сместа трябва да бъде оставена да се охлади, преди апаратурата внимателно да бъде демонтирана, като се вземат предпазни мерки срещу евентуално поставяне под налягане

<sup>7</sup> Смеси на окислителни с целулоза трябва да бъдат третирани като потенциално експлозивни и да се работи с тях с повишено внимание.

<sup>8</sup> На практика това може да се постигне чрез приготвяне на смес в съотношение 1:1 от течността за изпитване и целулоза в по-големи количества от нужно то за опита и прибавяне на  $5 \pm 0.1$  g в съда под налягане. Сместа трябва да се приготвя непосредствено при всеки отделен опит.

<sup>9</sup> По-специално, трябва да се избягва контакт между съседните намотки на спиралата.

Извършват се пет опита с изпитваното вещество и веществото(ата) за сравнение. Отчита се времето за повишаване на налягането от 690 kPa до 2 070 kPa над атмосферното налягане. Изчислява се средното време за повишаване на налягането. В някои случаи веществата могат да генерират повишено налягане (твърде високо или твърде ниско), получено в резултат на химични реакции, които не определят окислителните свойства на веществото.

В тези случаи може да се наложи изпитването да се повтори с инертно вещество, напр. диатомит (кизелгур), вместо целулоза, за да се изясни същността на реакцията.

## 2. ДАННИ И ОТЧИТАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

### 2.1 ДАННИ

Времето за повишаване на налягането за изпитваното вещество и вещество(а) за сравнение.

Времето за повишаване на налягането при изпитвания с инертно вещество, ако се извършат такива.

### 2.1 ИНТЕРПРЕТИРАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Изчисляват се средните времена за повишаване на налягането за изпитваното вещество и за веществото(ата) за сравнение. Изчислява се средното време за повишаване на налягането от изпитванията с инертно вещество (ако са провеждани такива).

Примери за някои резултати са представени в таблица 1.

Таблица 1

#### Примерни резултати (г)

Вещество (в)	Средно време за повишаване на налягането за смес 1:1 с целулоза
Амониев бихромат, наситен воден разтвор	20 800
Калциев нитрат, наситен воден разтвор	6 700
Железен нитрат, наситен воден разтвор	4 133
Литиев перхлорат, наситен воден разтвор	1 686
Магнезиев перхлорат, наситен воден разтвор	777
Никелов нитрат, наситен воден разтвор	6 250
Азотна киселина, 65%	4 767 (а)
Перхлорна киселина, 50%	121 (а)
Перхлорна киселина, 55%	59
Калиев нитрат, 30% воден разтвор	26 690

Сребърен нитрат, наситен воден разтвор	— (б)
Натриев хлорат, 40% воден разтвор	2 555 (а)
Натриев нитрат, 45% воден разтвор	4 133
<i>Инертно вещество</i> Вода/целулоза	— (б)

- а) Средна стойност от сравнителни опити на различни лаборатории
- б) Максималното налягане от 2 070 kPa не се достига
- в) Наситените разтвори се приготвят при 20 °С
- г) Виж препратка (1) за класификация по схемата на ООН за транспорт

### 3. ОТЧИТАНЕ

#### 3.1. ПРОТОКОЛ ОТ ИЗПИТВАНЕТО

Протоколът от изпитването следва да съдържа следната информация:

- идентичност, състав, чистота и т.н. на изпитваното вещество;
- концентрация на изпитваното вещество;
- процедура за сушене на използваната целулоза;
- съдържание на вода в използваната целулоза;
- резултати от измерванията;
- резултати от изпитванията с инертно вещество, ако има такива;
- изчислени средни стойности на времето за повишаване на налягането;
- всички отклонения от този метод и причините за тях;
- цялата допълнителна информация или бележки, свързани с интерпретирането на резултатите.

#### 3.2 ИНТЕРПРЕТИРАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ <sup>10</sup>

Резултатите от изпитването се оценяват въз основа на:

- а) това, дали сместа от изпитваното вещество и целулозата спонтанно се запалва; и
- б) сравнението между средното време, за което налягането се е повишило от 690 kPa до 2 070 kPa и това при веществото(ата) за сравнение.

Течно вещество се счита за окислител, когато:

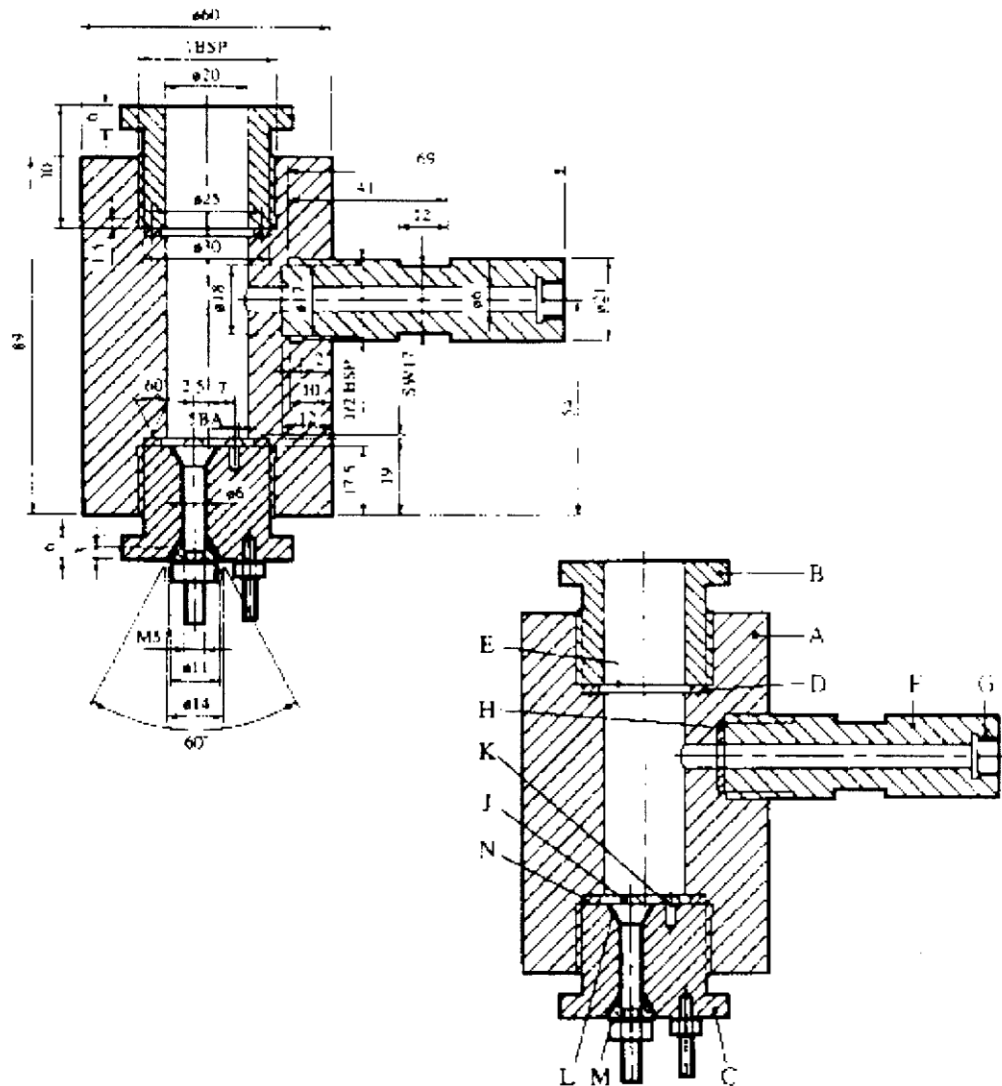
- а) смес в съотношение 1:1 от масата на веществото и на целулозата се самозапали спонтанно; или
- б) смес в съотношение 1:1 от масата на веществото и на целулозата покаже средно време за повишаване на налягането, по-малко или равно на средното време за повишаване на налягането на смес в съотношение 1:1 в масата на 65% (m/m) воден разтвор на азотна киселина и на целулоза. За да се избегнат неверни положителни резултати, ако е необходимо, резултатите, получени при изпитването на веществото с инертен материал също могат да се вземат под внимание при интерпретиране на резултатите.

<sup>10</sup> Виж препратка 1 за интерпретиране на резултатите, съгласно регулациите на ООН за транспорт с използването на няколко вещества за сравнение.

#### 4. ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА

(1) Препоръки при транспорт на опасни стоки, Ръководство за изпитвания и критерии. Трето преработено издание. Публикация на ООН №: ST/SG/AC.10/11/Rev. 3, 1999, страница 342. метод О.2: Изпитване на оксидиращи течности.

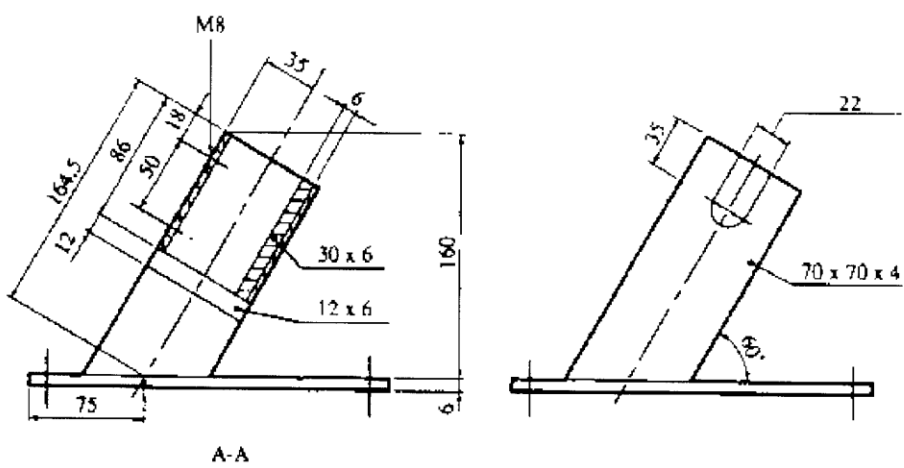
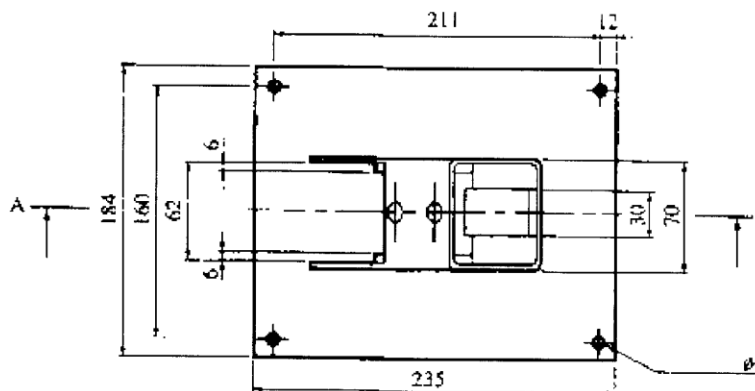
*Фигура 1*  
**Съд под налягане**



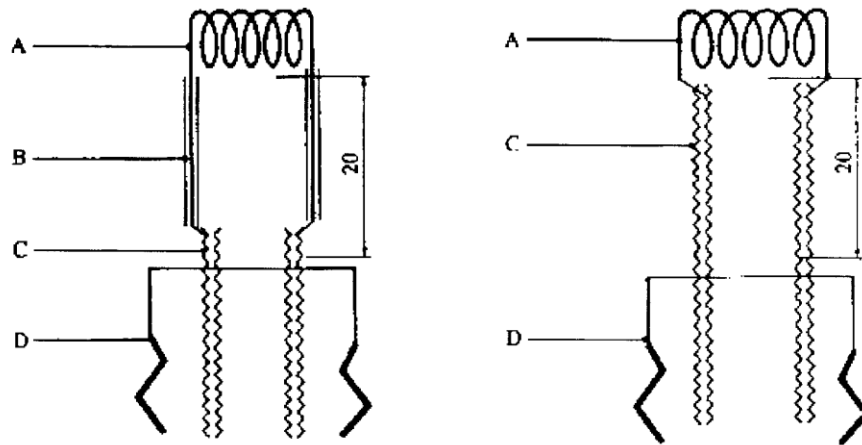
- (А) Тяло на съда под налягане
- (Б) Предпазна мембрана със спирателен клапан
- (В) Пожарен хидрант
- (Г) Мек оловен пръстен
- (Д) Предпазна мембрана
- (Е) Разклонение (коляно)
- (Ж) Глава на датчика за налягане
- (З) Шайба
- (И) Изолиран електрод
- (Й) Заземен електрод
- (К) Изолация
- (Л) Стоманен конус
- (М) Уплътнение на спираловидния канал



Фигура 2  
Поддържащ стенд



Фигура 3  
Система на запалване



- (A) Запалваща спирала
- (Б) Изолация
- (В) Електроди
- (Г) Пожарен хидрант

*Забележка: всяка от тези конфигурации може да бъде използвана*

## ПРИЛОЖЕНИЕ 2

### “A.21. ОКСИДИРАЩИ СВОЙСТВА (ТЕЧНОСТИ)

#### 2. МЕТОД

##### 2.1. ВЪВЕДЕНИЕ

Този метод за изпитване е предназначен за определяне възможността на течно вещество да повишава степента си на изгаряне или на интензивността на запалимите вещества, които могат спонтанно да се възпламенят при пълно смесване на две от тях. Той се основава на метода на ООН за оксидиращи течности (1) и е еквивалентен на него. Въпреки това обаче, тъй като този метод A.21 е предназначен преди всичко да задоволи изискванията на директива 67/548, се изисква да се направи сравнение с поне едно вещество за сравнение. Може да се наложи провеждането на допълнителни изпитвания и сравнения с други вещества за сравнение, когато се очаква резултатите от изпитването да бъдат използвани за други цели (1).

Този метод не може да бъде използван, когато проучването на структурната формула несъмнено установи, че веществото не може да реагира екзотермично със запалим материал.

Полезно би било, преди провеждане на изпитването, да се разполага с предварителна информация за евентуалните експлозивни свойства на веществото.

Този метод не може да бъде приложен за твърди вещества, газове, експлозивни или силно запалими вещества, или органични пероксиди.

Не е необходимо провеждането на това изпитване, когато вече има налични резултати за изпитваното вещество по метода на ООН за оксидиращи течности (1).

## 2.2. ОПРЕДЕЛЕНИЯ И МЕРНИ ЕДИНИЦИ

**Средно време за повишаване на налягането** е средноаритметичната стойност от измерените времена, за които изпитваната смес предизвиква повишаване на налягането от 690 kPa до 2 070 kPa над атмосферното налягане.

## 2.3. ВЕЩЕСТВА ЗА СРАВНЕНИЕ

Като вещество за сравнение (2) се използва воден разтвор 65 тегл.% (мас/мас) на азотна киселина (х.ч.а.). В случаите, когато лицето, провеждащо изпитването предполага, че резултатите от това изпитване може да бъдат използвани за други цели, може също да се проведе едно изпитване с други допълнителни вещества за сравнение (3).

## 2.4. ПРИНЦИП НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

### 2.5.

Течността, която ще бъде изпитвана, се смесва в тегловно съотношение 1:1 с фибриларна (нишковидна) целулоза и се вкарва в съд (реактор) под налягане. Ако по време на смесването или при въвеждането ѝ в реактора възникне спонтанно запалване, не е необходимо по-нататъшно изпитване. Ако не възникне спонтанно запалване по време на провеждане на изпитването, сместа се нагрява в съда под налягане, докато налягането не нарасне от 690 kPa до 2 070 kPa над атмосферното налягане, и се отчита средното време за повишаване на налягането. То се сравнява със средното време за повишаване на налягането на смес в съотношение 1:1 на вещество(а) за сравнение и целулоза.

- (1) Така например, в рамката на регулациите на ООН, свързани с транспорта.  
(2) Киселината трябва да се титрува, за да се установи нейната концентрация.  
(3) Напр.: В сравнение 1 се използват 50 мас.% (m/m) перхлорна киселина и 40 мас.% (m/m) натриев хлорат.

## 2.6. КРИТЕРИИ ЗА КАЧЕСТВО

В серии от по пет опита за едно вещество не трябва резултатите да се различават с повече от 30% от аритметичната стойност. Резултати, които се различават с повече от 30% от стойността, се пренебрегват, процедурите по смесване и напълване се оптимизират и изпитването се повтаря.

## 2.7. ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

### 1.6.1 Подготвяне

#### 1.6.1.1 Запалими вещества

Като запалим материал се използва изсушена фибриларна целулоза с нишки с дължина между 50 и 250  $\mu\text{m}$  и среден диаметър 25  $\mu\text{m}$  (4). Материалът се суши до достигане постоянно тегло на слоя с дебелина, не повече от 25 mm, при 105 °C в продължение на 4 часа и се оставя в сушилня в присъствие на консервант, докато изстине и стане подходящ за използване. Съдържанието на вода в сухия остатък целулоза (в проба) не трябва да надвишава 0,5% сухо тегло (5). Ако е необходимо времето на сушене се удължава до постигане на тези параметри (6). По време на експеримента трябва да се използва целулоза от една проба.

### 1.6.1.2 Апаратура

#### 1.6.1.2.1 Съд под налягане

Изисква се съд под налягане. Съдът представлява цилиндричен стоманен съд под налягане с дължина 89 mm и 60 mm външен диаметър (виж фигура 1). Двете плоскости/ части са свързани с противоположните си страни (намаляйки напречното сечение/ профила на съда до 50 mm), за да се подобри прикрепането, докато се монтират пожарния хидрант и пробката с вентилационния отвор. Съдът, който има отвор с диаметър 20 mm, е вътрешно вдълбан във всеки край до такава дебелина, че там да бъде поставена 1" тръба по Британски стандарт (BSP) или метричен еквивалент.

Приспособлението за повишаване на налягането, в разклонението (коляното), е завинтено към извивката на съда под налягане на 35 mm от едния край и е на 90° спрямо механично обработените повърхности. Вдълбнатината за него е с дълбочина 12 mm и е вътрешно резбована, за да приеме 1/2" BSP (или метричен еквивалент) външно резбования край на разклонението. Ако е необходимо, се използва инертно уплътнение, за да се осигури неподвижна газонепропусклива свързка. Разклонението продължава 55 mm след тялото на съда под налягане и има 6 mm отвор. Краят на разклонението е вжлебен и е предназначен да приеме датчика за налягане във вид на диафрагма. За измерване на налягането може да бъде използван всякакъв уред, при условие, че не може да бъде повлиян от горещи газове или разграждащи се продукти и може да отговори на повишавашото се налягане в интервала 690-2 070 kPa в рамките на не повече от 5 ms.

Най-отдалеченият от разклонението край на съда под налягане е близо до пожарния хидрант, който е свързан с два електрода- единият изолиран от, а другият заземен към тялото на хидранта. Другият край на съда под налягане е близо до предпазната мембрана (предпазваща от налягане приблизително 2 200 kPa), здраво неподвижно закрепена за спирателния клапан, който има 20 mm отвор. Ако е необходимо, се използва уплътнение от инертен материал с пожарния хидрант, за да се осигури непрпусклива за газове неподвижна сглобка. Поддържащ стенд (фигура 2) поддържа апаратурата на подходящата височина през периода на използването ѝ. Обикновено той се състои от мека стоманена плоска основа с размери 235 mm x 184 mm x 6 mm и 185 mm дълга квадратна куха част (S.H.S.) 70 mm x 70 mm x 4 mm. Частта е скосена от всяка от двете срещуположни страни в единия край по дължината на S.H.S., така че структурата има две допълнителни

плоски подпори, надхвърлящи с 86 mm дължината на цялата част, в която се събират резултатите. Краищата на тези плоски подпори са прорязани под ъгъл 60° към хоризонтала и са заварени към повърхността на основата. Прорезът с размери 22 mm ширина x 46 mm дълбочина се обработва от едната страна на по-горния край на основната част, така че монтираният съд под налягане да е по-надолу, пожарният хидрант да спре първи, в частта, поддържаща кутията, а коляното е разположено в прореза. Стоманен детайл 30 mm широк и 6 mm дебел е заварен към по-ниската вътрешна повърхност на кутията и действа като дистанционен елемент (раздалечител). Два 7 mm винта с крилчати глави, поставени на срещуположната повърхност, задържат неподвижен на място съда под налягане. Две 12 mm широки шини от стомана с дебелина 6 mm, заварени към стената на детайлите, допиращи се към основата на кутията, поддържат отдолу съда под налягане.

(4) напр. Хроматографска колона на Whatman с целулоза на прах CF 11, каталог № 4021 050

(5) Потвърдено чрез (напр.) титруване по Карл-Фишер

(6) Алтернативно, това водно съдържание може да бъде постигнато (напр.) чрез нагриване при 105 °C под вакуум в продължение на 24 h

#### 1.6.1.2.2 Система за запалване

Системата за запалване се състои от 25 cm дълга Ni/ Сг жица с диаметър 0,6 mm и съпротивление 3,85 ohm/m. Жицата се намотава, чрез използване на пръчка с диаметър 5 mm, под формата на серпентина и се прибавя към електродите на пожарния хидрант. Серпентината трябва да има формата на някоя от конфигурациите, показани на фигура 3. Разстоянието между дъното на съда и долната повърхност на запалващата серпентина трябва да бъде 20 mm. Ако електродите не са подвижни, краищата на запалващата жица между серпентината и дъното на съда трябва да бъдат изолирани с керамична обвивка. Жицата се загрева чрез постоянен електроизточник, осигуряващ поне 10 A ток.

#### 1.6.2 Извършване на изпитването (7)

Апаратурата, напълно сглобена с датчик за налягане и нагриваща система, но без позиционирана предпазна мембрана, се поддържа от пожарен хидрант в долния край. 2,5 g от изпитваната течност се смесват с 2,5 g изсушена целулоза в стъклена чаша, чрез използване на стъклена пръчка за разбъркване (8). За осигуряване на безопасност, смесването трябва да бъде извършвано в камина (зад екран, осигуряващ безопасност), разделяща оператора и сместа. Ако сместа се запали по време на смесването или разбъркването, не е необходимо провеждането на изпитването до край. Сместа се вкарва на малки порции в съда под налягане, като се уверите, че сместа се натрупва около изгарящата серпентина и прави добър контакт с нея. Важно е серпентината да не се изкриви по време на процеса на натрупване, тъй като това може да доведе до погрешни резултати (9). Предпазната мембрана е поставена в готовност и спирателния клапан е плътно притиснат. Напълненият съд се премества до поддържащия пожарен стенд, предпазната мембрана най-отгоре трябва да бъде поставена в подходящ армиран смукателен

(вентилационен) шкаф или в камерата за изгаряне. Енергия се доставя чрез свързване на пожарния хидрант с външен източник и се пуска ток с големина 10 А. Времето между започването на смесването и включването към енергоизточник не трябва да превишава 10 мин. Сигналят, получаван чрез датчика за налягане, се записва от подходяща за целта система, която позволява едновременно оценяването и генерирането на траен запис на получавания профил на времето и налягането (напр. свързани самопишещо и графично устройства). Сместа се нагрива, докато предпазната мембрана се разкъса/ спуска или докато изминат поне 60 s. Ако предпазната мембрана не се разкъса, сместа трябва да бъде оставена да се охлади, преди апаратурата внимателно да бъде демонтирана, като се вземат предпазни мерки срещу евентуална херметизация.

Извършват се пет опита с изпитваното вещество и веществото(ата) за сравнение. Отчита се времето за повишаване на налягането от 690 kPa до 2 070 kPa над атмосферното налягане. Изчислява се средното време за повишаване на налягането. В някои случаи веществата могат да генерират повишено налягане (твърде високо или твърде ниско), получено в резултат на химични реакции, не определящи окислителните свойства на веществото.

В тези случаи може да се наложи изпитването да се повтори с инертно вещество, напр. диатомит (кизелгур), вместо целулоза, за да се изясни природата/ вида на реакцията.

## 2. ДАННИ И ОТЧИТАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

### 2.2 ДАННИ

Времената за повишаване на налягането за изпитваното вещество и вещество(а) за сравнение.

Времената за повишаване на налягането при изпитвания с инертно вещество, ако се извършат такива.

### 2.1 ИНТЕРПРЕТИРАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Изчисляват се средните времена за повишаване на налягането за изпитваното вещество и за веществото(ата) за сравнение. Изчислява се средното време за повишаване на налягането от изпитванията с инертно вещество (ако са провеждани такива).

(7) Смеси на окислителители с целулоза трябва да бъдат третирани като потенциално експлозивни и да се работи с тях с повишено внимание.

(8) На практика това може да се постигне чрез приготвяне на смес в съотношение 1:1 от течността, която ще бъде изпитвана и целулоза в по-големи количества от нужното за опита и прибавяне на  $5 \pm 0,1$  g в съда под налягане. Сместа трябва да бъде прясно приготвена за всеки опит.

(9) По-специално, контактът между съседните намотки на серпентината трябва да бъде избегнат.

Резултатите от няколко примера са представени в таблица 1.

Таблица 1

Примерни резултати (г)

Вещество (в)	Средно време за повишаване на налягането за смес 1:1 с целулоза
Амониев дихлорат, наситен воден разтвор	20 800
Калциев нитрат, наситен воден разтвор	6 700
Железен нитрат, наситен воден разтвор	4 133
Литиев перхлорат, наситен воден разтвор	1 686
Магнезиев перхлорат, наситен воден разтвор	777
Никелов нитрат, наситен воден разтвор	6 250
Азотна киселина, 65%	4 767 (а)
Перхлорна киселина, 50%	121 (а)
Перхлорна киселина, 55%	59
Калиев нитрат, 30% воден разтвор	26 690
Сребърен нитрат наситен воден разтвор	— (б)
Натриев хлорат, 40% воден разтвор	2 555 (а)
Sodium nitrate, 45% воден разтвор	4 133
<i>Инертно вещество</i> Вода.целулоза	— (б)

(а) Средна стойност от сравнителни опити на различни лаборатории

(б) Максималното налягане от 2 070 kPa не се достига

(в) Наситените разтвори се приготвят при 20 °С

(г) Виж препратка (1) за класификация по схемата на ООН за транспорт

#### 4. ОТЧИТАНЕ

##### 3.1. ПРОТОКОЛ ОТ ИЗПИТВАНЕТО

Протоколът от изпитването трябва да съдържа следната информация:

- идентичност, състав, чистота и т.н. на изпитваното вещество;
- концентрация на изпитваното вещество;
- процедура за сушене на използваната целулоза;
- съдържание на вода в използваната целулоза;
- резултати от измерванията;
- резултати от изпитванията с инертно вещество, ако има такива;
- изчислените средни времена за повишаване на налягането;
- всички отклонения от този метод и причините за тях;
- цялата допълнителна информация или бележки, свързани с интерпретирането на резултатите.

##### 3.2 ИНТЕРПРЕТИРАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ (10)

Резултатите от изпитването се оценяват, въз основа на:

- (а) това, дали сместа от изпитваното вещество и целулозата спонтанно се запалва; и
- (б) сравнението между средното време, за което налягането се е повишило от 690 kPa до 2 070 kPa с това на веществото(ата) за сравнение.

Течно вещество се счита за окислител, когато:

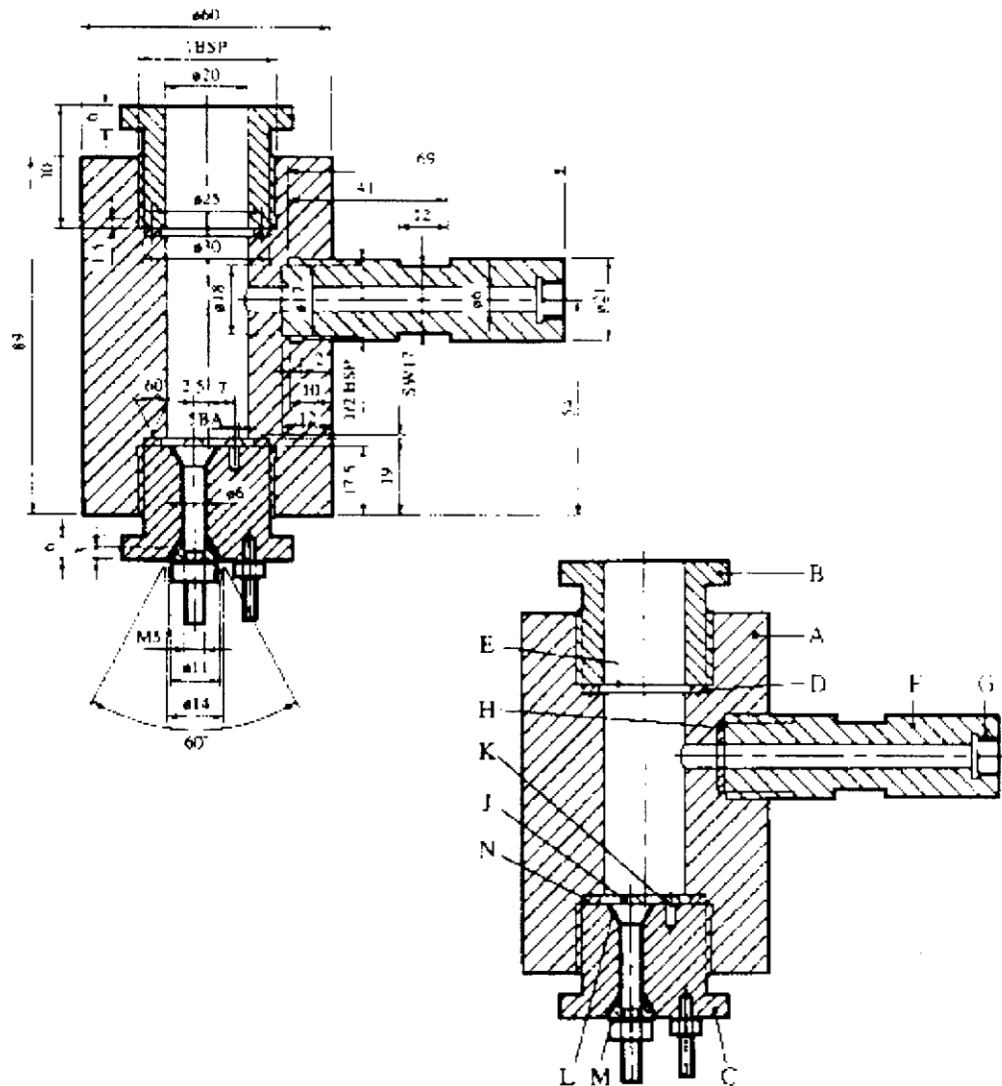
- (а) тегловната смес 1:1 на веществото и целулоза се самозапали спонтанно; или
- (б) тегловната смес 1:1 на веществото и целулозата покаже средно време за повишаване на налягането, по-малко или равно на средното време за повишаване на налягането на тегловна смес 1:1 на 65% (m/m) воден разтвор на азотна киселина и целулоза. За да се избегне допускането на неверни положителни резултати, ако е необходимо, резултатите се отчитат тогава, когато изпитването на веществото с инертен материал също може да отчетено при интерпретиране на резултатите.

#### **4. ПРЕПРАТКИ/ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА**

- (1) Препоръки за транспорт на опасни стоки, Ръководство за изпитвания и критерии. Трето ревизирано издание. Публикация на ООН №: ST/SG/AC.10/11/Rev. 3, 1999, страница 342. метод О.2: Изпитване на оксидиращи течности.
- (10) Виж препратка 1 за интерпретиране на резултатите, съгласно регулациите на ООН за транспорт с използването на няколко вещества за сравнение.

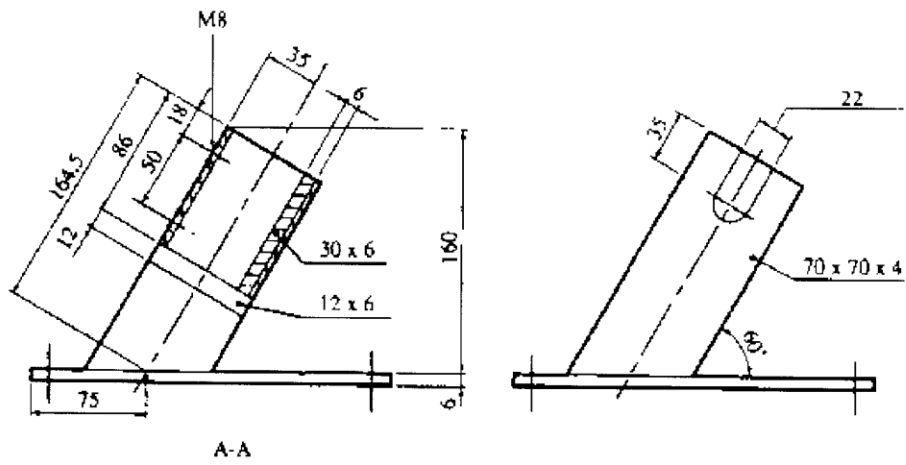
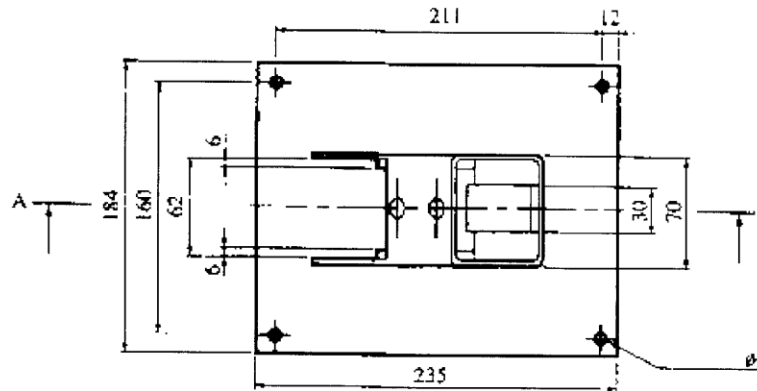
*Фигура 1*  
**Съд под налягане**



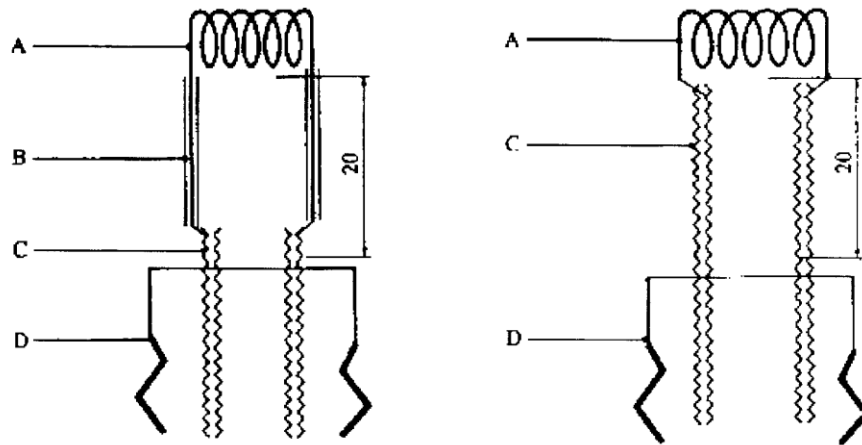


- (A) Тяло на съда под налягане
- (B) Предпазна мембрана със спирателен клапан
- (C) Пожарен хидрант
- (D) Мек/ гъвкав оловен пръстен
- (E) Предпазна мембрана
- (F) Разклонение (коляно)
- (G) Глава на датчика за налягане
- (H) Шайба
- (J) Изолиран електрод
- (K) Заземен електрод
- (L) Изолация
- (M) Стоманен конус
- (N) Уплътнение на спираловидния канал

Фигура 2  
Поддържащ стенд



Фигура 3  
Система на запалване



- (C) Запалваща серпентина
- (D) Изолация
- (E) Електроди
- (F) Пожарен хидрант

*Забележка: всяка от тези конфигурации може да бъде използвана*

## ПРИЛОЖЕНИЕ 2Б

### Б.1 bis. ОСТРА ОРАЛНА ТОКСИЧНОСТ- ПРОЦЕДУРА С ФИКСИРАНИ ДОЗИ

#### 1. МЕТОД

Този метод за изпитване е еквивалентен на OECD TG 420 (2001)

#### ВЪВЕДЕНИЕ

При традиционните методи за оценяване на остра токсичност като краен резултат се достига до смърт на използваните животни. През 1984 г., бе предложен нов подход за тестване на остра токсичност от Британското токсикологично дружество, основаващ се на определяне на поредица от нива с фиксирани дози (1) . При този подход се избягва смъртта на животните в края на експериментите и се разчита изцяло на наблюдението за ясни признаци за токсичност във всяка поредица от нива с фиксирани дози . След направените в Обединеното кралство (2) и международните (3) изследвания *in vivo* за утвърждаване, процедурата бе одобрена като метод за изпитване през 1992 г. Впоследствие, статистическите възможности на процедурата с фиксирани дози са оценена чрез използването на математически модели в поредица от изследвания (4)(5)(6). Едновременно, изследванията *in vivo* и тези чрез създаване на модели показват, че процедурата е репродуктивна, използва по-малко животни и причинява по-малко страдание от традиционните методи и дава възможност да се категоризират веществата по начин, подобен на този при другите методи за изпитване на остра токсичност.

Насоки за избор на най-подходящия метод за изследване с определена цел могат да бъдат намерени в Ръководството за провеждане на изследвания на остра орална токсичност (7). Това ръководство също съдържа допълнителна информация за провеждането и интерпретирането на метода за изследване Б.1bis.

В този метод по принцип се използват само дози с умерена токсичност и следва да се избягва прилагането на дози, за които се очаква да са летални. Така също дози, за които е известно, че могат да причинят болка и страдание, поради корозивни или силно дразнещи въздействия, не следва да бъдат прилагани. Умиращи животни или животни, очевидно изпитващи болка или показващи признаци на дълбоко и продължително страдание се убиват по хуманен начин, и се вземат предвид при интерпретирането на резултатите по същия начин, както животните, умряли по време на експеримента.

Критериите за вземане на решение да бъде убито, умиращо или дълбоко страдащо животно и насоките за разпознаване на предвидима или предстояща смърт са предмет на отделно ръководство (8).

Методът осигурява информация за опасните свойства и позволява веществото да бъде категоризирано и класифицирано, съгласно Глобалната система за харманизиране (GHS) на класификацията на химически вещества, които причиняват остра токсичност (9). Лабораториите за изпитване следва да вземат предвид цялата налична информация за изпитваното вещество преди провеждане

на експеримента. Такава информация включва идентичност и химична структура на веществото; неговите физикохимични свойства; резултатите от всякакви други *in vitro* или *in vivo* токсикологични изпитвания на веществото; токсикологични данни за структурно близки вещества и очаквана употреба(и) на веществото. Тази информация е необходима, за да се удостовери напълно, че това изпитване е свързано със защитата на човешкото здраве и ще бъде от полза при избора на подходяща начална доза.

## ОПРЕДЕЛЕНИЯ

**Остра орална токсичност:** отнася се до онези вредни ефекти, които се появяват в резултат на орален прием на еднократна доза вещество или многократни дози, давани в рамките на 24 часа.

**Бавна смърт:** означава, че животното не умира или не се проявят признаци, че умира в рамките на 48 часа, но умира по-късно през 14-дневния период на наблюдения.

**Доза:** е количеството на приетото вещество за тестване. Дозата се изразява като маса на тестваното вещество за единица тегло на изследваното животно (напр. mg/kg).

**Доказана токсичност:** е общоприет термин, описващ ясните признаци на токсичност, вследствие на приемане на изпитваното вещество (виж (3) например), такова че при приемане на следваща най-висока фиксирана доза, могат да бъдат очаквани всякакви признаци на дълбока болка и продължителни дълбоки страдания, терминално състояние (критериите са представени в Ръководството за хуманен край (8)), или вероятна смърт на повечето животни.

**GHS:** Глобална система за хармонизиране на класификацията на химични вещества и смеси. Съвместна дейност на Организацията за икономическо сътрудничество и развитие (OECD) (човешко здраве и околна среда), Комитета на ООН от експерти в областта на транспортирането на опасни стоки (физико-химични свойства) и Международната организация по труда (ILO) (опасни комуникации) и координирана чрез Междурегистраторната Програма за правилно управление на химикалите (IOMC).

**Неизбежна смърт:** когато животното умира или се очаква настъпването на смъртта преди следващото планирано време за наблюдение. Признаците, които показват това състояние при гризачите могат да включват конвулсии, латерално (странично) положение, лежане/ отпуснатост и треперене. (Виж Ръководството за хуманен край (8) за повече подробности).

**LD50 (средна летална доза):** е статистически получена еднократна доза на вещество, за което може да се очаква, че ще причини смърт при 50% от животните, когато бъде въведено в тях по орален път. Стойността LD50 се изразява за определени периоди като масата на изпитваното вещество за единица тегло на изследваното животно (mg/kg).

**Ограничена доза:** отнася се до доза, при която има по-високо ограничаване при изследването (2 000 или 5 000 mg/kg).

**Настъпване на смърт:** оставане в терминално състояние или неспособност да оцелее, дори ако се приложи лечение. (Виж Ръководството за хуманен край (8) за повече подробности).

**Предсказуема смърт:** присъствие на клинични признаци, които показват, че ще настъпи смърт в един предстоящ период от време преди планирания край на експеримента, например: неспособност да се достигне вода или храна. (Виж Ръководството за хуманен край (8) за повече подробности).

### 1.3 ПРИНЦИП НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

Групи животни от един и същ пол са дозирани чрез прилагане на поетапна процедура чрез използване на фиксирани дози от 5, 50, 300 и 2 000 mg/kg (по изключение може да бъде приложена допълнителна фиксирана доза от 5 000 mg/kg, виж точка 1.6.2). Нивото на началната доза е определено въз основа на зрителни изследвания, като се очаква дозата да предизвика някои признаци на токсичност, без да причинява дълбоки токсични ефекти или смърт. Клиничните признаци и условията, свързани с болка, страдание и неизбежна смърт са подробно описани в отделно ръководство на OECD (8). Следващи групи животни могат да бъдат дозирани с по-високи или по-ниски фиксирани дози, в зависимост от присъствието или отсъствието на признаци за отравяне или смърт. Тази процедура продължава до достигане на дозата, причиняваща доказана токсичност или дотогава, докато бъде идентифицирана смъртта на животното, или не се наблюдават ефекти при най- високата доза или когато се появят смъртни случаи при най- ниската доза.

### 1.4 ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

#### 1.4.1 Избор на животински видове

Предпочитаният вид от групата на гризачите е плъх, въпреки че и други видове ризачи могат да бъдат използвани. Обикновено се използват животни от женски пол (7). Причина за това е, че изследванията в научната литература от конвенционални изпитвания на LD50 показват, че обикновено има малка разлика в междуполовата сетивност, но в случаите, при които се наблюдават различия, женските индивиди като цяло са малко по- чувствителни (10). Въпреки това, ако познанията за токсикологичните и токсикокинетичните свойства на структурно близки химикали показват, че има вероятност мъжките индивиди да са по-чувствителни от женските, тогава се използват екземпляри от този пол. Когато изпитването се провежда върху мъжки индивиди, трябва да бъде предоставено адекватно обяснение за това. Обикновено в лабораторните опитни постановки следва да се използват здрави младиполово зрели животни.

Женските индивиди следва да не са раждали и да не са бременни. Всяко животно, при започване на дозирането му, следва да бъде на възраст между 8 и 12 седмици и теглото му да попада в интервала  $\pm 20\%$  от средното тегло на всички предварително дозирани животни.

#### 1.4.2 Условия за отглеждане и хранене

Температурата в стаята на опитните животни следва да бъде 22° С ( $\pm$  3° С). Въпреки че относителната влажност следва да бъде поне 30% и е препоръчително тя да не надвишава 70%, освен при почистване на стаята, целта е да се постигне 50-60% относителна влажност. Светлината следва да бъде изкуствена, с редуващи се 12 часа светъл период, 12 часа тъмен период. За хранене могат да бъдат използвани конвенционалните лабораторни диети с неограничен достъп до питейна вода. Животните могат да бъдат групирани в клетките по доза, но броят на животните в клетка не трябва да е възпрепятствава точните наблюдения на всяко животно.

#### **1.4.3 Подготовка на животните**

Животните са произволно избрани, маркирани, за да е възможно индивидуалното им идентифициране и поставени в клетките си поне 5 дни преди започване на дозирането, за да се аклиматизират към лабораторните условия.

#### **1.4.4 Подготовка на дозите**

Най-общо изпитваните вещества трябва да бъдат приемани в постоянен обем в обхвата на дозите, които се изпитват чрез вариране в концентрацията на дозирания препарат. Когато крайния продукт, който трябва да бъде изпитван е под формата на течност или смес обаче, за последващата оценка на риска от това вещество може да бъде по-подходящо изпитваното вещество да се употребява неразредено, т.е. при постоянна концентрация, което е и изискване от страна на някои регулаторни органи. Във всеки случай, обемът на максималната доза за администриране не трябва да бъде завишаван. Максималният обем на течността, която може да бъде прета наведнъж зависи от размера на изследваното животно. При гризачи, обикновено обемът не надвишава 1 ml/ 100g телесно тегло: обаче в случай на водни разтвори може да се приемат 2 ml/ 100g телесно тегло. Във връзка с изготвянето на дозирани препарати, се препоръчва, където е възможно, да се използва воден разтвор/ суспензия/ емулсия, следван първо от разтвор/ суспензия/ емулсия в масло (напр. царевично масло) и след това по възможност от разтвор при други разтворители. Трябва да се знаят токсикологичните характеристики на разтворителите, с изключение на водата. Дозите трябва да бъдат приготвяни скоро преди приемането им, освен когато е известно и доказано, че препаратът ще остане стабилен и в добро състояние през времето, в който ще бъде използван.

### **1.5 ПРОЦЕДУРА**

#### **1.5.1 Приемане на дозите**

Изпитваното вещество се приема на еднократни дози, чрез изкуствено хранене, в стомашния тръбопровод или чрез подходяща интубационна канюла. При извънредни обстоятелства, при които приемането на еднократна доза не е възможно, дозата може да бъде давана на по-малки части през период, който не може да превишава 24 часа. Преди дозирането животното следва да бъдат поставени на ограничен режим на хранене за известно време (напр. на плъхове, следва да не се

дава храна, но не и вода през нощта преди експеримента; на мишки, в продължение на 3- 4 часа следва да не се предоставя храна, но не и вода). След периода на "постене", животните трябва да бъдат претеглени и изпитваното вещество приложено. След като веществото бъде прието, може да не се предоставя храна в следващите 3- 4 часа при плъхове или 1- 2 часа при мишки. Когато дозата се приема на части, в определен период от време, може да се наложи да се осигури храна и вода на животните, в зависимост от продължителността на периода.

### 1.5.2 Зрително изследване

Целта на зрителното изследване е да подпомогне изборът на подходящата начална доза за основното изследване. Изпитваното вещество се приема от отделните животни последователно, по начина, показан на графичните алгоритми в приложение 1. Зрителното изследване приключва, когато може да бъде взето решение за първоначалната доза в основното изследване (или ако смъртта е настъпила при най- ниската фиксирана доза).

Началната доза за зрителното изследване се избира от нивата на фиксираната доза: 5, 50, 300 и 2 000 mg/kg. Като основа се взема дозата, при която се очаква проява на доказана токсичност, когато е възможно, на база доказателство от *in vivo* и *in vitro* данни за същия химикал или за структурно близки химикали. При липсата на такава информация, началната доза ще бъде 300 mg/kg. Ще трябва да има поне 24 часов период Между дозирането на всяко животно се оставя 24 часов период от време. Всички животни следва да бъдат наблюдавани поне 14 дни.

По изключение и само когато е оправдано от определени регулаторни нужди, може да бъде приложена допълнителна фиксирана доза с по-високо ниво 5 000 mg/ kg (виж приложение 3). По причини, свързани с хуманното отношение към животните, изследването на животни в категория 5 на GHS в обхвата 2 000- 5 000 mg/ kg е нежелателно и следва да се има предвид, само когато съществува голяма вероятност резултатите от такова изследване да имат практическо значение за опазване здравето на хората или животните, или околната среда. В случаите, когато животното, изследвано при най- ниското ниво с фиксирана доза (5mg/kg) при провеждане на зрителното изследване умре при нормалната процедура изследването приключва и веществото се отнася към категория 1 на GHS (както е показано в приложение 1). Обаче, ако се изисква последващо потвърждаване на класифицирането, може да се предвиди евентуална допълнителна процедура, както следва. Второ животно се дозира с 5mg/kg. Ако и второто животно умре, тогава категория 1 в GHS се потвърждава и изследването ще бъде незабавно се прекратява. Ако второто животно оцелее, тогава максимум три допълнителни животни биват дозирани с по 5mg/kg. Тъй като ще съществува висок риск от смъртност, тези животни следва да бъдат дозирани по начин, целящ опазване хуманното отношение към животните. Времевият интервал между дозирането на всяко животно, следва да бъде достатъчен, за да се установи, че предишното животно вероятно ще оцелее. Ако се установи втора смърт, дозирането следва да бъде незабавно преустановено и следващите животни не се дозират. Заради появата на втори смъртен случай (независимо от броя на изследваните животни в периода на приключването), попадащ в резултат А (2 или повече смъртни случая), следва



правилото за класифициране на приложение 2 при 5 mg/ kg фиксирана доза (категория 1, ако има 2 или повече смъртни случая или категория 2, ако няма повече от 1 смъртен случай). Освен това, приложение 4 дава насоки за класифициране по системата на ЕС, докато бъде въведена новата система GHS.

### 1.5.3 Основно изпитване

#### 1.5.3.1 Брой животни и нива на дозиране

След изпитване с началното ниво на дозиране, действието което трябва да бсе извърши е показано чрез графичния алгоритъм в приложение 2. Изисква изпълнението на едно от следните действия: да се прекрати всяко изпитване и да се определи, след класифициране, подходящия клас на опасност; да се проведе изпитване при по- висока фиксирана доза или изпитване при по- ниска фиксирана доза. Въпреки това, за защита на животните, нивото на дозата, причинила смърт при зрителното изследване няма да бъде повторена при основното изследване (виж приложение 2). Опитът показва, че най-вероятният резултат при нивото на началната доза е, че веществото може да бъде класифицирано и не е необходимо по-нататъшно изследване. Обикновено се използват общо пет животни от един и същ пол при всяко изследвано ниво на дозата. Едно от петте животни, което е било използвано при зрителното изследване, се дозира заедно с четирите останали животни (освен, по изключение, ако използваното ниво на дозата при основното изследване не е било включено в зрителното изследване).

Интервалът от време между дозирането на всяко ниво се определя от началото, продължителността и остротата на токсичните признаци. Третирането на животните със следваща доза следва да бъде забавено, докато се докаже, че животните, приели определената доза по-рано ще оцелеят. Препоръчва се да има период от 3 или 4 дни между дозирането на всяко ниво, ако е нужно, за да има възможност за наблюдения върху забавената токсичност. При необходимост, времевият интервал може да бъде регулиран, напр. в случай на незавършен отговор. Когато се обмисля прилагането на по- висока фиксирана доза 5 000 mg/ kg, следва се процедурата, представена в приложение 3 (виж също раздел 1.6.2).

#### 1.5.3.2 Ограничено изпитване

Ограниченото изпитване се използва предимно в случаите, при които експериментаторът разполага с информация, съгласно която изпитвания материал по всяка вероятност не е токсичен, т.е. проявява токсичност само над нормативно ограничените дози. Информация за токсичността на изпитвания материал може да бъде събрана от познания за подобни тествани съединения или подобни тествани смеси или продукти, като се вземат предвид идентичността и процентното съдържание на съединенията, за които е известно, че са токсикологически значими. В случаите, когато има малко или няма информация за неговата токсикология или при които се очаква изпитвания материал да бъде токсичен, трябва да бъде проведено основното изследване. Прилага се нормалната процедура, като началната доза при зрително изследване е 2 000 mg/ kg (или по изключение 5 000

mg/ kg), последвана от дозиране на допълнителни четири животни на това ниво на ограниченото изпитване по това ръководство.

## 1.6 НАБЛЮДЕНИЯ

Животните се наблюдават индивидуално след поне еднократно дозиране през първите 30 минути, през първите 24 часа, с повишено внимание през първите 4 часа и ежедневно след това, през общо 14 дневен период от време, освен когато е необходимо да бъдат извадени от експеримента и убити по хуманен начин по причини, свързани с хуманното отношение към животните, или когато са намерени мъртви. Продължителността на наблюдението обаче следва да не бъде строго фиксирана. Тя следва да се определя въз основа на токсичните реакции, началното време и продължителността на периода за възстановяване и може да бъде увеличена, когато се счете за необходимо. Периодите от време, в които се появяват и изчезват признаците на токсичност са важни, особено ако има тенденция токсичните признаци да бъдат забавени (11). Всички наблюдения систематично се записват, с отделни записи, направени за всяко животно.

Допълнителни изследвания са необходими, ако животните продължат да показват признаци на токсичност. Наблюденията следва да включват промените в кожата и козината, очите и лигавиците, и също респираторната, циркулационната, автономната и централната нервна системи, соматомоторна активност и моделите на поведение. Следва да бъде обърнато внимание на наблюденията за треперене, конвулсии, слюноотделяне, диария, летаргия, сън и кома. Принципите и критериите, резюмирани в Ръководството за хуманен край следва да бъдат взети предвид (8). Животните, намерени в терминално състояние и животните, показващи дълбока болка или трайни признаци на дълбоко страдание, следва да бъдат хуманно убити. Когато животните са убити по хуманни причини или са намерени мъртви, следва да бъде записано времето на смъртта им, колкото е възможно по-точно.

### 1.6.1 Телесно тегло

Индивидуалното тегло на животните следва да бъде измервано в кратък интервал от време, преди приемането на изпитваното вещество и поне веднъж седмично след това. Промените в теглото следва да бъдат изчислявани и записвани. В края на експеримента оцелелите животни се претеглят и след това хуманно се убиват.

### 1.6.2 Патология

Всички изследвани животни (включително умрелите по време на експеримента или извадените от експеримента животни по причини, свързани с хуманното отношение към животните) следва да бъдат подложени на цялостна аутопсия. Всички цялостни патологични изменения във всяко животно следва да бъдат записани.

Микроскопските изследвания на органите показват доказателствата за цялостна патология при животните, оцелели 24 часа или повече след първоначалното дозиране и също могат да допринесат за получаването на полезна информация.

## 2. ДАННИ

Следва да бъдат осигурени индивидуални данни за всяко животно. Освен това, всички данни следва да бъдат обобщени в таблична форма, показваща броя на използваните животни във всяка от изследваните групи, броя на животните, показващи признаци за токсичност, броя на животните, намерени мъртви по време на изследването или убити по хуманни причини, времето на настъпване на смъртта при отделните животни, описание и развитие във времето на токсичните ефекти и обратимостта им, както и на заключенията от аутопсията.

## 3. ОТЧИТАНЕ

### 3.1 Протокол от изпитването

Протоколът от изпитването трябва да включва следната информация, по целесъобразност:

Тествано вещество:

— физична форма, чистота и, където е подходящо, физико-химични свойства (включително изомеризация);

— данни за идентичността, включително CAS номер.

Разтворител (ако има такъв):

— обосноваване на избора на разтворител, ако е различен от вода.

Изследвани животни:

— използвани видове/породи;

— микробиологично състояние на животните, когато е известно;

— брой, възраст и пол на животните (включително, при необходимост, обосноваване използването на мъжки индивиди вместо женски);

— водоизточник, условия за отглеждане, диета и т.н.;

Условия на експеримента:

— подробности за формулирането на изпитваното вещество, включително подробности за физичното състояние на приемания материал;

— подробности, свързани с приемането на изпитваното вещество, обеми на дозите и време на дозиране;

— подробности във връзка с качеството на храната и водата (включително вид/източник на диетата, водоизточник);

— обосновка на избора на началната доза.

Резултати:

— таблици/диаграми на получените данни и ниво на дозата за всяко животно (т.е. при които животното показва признаци на токсичност, включително смърт, природа, острота и продължителност на ефектите);

— таблици/ диаграми на телесното тегло и на измененията в него;

- индивидуални тегла на животните в деня на дозиране, през седмични интервали след това и по време на смъртта или убиване;
- дата и време на смъртта, ако умрат преди програмираното унищожаване;
- развитие във времето от първоначалното появяване на признаци за токсичност и дали са били обратими при всяко животно;
- заключения при аутопсията и хистопатологични заключения за всяко животно, ако има такива.

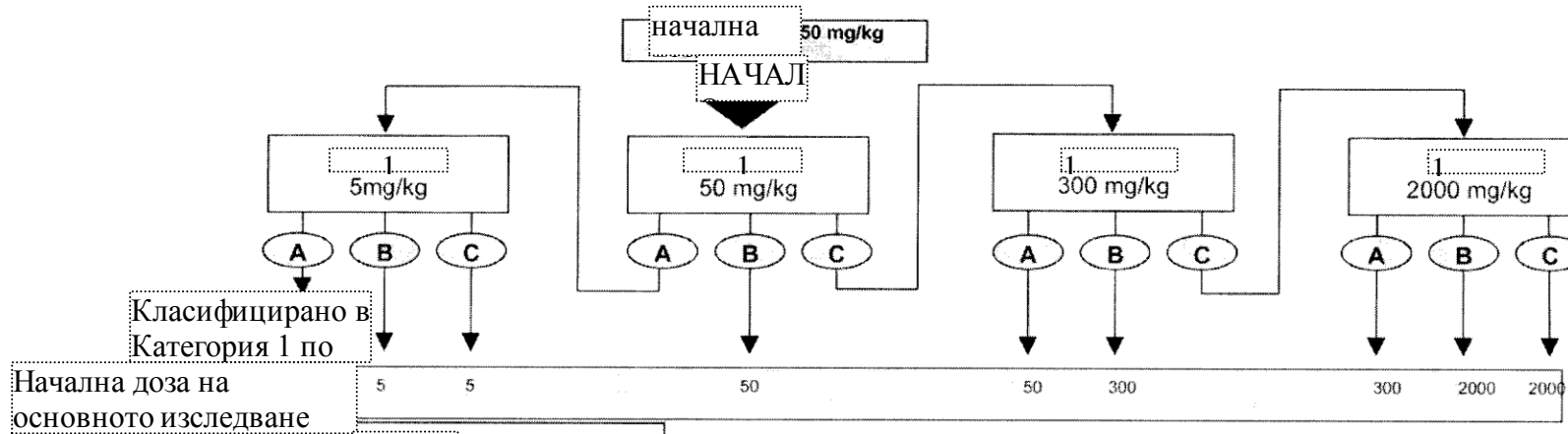
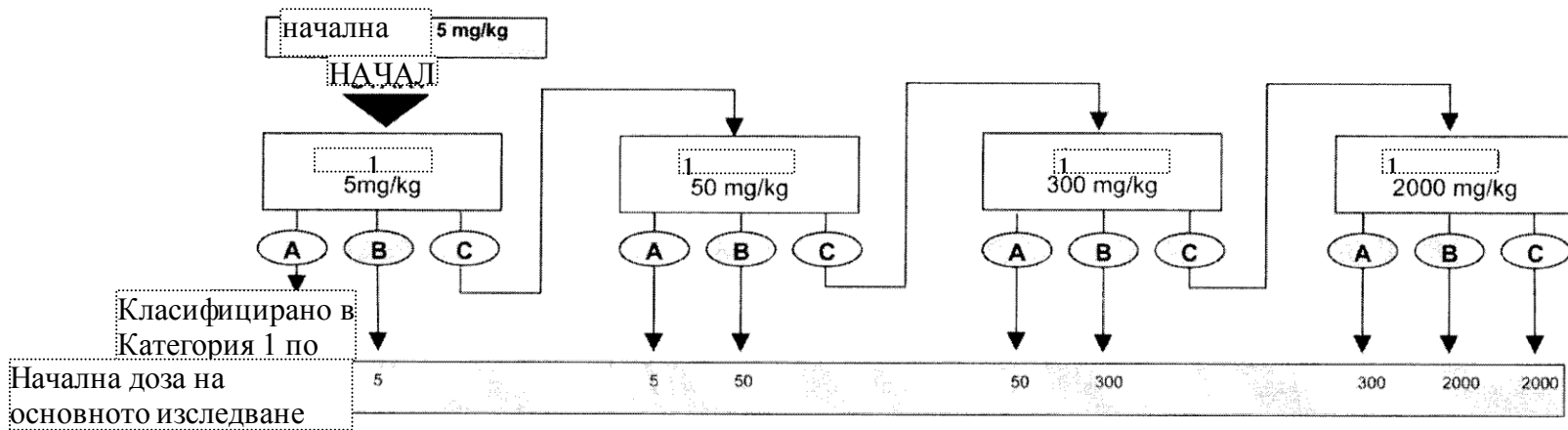
Дискусия и интерпретиране на резултатите.  
Заключения.

#### 4. ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА

- (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 LD50 test. *Fd. Chem. Toxicol.* 28, 469-482.
- (4) Whitehead, A. and Curnow, R.N. (1992). Statistical evaluation of the fixed-dose procedure. *Fd. Chem. Toxicol.*, 30, 313-324.
- (5) Stallard, N. and Whitehead, A. (1995). Reducing numbers in the fixed-dose procedure. *Human Exptl. Toxicol.* 14, 315-323. *Human Exptl. Toxicol.*
- (6) Stallard, N., Whitehead, A. and Ridgeway, P. (2002). Statistical evaluation of the revised fixed dose procedure. *Hum. Exp. Toxicol.*, 21, 183-196.
- (7) OECD (2001). Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment N. 24. Paris
- (8) OECD (2000). Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment N. 19.
- (9) OECD (1998). Harmonised Integrated Hazard Classification for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals in November 1998, Part 2, p.11 [<http://webnet1.oecd.org/oecd/pages/home/displaygeneral/0,3380,EN-documents-521-14-№-24-№-0,FF.html>].
- (10) Lipnick, R.L., Cotruvo, J.A., Hill, R.N., Bruce, R.D., Stitzel, K.A., Walker, A.P., Chu, I., Goddard, M., Segal, L., Springer, J.A. and Myers, R.C. (1995). Comparison of the Up-and-Down, Conventional LD50, and Fixed-Dose Acute Toxicity Procedures. *Fd. Chem. Toxicol.* 33, 223-231.
- (11) Chan P.K and A.W. Hayes (1994) Chapter 16 Acute Toxicity and Eye Irritation. In: Principles and Methods of Toxicology . 3 rd Edition. A.W. Hayes , Editor. Raven Press, Ltd. New York, USA.



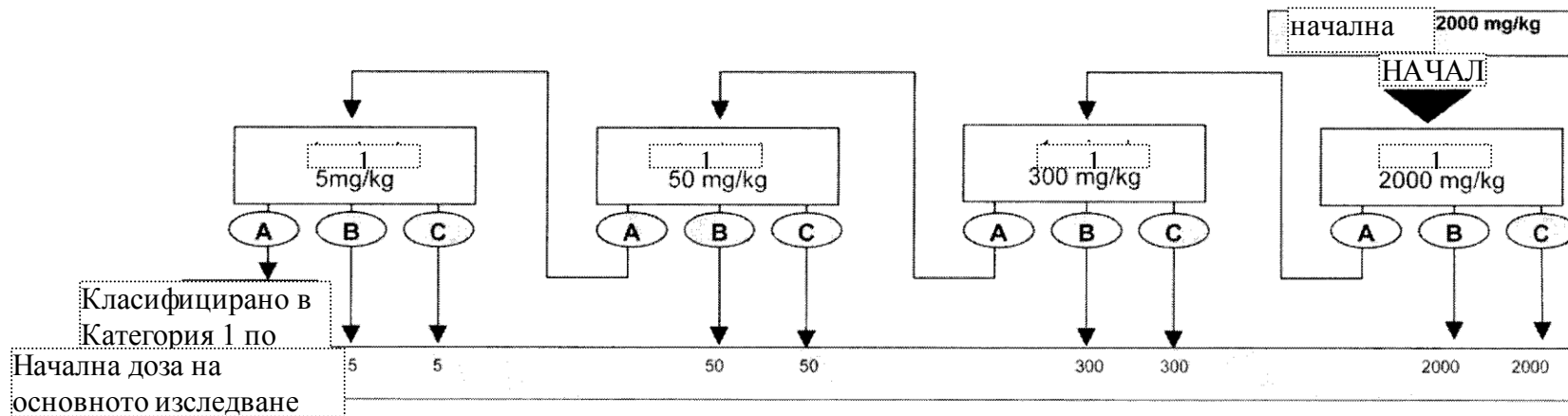
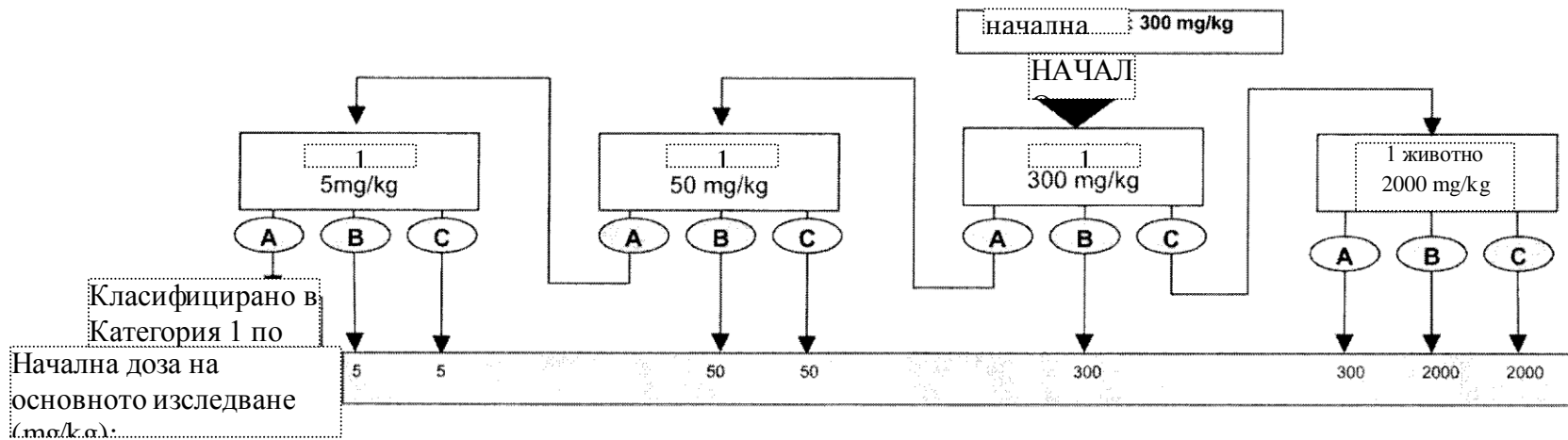
ПРИЛОЖЕНИЕ 1: ГРАФИЧЕН АЛГОРИТЪМ ЗА ЗРИТЕЛНОТО ИЗСЛЕДВАНЕ



- Резултат
- (A) смърт
  - (B) доказана токсичност
  - (C) няма доказана токсичност и няма смърт

\*при резултат А при 5 mg/kg има допълнителна възможна процедура за потвърждение на GHS класифициране: виж т. 1.5.2





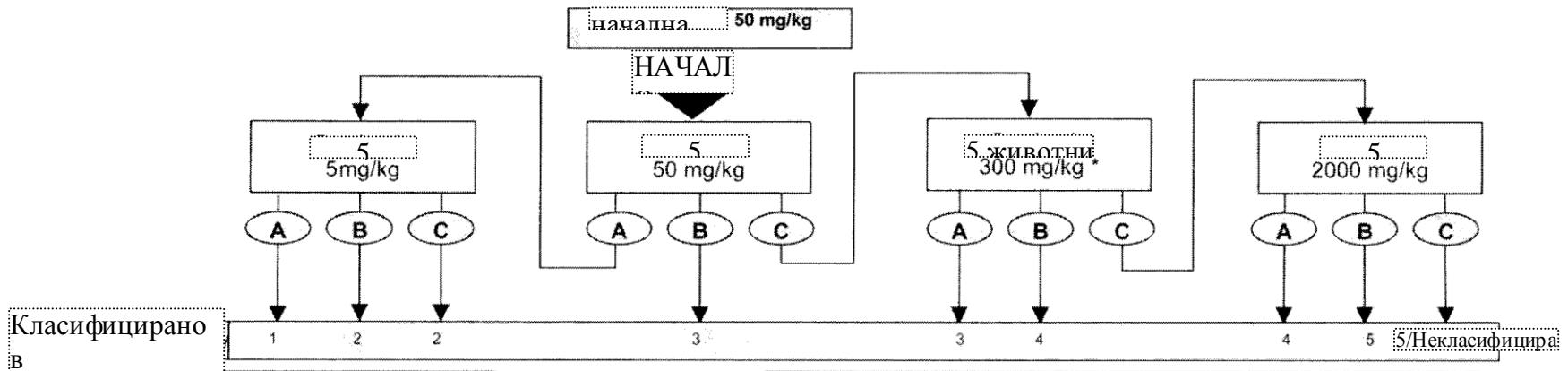
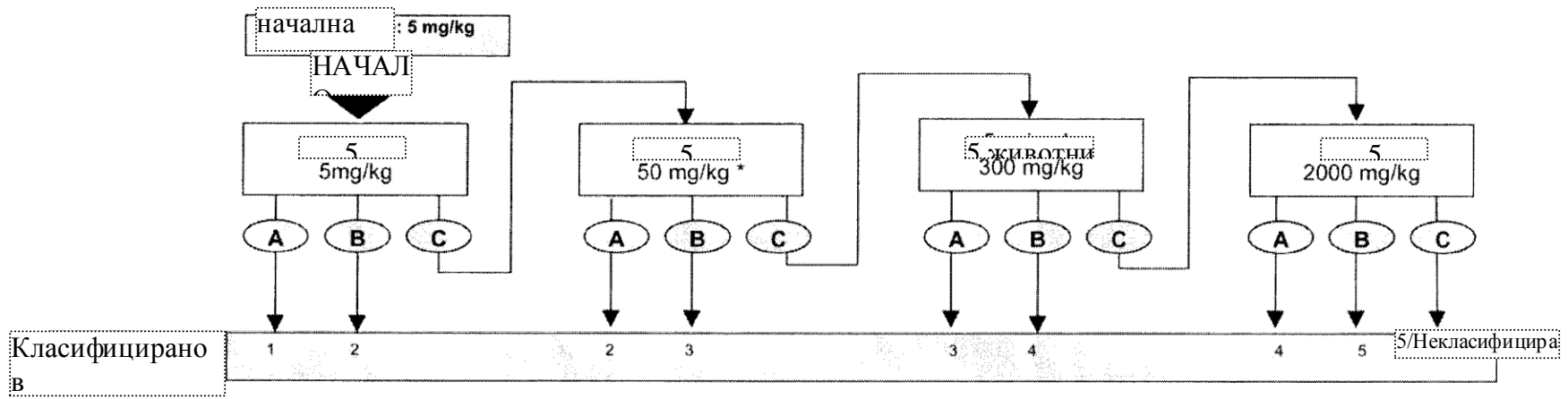
Резултат

А	смърт
В	доказана токсичност
С	няма доказана токсичност и няма смърт

\*при резултат А при 5 mg/kg има допълнителна възможна процедура за потвърждение на GHS класифициране: виж т. 1.5.2



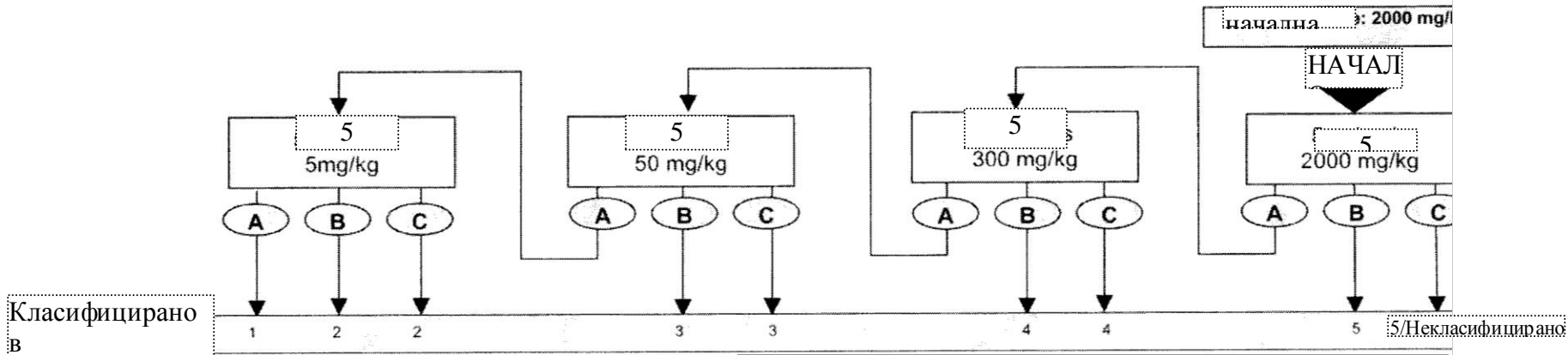
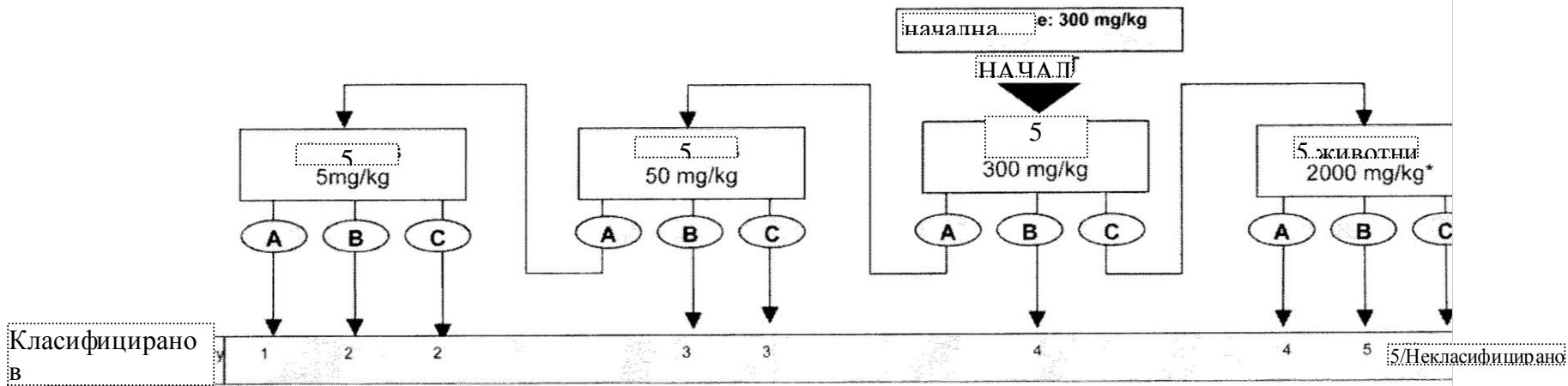
ПРИЛОЖЕНИЕ 2: ГРАФИЧЕН АЛГОРИТЪМ ЗА ОСНОВНОТО ИЗСЛЕДВАНЕ



Резултат	
<b>A</b>	≥ 2 смъртни
<b>B</b>	≥ 1 с доказана токсичност и/или 1 смърт
<b>C</b>	няма доказана токсичност и няма смърт

**Размер на групата**  
 Всяка група от 5 животни от основното изследване ще включва животното изследвано при това ниво на дозата

**\*Отмяна поради благополучието на животните**  
 Ако това ниво на дозата е причинила смърт при зрителното изследване, тогава не се изследват други животни. Директно се отива към резултат A.



Резултат

**A**  $\geq 2$  смъртни

**B**  $\geq 1$  доказана токсичност и/или 1 смърт

**C** няма доказана токсичност и няма смърт

Размер на групата  
 Всяка група от 5 животни от основното изследване ще включва животното изследвано при това ниво на дозата

\*Отмяна поради благополучието на животните  
 Ако това ниво на дозата е причинила смърт при зрителното изследване, тогава не се изследват други



### ПРИЛОЖЕНИЕ 3

#### **КРИТЕРИИ ЗА КЛАСИФИЦИРАНЕ НА ИЗПИТВАНО ВЕЩЕСТВО С ОЧАКВАНА СТОЙНОСТ НА LD50 НАД 2 000 МГ/КГ БЕЗ НЕОБХОДИМОСТ ОТ ИЗПИТВАНЕ**

Критериите за опасност в категория 5 се предназначени да подпомогнат идентифициранети на изпитваните вещества, които са с относително ниска опасност от остра токсичност, но които при определени обстоятелства, могат да представляват опасност за уязвимите поколения. Тези вещества се очаква да имат орална или дермална LD50 в обхвата 2 000- 5 000 mg/ kg или еквивалентни дози при други начини на приемане. Изпитваните вещества могат да бъдат класифицирани в категория на опасност, определена чрез:  $2\ 000\ \text{mg/ kg} < LD50 < 5\ 000\ \text{mg/ kg}$  (категория 5 в GHS) в следните случаи:

- а) ако са стигнали до тази категория по някоя от схемите за изследване от приложение 2, основани на смъртни инциденти;
- б) ако вече съществува достоверно доказателство, което показва, че LD50 е в обхвата от стойности на категория 5, или други изследвания върху животни, или токсикологични изследвания върху хора дават основания за сериозно безпокойство относно човешкото здраве.
- в) чрез данни от екстраполация, оценяване или измерване, ако няма основание да се отнесе към по-висок клас на опасност, и
  - има налична достоверна информация, показваща значителни токсикологични ефекти при хората, или
  - наблюдава се смъртност при изпитване с високи стойности, като тези в категория 4 чрез орален път на приемане, или
  - когато експертната оценка потвърди съществените клинични признаци на токсичност при изпитване с високи стойности, като тези в категория 4, освен при диария, пилоерекция или недобър външен вид, или
  - когато експертната оценка потвърди достоверната информация, която индикира потенциална възможност за значими остри ефекти от други изпитвания върху животни.

#### **ИЗСЛЕДВАНЕ С ДОЗИ НАД 2 000 МГ/КГ**

По изключение и само когато е оправдано от определена необходимост за регулиране, може да се проведе изследване с използване на допълнителна по- висока фиксирана доза с ниво 5 000 mg/ kg. Приемайки необходимостта от хуманно отношение към животните, не се препоръчва изследване с 5 000 mg/ kg и следва да бъде взето предвид само, когато има голяма вероятност резултатите от такова изследване да имат пряко практическо значение за опазване здравето на хората или животните (9).

#### **Зрително изследване**

Правилата за вземане на решение, които са указани в следващата процедура, представена в приложение 1, включват доза с ниво 5 000 mg/ kg. По този начин, когато при зрително изследване се използва начална доза 5 000 mg/ kg, резултат А (смърт) се налага второто животно да бъде изследвано с 2 000 mg/ kg; резултати В и С (доказана токсичност или нетоксичност) позволяват като начална доза за основното изследване да бъде избрана 5 000 mg/ kg. По подобен начин, ако се използва начална доза, различна от 5 000 mg/ kg, тогава изпитването ще доведе до прилагане на 5 000 mg/ kg в случай на резултати В или С при 2 000 mg/ kg; резултат А след прилагането на 5 000 mg/ kg налага началната доза за основното изследване да бъде 2 000 mg/ kg, а резултати В и С налагат началната доза за основното изследване да бъде 5 000 mg/ kg.

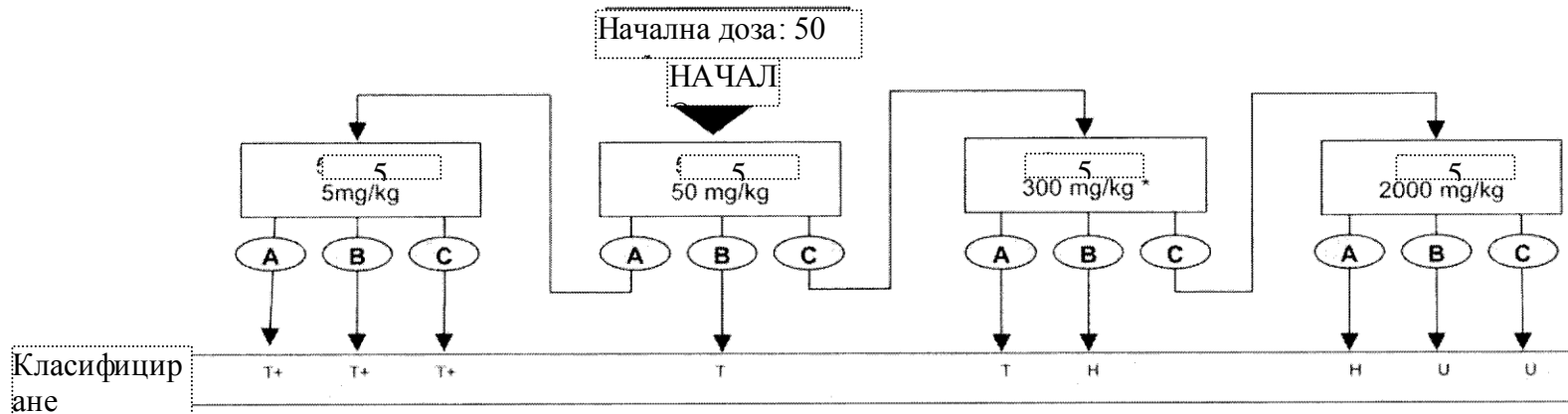
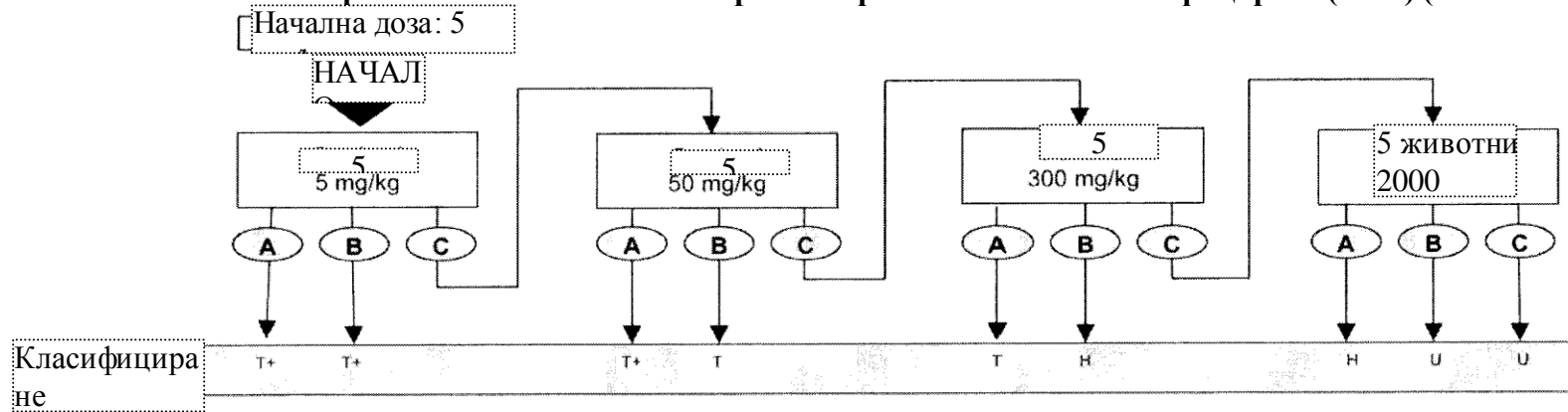
## Основно изследване

Правилата за вземане на решение, които са указани в следващата процедура, представена в приложение 2, включват доза с ниво 5 000 mg/ kg. По този начин, когато при основно изследване се използва начална доза 5 000 mg/ kg, резултат А ( $\geq 2$  смъртни случая) налага изследване на втора група при 2 000 mg/ kg; резултат В (доказана токсичност и/ или  $\leq 1$  смъртни случая) или С (нетоксичност) водят до резултат веществото да не бъде класифицирано, съгласно GHS. По подобен начин, ако се използва начална доза, различна от 5 000 mg/ kg, тогава изпитването води до прилагане на 5 000 mg/ kg в случай на резултат С при 2 000 mg/ kg; резултат А след прилагането на 5 000 mg/ kg води до това, веществото да бъде определено в категория 5 на GHS, а резултати В или С водят до това, веществото да не бъде класифицирано.



ПРИЛОЖЕНИЕ 4

МЕТОД ЗА ИЗПИТВАНЕ В.1 bis: Ръководство за изпитване, съгласно схемата на EU scheme за покриване на транзитния период до пълното прилагане на Глобалната хармонизирана система за класифициране (GHS) (взето от препратка (8))



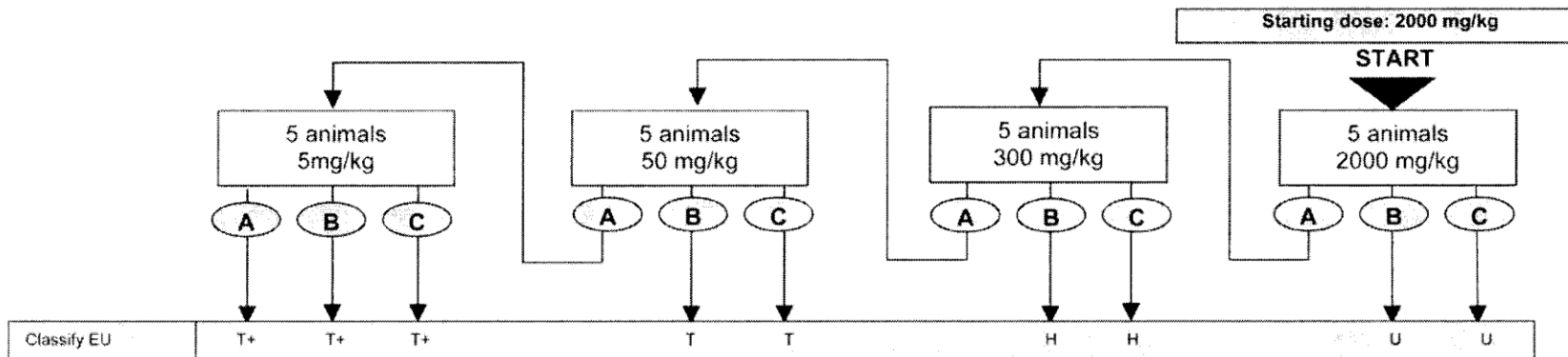
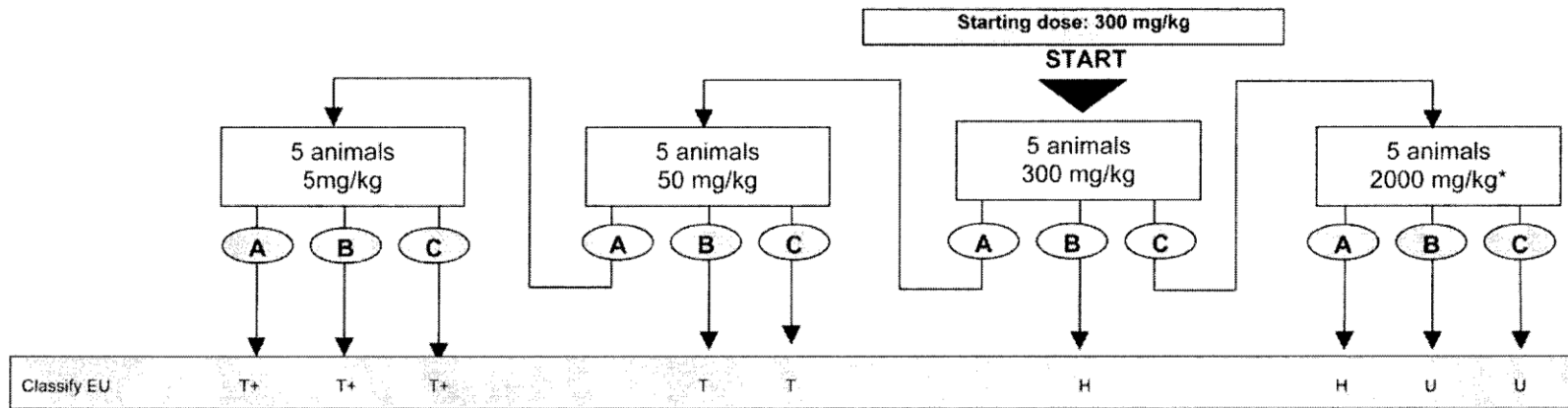
Резултат

А	≥ 2 смъртни
В	≥ 1 с доказана токсичност и/или 1 смърт
С	няма доказана токсичност и няма смърт

T+= силно токсичен  
 T= токсичен  
 H= вреден

\*Отменя поради благополучието на животните. Ако това ниво на дозата е

Размер на групата: Всяка група от 5 животни от основното изследване ще включва животното, изследвано при това ниво на дозата в зпителното изследване



**Резултат**

**A**  $\geq 2$  смъртни

**B**  $\geq 1$  with evident toxicity and / or 1 death

**C** No evident toxicity and no death

T+= силно токсичен  
 T= токсичен  
 H= вреден

**Размер на групата** Всяка група от 5 животни от основното изследване ще включва животното, изследвано при това ниво на дозата е причинила смърт при зрительното изследване, тогава не се изследват други животни.

**\*Отмяна поради благополучието на животните** Ако това ниво на дозата е причинила смърт при зрительното изследване, тогава не се изследват други животни.



## ПРИЛОЖЕНИЕ 2В

### “B.1 tris. ОСТРА ОРАЛНА ТОКСИЧНОСТ - МЕТОД КЛАС ОСТРА ТОКСИЧНОСТ

#### 1. МЕТОД

Този метод за изпитване е еквивалентен на OECD TG 423 (2001)

##### 1.1 ВЪВЕДЕНИЕ

Методът при клас остра токсичност (1), представен с това изследване е поетапна процедура, при която се използват по 3 животни от един и същ пол на всеки етап. В зависимост от смъртността и/или състоянието на предстояща смърт при животните, може да се наложи средно на 2-4 стъпки, да бъде взето решение относно острата токсичност на изпитваното вещество. Тази процедура е репродуктивна, използва много малко животни и е дава възможност за категоризиране на веществата по начин, подобен на този при други методи за изпитване за остра токсичност. Методът при клас остра токсичност се основава на биометрични оценки (2)(3)(4)(5) с фиксирани дози, подходящо отделени, за да може едно вещество да бъде категоризирано за целите на класифицирането и оценката на риска. Методът, който е одобрен през 1996г., е широко утвърден *in vivo* спрямо LD50 данните, получени от публикуваните национални (6) и международни (7) изследвания.

Насоките за избор на най- подходящият метод за изпитване с определена цел се намират в Ръководството за изпитване на острата орална токсичност (8). Това ръководство съдържа също допълнителна информация за провеждането и интерпретирането на метода за тестване B.1tris. Изпитваните вещества, в дози, за които е известно, че могат да причинят болка и страдание, поради корозивно или силно дразнещо действие, не следва да бъдат прилагани.

Умиращи животни или животни, очевидно изпитващи болка или показващи признаци на дълбоко и продължително страдание, биват хуманно убивани, и също се вземат предвид при интерпретирането на резултатите, по същия начин, както животните, умрели по време на експеримента.

Критериите за вземане на решение да бъде убито умиращо или дълбоко страдащо животно и насоки за разпознаване на предсказуема или предстояща смърт са обект на отделно ръководство (9). При този метод се използват предварително определени дози и резултатите позволяват веществото да бъде категоризирано и класифицирано, съгласно Глобалната система (GHS) за хармонизиране на класификацията на химическите вещества, които причиняват остра токсичност (10).

По принцип, методът цели изчисляването на точната LD50, но позволява установяването на определени области на експозиция, в които се очаква леталност, доколкото смъртност като пропорционално съотношение при животните се достига едва в самия край на това изследване. Методът позволява определяне стойността на LD50 само, когато в резултат от прилагането на най-малко две дози се постига ръст на смъртността, по-висок от 0% и по-нисък от 100%. Използуването на избрани предварително определени дози, независимо от изпитваното вещество, с класифициране, което е категорично свързано с броя на наблюдаваните животни в различните етапи, подобрява възможността за последователно и многократно докладване на резултатите между отделните лаборатории. В лабораторията за изследване следва да се вземе предвид цялата налична информация за изследваното вещество преди провеждане на експеримента. Такава информация включва идентичност и химична структура на веществото; неговите физико-химични свойства; резултатите от всякакви други *in vivo* или *in vitro* токсикологични изпитвания на веществото; токсикологични данни за структурно близки вещества и очаквана употреба(и) на веществото. Тази информация е необходима, за да се удостовери напълно, че това изпитване е свързано със защитата на човешкото здраве и ще бъде от полза при избора на най-подходящата начална доза.

## 1.2 ОПРЕДЕЛЕНИЯ

**Остра орална токсичност:** отнася се до онези вредни ефекти, които се появяват в резултат на орален прием на еднократна доза вещество или многократни дози, давани в рамките на 24 часа.

**Бавна смърт:** означава животното да не умира или да не се проявят признаци на смърт в рамките на 48 часа, но да умре по-късно, през 14-дневния период на наблюдения.

**Доза:** е количеството прието изпитвано вещество. Дозата се изразява като маса на изпитваното вещество за единица тегло на изследваното животно (напр. mg/ kg).

**Доказана токсичност:** е общоприет термин, описващ ясните признаци на токсичност, вследствие на приемане на изпитваното вещество (виж (3) например), такова че при приемане на следваща най-висока фиксирана доза, могат да бъдат очаквани всякакви признаци на дълбока болка и продължителни дълбоки страдания, състояние на смърт (критериите се представени в Ръководството за хуманен край (Humane Endpoints Guidance Document (8)), или вероятна смърт на повечето животни.

**GHS:** Глобална система за хармонизиране на класификацията на химични вещества и смеси-Съвместна дейност на Организацията за икономическо сътрудничество и развитие (OECD) (човешко здраве и околна среда), Комитета на ООН от експерти в областта на транспортирането на опасни стоки (физико-химични свойства) и Международната организация по труда (ILO) (опасни комуникации) и координирана чрез Междурегистровата програма за правилно управление на химикалите (IOMC).

**Неизбежна смърт:** когато животното умира или се очаква настъпването на смърт преди следващото планирано време за наблюдение. Признаците, показващи това състояние при гризачи, могат да включват конвулсии, латерално (странично) положение, лежане и треперене. (Виж Ръководството за хуманен край (9) за повече подробности).

**LD50 (средна летална орална доза):** е статистически получена еднократна доза на вещество, за която може да се очаква, че ще причини смърт при 50% от животните, когато бъде въведена в тях по орален път. Стойността LD50 се изразява за периоди като масата на изпитваното вещество за единица тегло на изследваното животно (mg/ kg).

**Ограничена доза:** отнася се до доза с по-голямо ограничение при изследването (2 000 или 5 000 mg/ kg).

**Настъпване на смърт:** оставане в терминално състояние или неспособност да се оцелее, дори ако се приложи лечение. (Виж Ръководството за хуманен край (9) за повече подробности).

**Предсказуема смърт:** присъствие на клинични признаци, които показват, че е налице смърт в определен предстоящ период от време преди планирания край на експеримента, например: неспособност да се достигне вода или храна. (Виж Ръководството за хуманен край (9) за повече подробности).

## 1.3 ПРИНЦИП НА МЕТОДА ЗА ИЗСЛЕДВАНЕ

Принцип на метода за изследване е, че въз основа на поетапна процедура, при която се използват минимален брой животни на етап, се получава допълнителна информация за острата токсичност на изследваното вещество, която дава възможност за неговото класифициране. Веществото се приема по орален път на постъпване от група експериментални животни в една от определените дози. Веществото се изпитва чрез прилагане на поетапна процедура, като на всеки етап се използват по три животни от един и същ пол (обикновено женски индивиди). Наличието или отсъствието на смъртни случаи, свързани с веществото на един етап, е определящо за дозирането на следващия етап, т.е.;

- не са необходими допълнителни изследвания;
- дозиране на три допълнителни животни със същата доза;
- дозиране на три допълнителни животни с по-високо или по-ниско ниво на дозата.

Подробностите около провеждането на процедурата за изпитване са описани в приложение 1. Методът дава възможност да се вземе решение относно класифицирането на изследваното вещество и да бъде причислено към един от поредицата токсикологични класове, чрез определяне на точните стойности на LD50.

## 1.4 ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

### 1.4.1 Избор на животински видове

Предпочитаният вид от групата на гризачите е плъх, въпреки че и други видове гризачи могат да бъдат използвани. Обикновено се използват животни от женски пол (9). Причина за това е, че изследванията в научната литература чрез конвенционални тестове с LD50 показват, че, независимо от малката разлика в междуполовата сетивност, в случаите, при които се наблюдават различия, женските индивиди, като цяло, са малко по-чувствителни (11). Въпреки това, ако познанията за токсикологичните и токсикокинетичните свойства на близки по структура химически вещества показват, че има вероятност мъжките индивиди да са по-чувствителни от женските, тогава се използват животни от този пол. Когато изпитването се провежда върху мъжки индивиди, то следва да бъде подходящо обосновано. Използват се здрави младиполово зрели животни от най-често употребяваните за лабораторни изследвания видове.

Женските индивиди следва да не са раждали и да не са бременни. Всяко животно, в началото на дозирането му, следва да бъде на възраст между 8 и 12 седмици и теглото му следва да попада в интервала  $\pm 20\%$  от средното тегло на всички дозирани преди това животни.

### 1.4.2 Условия за отглеждане и хранене

Температурата в стаята на опитните животни следва да бъде  $22^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 3^{\circ}\text{C}$ ). Въпреки че относителната влажност следва да бъде поне 30% и е препоръчително тя да не надвишава 70% освен при почистване на стаята, като целта е да се постигне 50- 60% относителна влажност. Светлината следва да бъде изкуствена, с редуващи се 12 часа светъл период, 12 часа тъмен период. За хранене могат да бъдат използвани конвенционалните лабораторни диети с неограничен достъп до питейна вода. Животните могат да бъдат групирани в клетките по доза, но броят на животните в клетка не трябва да е възпрепятствава точните наблюдения върху всяко животно.

### 1.4.3 Подготовка на животните

Животните са произволно избрани, маркирани, за да е възможно индивидуалното им идентифициране, и държани в клетките си поне 5 дни преди на дозиране, за да се аклиматизират към лабораторните условия.

### 1.4.4 Подготовка на дозите

Най-общо изпитваните вещества следва да бъдат приемани в постоянен обем в рамките на дозите, които се изпитват чрез изменения в концентрацията на дозирания препарат. Когато, обаче, крайният продукт, който трябва да бъде изследван, е под формата на течност или смес, за последващата оценка на риска от това вещество може да се окаже по-подходяща употребата му в неразредено състояние, т.е. при постоянна концентрация, което е и изискване от страна на някои регулаторни органи. Във всеки случай, обемът на максималната доза за администриране, не трябва да бъде завишаван. Максималният обем на течността, която може да бъде въведена наведнъж, зависи от големината на изследваното животно. При гризачи, обикновено обемът не надвишава 1 ml/ 100g телесно тегло: обаче в

случай на водни разтвори може да се приемат 2 ml/ 100g телесно тегло. Във връзка с изготвянето на дозирани препарати, се препоръчва, където е възможно, да се използва воден разтвор/ суспензия/ емулсия, следван първоначално от разтвор/ суспензия/ емулсия в масло (напр. царевично масло), а след това е възможен разтвор в други разтворители. Следва да се знаят токсикологичните характеристики на разтворителите, с изключение на водата. Дозите трябва да бъдат приготвяни кратко време преди приемането им, освен когато е известно, че препаратът остава стабилен и в добро състояние през периода, в който се използва.

## 1.5 ПРОЦЕДУРА

### 1.5.1 Приемане на дозите

Изпитваното вещество се приема на еднократни дози чрез принудително хранене или с подходяща интубационна канюла. При извънредни обстоятелства, при които приемането на еднократна доза не е възможно, дозата може да бъде давана на по- малки части през период, който не може да надминава 24 часа. Преди дозирането животното следва да бъдат поставени на ограничен режим на хранене за известно време (напр. на плъхове следва да не се дава храна, но не и вода през нощта преди експеримента; на мишки в продължение на 3- 4 часа следва да не се предоставя храна, но не и вода). След периода на “постене”, животните трябва да бъдат претеглени и изпитваното вещество приложено. След като веществото бъде прието, може да не се предоставя храна в следващите 3-4 часа при плъхове или 1-2 часа при мишки. Когато дозата се приема на части в определен период от време, може да се наложи да бъдат осигурени храна и вода на животните, в зависимост от продължителността на периода.

### 1.5.2 Брой на животните и нива на дозите

Във всеки етап се използват по три животни. Нивото на дозата, която ще бъде използвана като начална доза, се избира от едно от четирите фиксирани нива: 5, 50, 300 и 2 000 mg/ kg телесно тегло. Нивото на началната доза следва да бъде такова, при което вероятността да причини смърт при някое от дозираните животни е най- висока. Графичните алгоритми на приложение 1 описват процедурата, която трябва да бъде следвана за всяка от началните дози. Освен това, приложение 4 дава насоки за класифициране по системата на ЕС, докато бъде въведена новата система GHS. Когато по наличната информация се предполага, че смъртност при начално дозиране с най- високото ниво (2 000 mg/ kg телесно тегло) е малко вероятна, тогава се прилага ограничено изпитване. Когато няма информация за изпитваното вещество, с цел хуманно отношение към животните, се препоръчва за начална доза да се използва 300 mg/ kg телесно тегло. Интервалът от време между третирането на групите се определя от началото, продължителността и остротата на токсичните признаци. Третирането на животните със следваща доза следва да бъде забавено, докато не се докаже, че дозираните по-рано животни са останали живи. По изключение и само когато е оправдано от определени регулаторни нужди, може да бъде приложена допълнителна фиксирана доза с по- високо ниво 5 000 mg/ kg телесно тегло (виж приложение 2). По причини, свързани с хуманното отношение към животните, изследването на животни в категория 5 на GHS в обхвата 2 000-5 000 mg/ kg е нежелателно и следва да се има предвид само, когато съществува голяма вероятност резултатите от такова изследване да имат практическо значение за опазване здравето на хората или животните, или околната среда.

### 1.5.3. Ограничено изпитване

Ограниченото изпитване се използва предимно в случаите, при които извършващият опитите разполага с информация, съгласно която изследваният материал по всяка вероятност не е

токсичен, т.е. проявява токсичност само над нормативно ограничените дози. Информация за токсичността на изпитвания материал може да бъде получена от познания за подобни изпитани съединения или подобни изпитани смеси или продукти, като се вземат предвид идентичността и процентното съдържание на съставките, за които е известно, че са с токсикологично значение. В случаите, когато има малко или няма информация за неговата токсикологичност или при които се очаква изпитваният материал да бъде токсичен, следва да се провежда основното изследване.

При ниво на еднократна доза 2 000 mg/ kg телесно тегло, може да бъде проведено ограничено изследване на 6 животни (по три животни на етап). По изключение може да бъде проведено ограничено изследване на три животни при ниво на еднократната доза 5 000 mg/ kg (виж приложение 2). Ако има смъртни случаи, свързани с веществото, може да се окаже необходимо следващите изследвания да се проведат при по-ниски нива на дозиране.

## 1.6 НАБЛЮДЕНИЯ

Животните се наблюдават индивидуално, след поне еднократно дозиране през първите 30 минути, периодично през първите 24 часа, с повишено внимание през първите 4 часа, и ежедневно след това през общо 14- дневен период от време, освен когато е необходимо да бъдат извадени от експеримента и убити по хуманен начин, по причини на хуманно отношение към животните, или са намерени мъртви. Продължителността на наблюдението обаче не следва да бъде строго фиксирана. Тя следва да се определя въз основа на токсичните реакции, началния момент и продължителността на периода за възстановяване и може да бъде увеличена, когато се счете за необходимо. Периодите от време, в които се появяват и изчезват признаците на токсичност са важни, особено ако има тенденция токсичните признаци да бъдат забавени (12). Всички наблюдения систематично се записват, с отделни записи, направени за всяко животно. Допълнителни изследвания ще бъдат необходими, ако животните продължат да показват признаци на токсичност. Наблюденията следва да включват промените в кожата и козината, очите и лигавицата, и също дихателната, кръвоносната, автономната и централната нервна система, соматомоторната активност и моделите на поведение. Вниманието следва да бъде насочено към наблюдения на треперене, конвулсии, слюноотделяне, диария, летаргия, сън и кома. Следва да бъдат взети предвид принципите и критериите, резюмирани в Ръководството за хуманен край (9). Животните, намерени в терминално състояние и животните, показващи дълбока болка или непрекъснати признаци на дълбоко страдание, следва да бъдат убити по хуманен начин. Когато животните са убити по хуманни причини или са намерени мъртви, времето на смъртта им следва да бъде записано, колкото е възможно по- точно.

### 1.6.1 Телесно тегло

Индивидуалното тегло на животните следва да бъде измервано в кратък интервал от време, преди приемането на изпитваното вещество и поне веднъж седмично след това. Промените в теглото следва да бъдат изчислявани и записвани. В края на експеримента оцелелите животни се претеглят и след това се убиват по хуманен начин.

### 1.6.2 Патология

Всички изследвани животни (включително умрелите по време на експеримента или извадените от експеримента животни по причини на хуманно отношение към животните) следва да бъдат подложени на цялостна аутопсия. Всички цялостни патологични изменения във всяко животно трябва да бъдат записани. Микроскопските изследвания на органите даващи доказателства за цялостна патология при животните, оцелели 24 часа или повече след първоначалното дозиране, също могат да допринесат за получаването на полезна информация.

### 3. ДАННИ

Следва да бъдат осигурени индивидуални данни за всяко животно. Освен това, всички данни следва да бъдат обобщени в таблична форма, показваща броя на използваните животни във всяка от изследваните групи, броя на животните, проявяващи признаци за токсичност, броя на животните, намерени мъртви по време на изследването или убити по хуманни причини, времето на настъпване на смъртта на животинския индивид, описание и развитие във времето на токсичните ефекти и обратимостта им, както и заключенията от аутопсията.

### 3. ОТЧИТАНЕ

#### 3.1 Протокол от изпитването

Протоколът от изпитването, по целесъобразност, трябва да включва следната информация:

Изпитвано вещество:

— физична форма, чистота и, където е подходящо, физико-химични свойства (включително изомеризация);

— данни за идентичността, включително CAS номер.

Разтворител (ако има такъв):

— обосноваване на избора на разтворител, ако е различен от вода.

Изследвани животни:

— използвани видове/ породи;

— микробиологично състояние на животните, когато е известно;

— брой, възраст и пол на животните (включително, при необходимост, обосноваване на използването на мъжки индивиди, вместо женски);

— водоизточник, условия за отглеждане, диета и т.н.;

Условия на експеримента:

— подробности за формулирането на изпитваното вещество, включително подробности за физичното състояние на приемания материал;

— подробности, свързани с приемането на изпитваното вещество, обеми на дозите и време на дозиране;

— подробности във връзка с качеството на храната и водата (включително вид/ източник на диетата, водоизточник);

— обосновка на избора на началната доза.

Резултати:

— таблици/ диаграми на получените данни и ниво на дозата за всяко животно (т.е. при които животното показва признаци на токсичност, включително смърт, природа, острота и продължителност на ефектите);

— таблици/ диаграми на телесното тегло и на измененията в него;

— индивидуални тегла на животните през деня на дозиране, на седмични интервали след това и при смърт;

— дата и време на смъртта, ако умрат преди приключване на програмата;

— развитие във времето от първоначалното появяване на признаци за токсичност и дали е имало обратимост за всяко животно;

— заключения при аутопсията и хистопатологични заключения за всяко животно, ако има такива.

Дискусия и интерпретиране на резултатите.

Заключения.

### 4. ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА

- (1) Roll R., Hüfer-Bosse Th. And Kayser D. (1986). New Perspectives in Acute Toxicity Testing of Chemicals. *Toxicol. Lett.*, Suppl. 31, 86
- (2) Roll R., Riebschneider 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/LC50 Tests. *ALTEX* 16, 129-134
- (6) Schlede E., Mischke U., Roll R. and Kayser D. (1992). A National Validation Study of the Acute-Toxic-Class Method – An Alternative to the LD50 Test. *Arch. Toxicol.* 66, 455-470.
- (7) Schlede E., Mischke U., Diener W. and Kayser D. (1994). The International Validation Study of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). *Arch. Toxicol.* 69, 659-670.
- (8) OECD (2001) Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment N. 24. Paris.
- (9) OECD (2000) Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment N 19.
- (10) OECD (1998) Harmonized Integrated Hazard Classification System For Human Health And Environmental Effects Of Chemical Substances as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals in November 1998, Part 2, p. 11 [<http://webnet1.oecd.org/oecd/pages/home/displaygeneral/0,3380,EN-documents-521-14-№-24-№-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 LD50, 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.”

## *ПРИЛОЖЕНИЕ 1*

### **ПРОЦЕДУРА, КОЯТО ТРЯБВА ДА БЪДЕ СЛЕДВАНА ЗА ВСЯКА ОТ НАЧАЛНИТЕ ДОЗИ**

#### *ОБЩИ БЕЛЕЖКИ*

За всяка начална доза, в това приложение са включени съответните схеми за изпитване, които трябва да бъдат следвани.

- Приложение 1 а: Началната доза е 5 mg/ kg тт
- Приложение 1 б: Началната доза е 50 mg/ kg тт
- Приложение 1 в: Началната доза е 300 mg/ kg тт
- Приложение 1 г: Началната доза е 2 000 mg/ kg тт

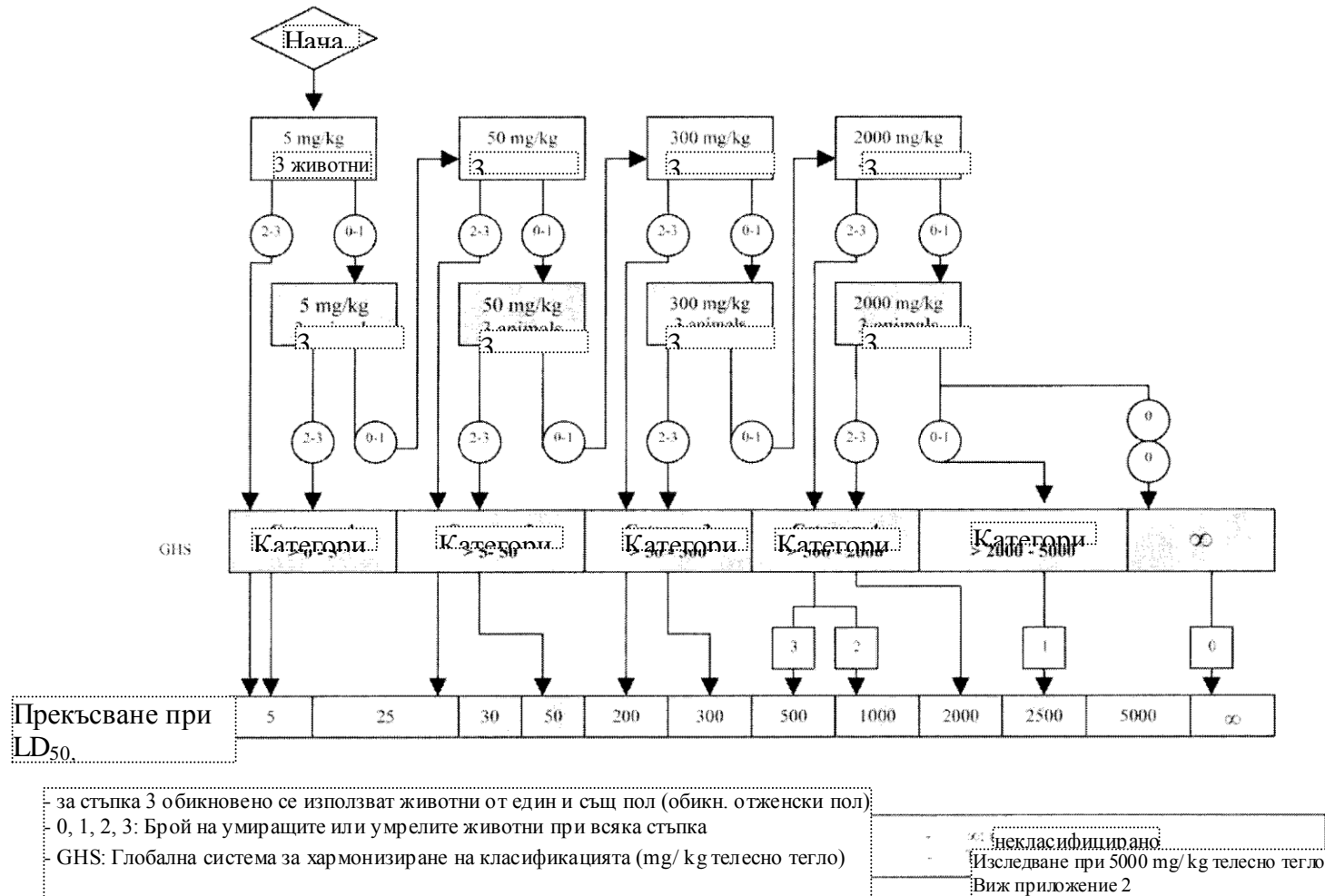
В зависимост от броя на убитите по хуманен начин или умрели животни, процедурата за изпитване следва посочените стрелки.





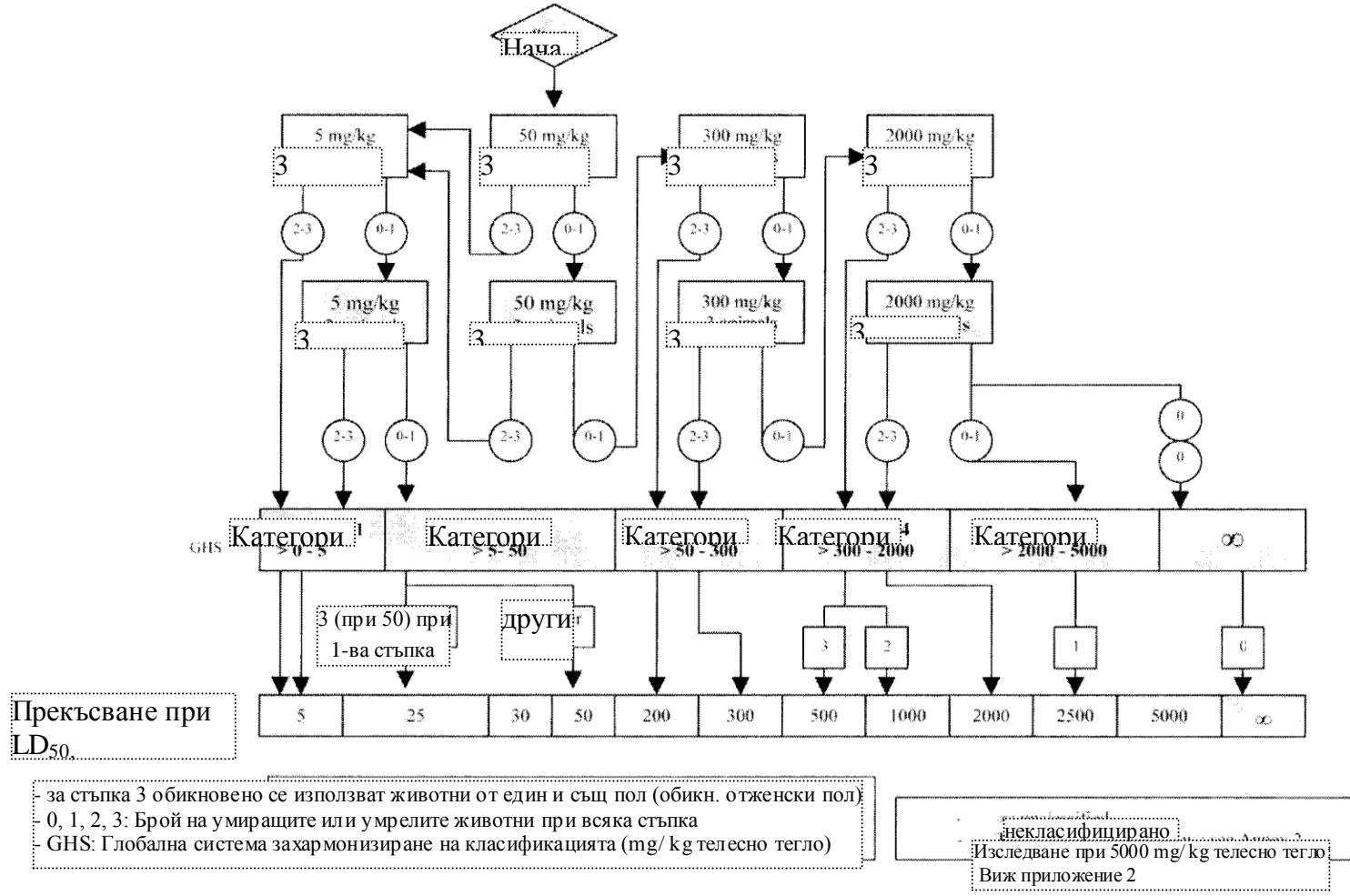
ПРИЛОЖЕНИЕ 1 А

ПРОЦЕДУРА ЗА ИЗПИТВАНЕ С НАЧАЛНА ДОЗА 5 МГ/ КГ ТЕЛЕСНО ТЕГЛО



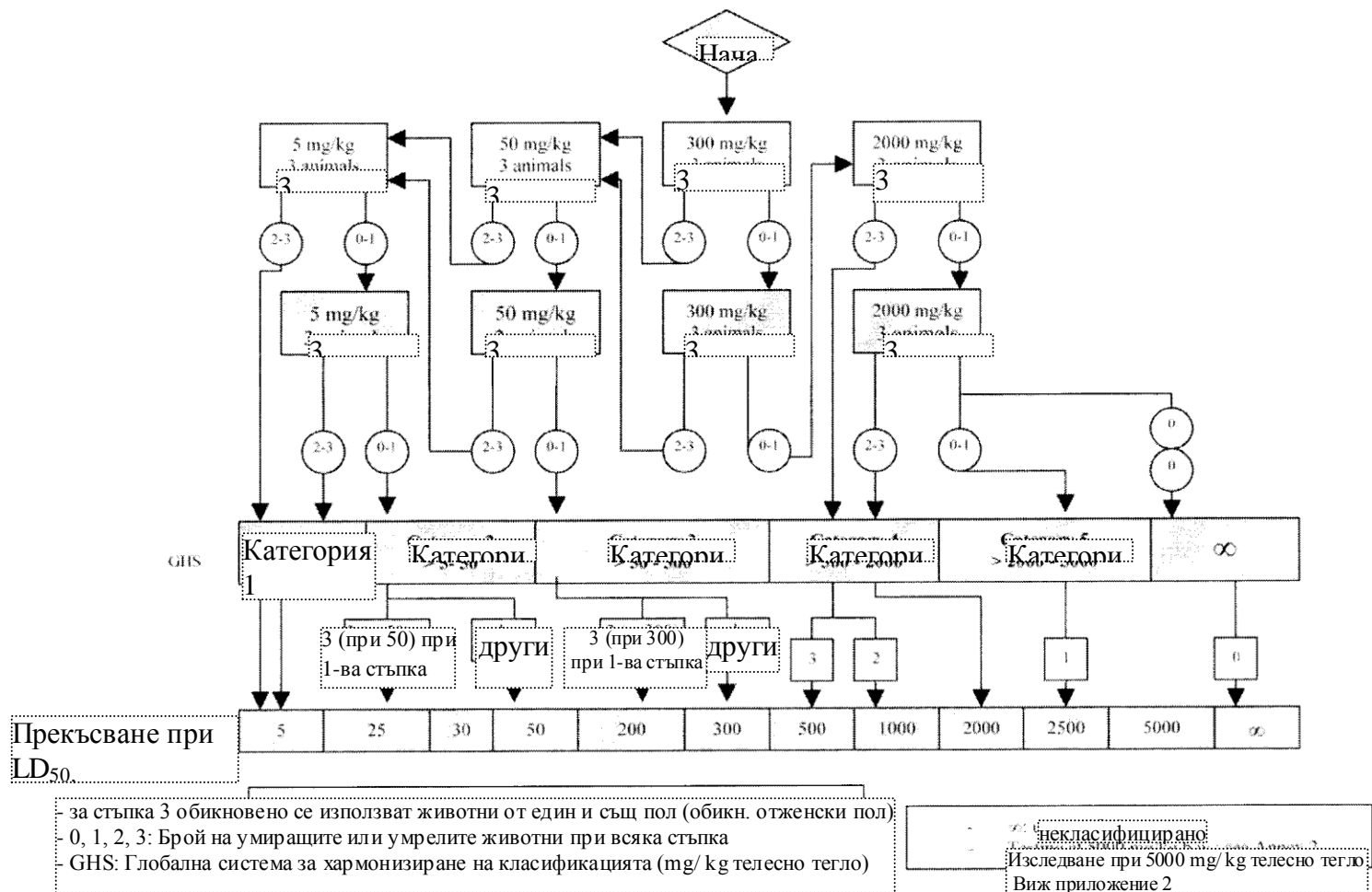
ПРИЛОЖЕНИЕ 1Б

ПРОЦЕДУРА ЗА ИЗПИТВАНЕ С НАЧАЛНА ДОЗА 50 МГ/ КГ ТЕЛЕСНО ТЕГЛО



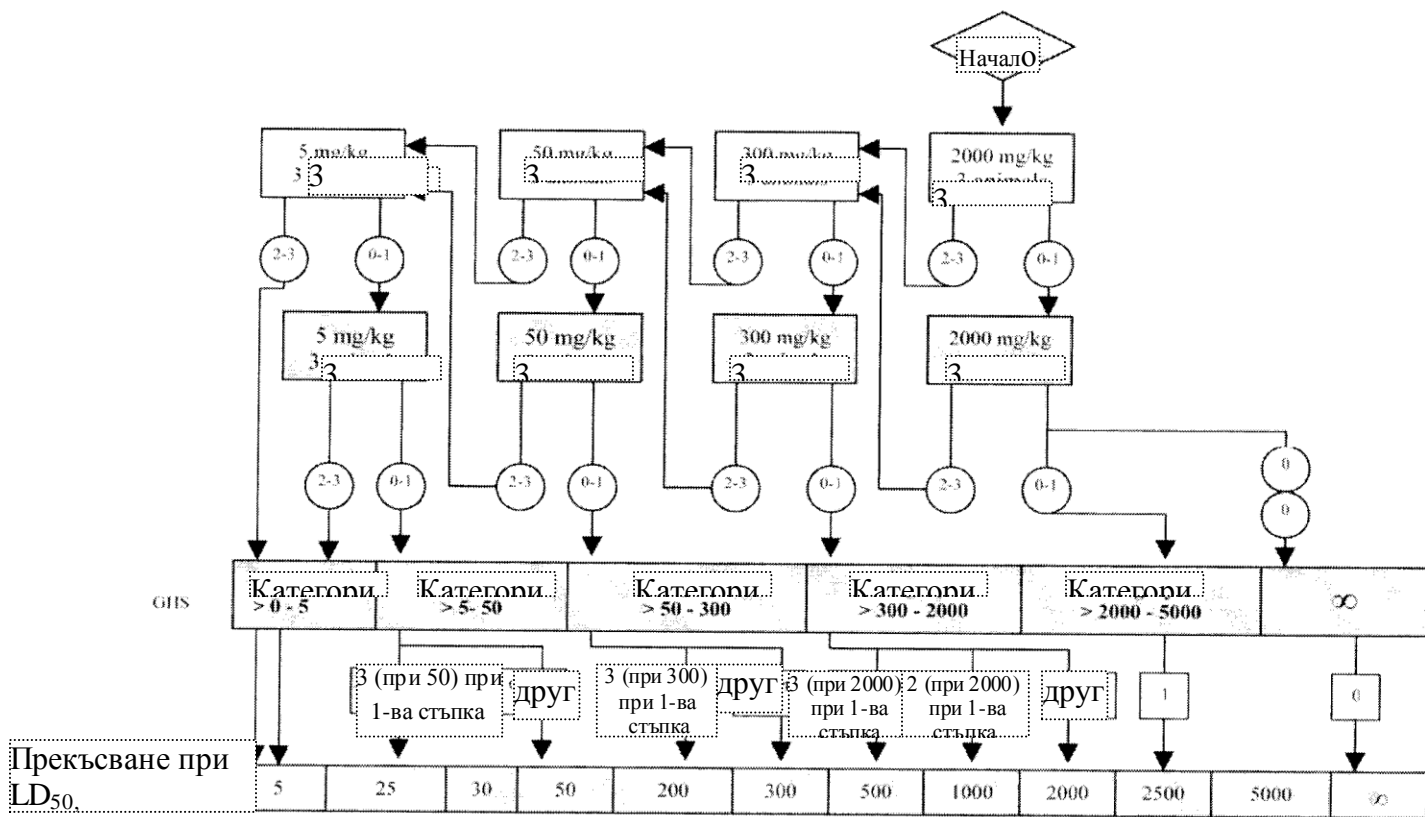
ПРИЛОЖЕНИЕ 1В

ПРОЦЕДУРА ЗА ИЗПИТВАНЕ С НАЧАЛНА ДОЗА 300 MG/ KG ТЕЛЕСНО ТЕГЛО



*ПРИЛОЖЕНИЕ 1 Г*

**ПРОЦЕДУРА ЗА ИЗПИТВАНЕ С НАЧАЛНА ДОЗА 2 000 МГ/ КГ ТЕЛЕСНО ТЕГЛО**



Прекъсване при LD<sub>50</sub>

- за стъпка 3 обикновено се използват животни от един и същ пол (обикн. от женски пол)  
 - 0, 1, 2, 3: Брой на умиращите или умрелите животни при всяка стъпка  
 - GHS: Глобална система за хармонизиране на класификацията (mg/kg телесно тегло)

- неклассифицирано  
 - Изследване при 5000 mg/kg телесно тегло  
 - Виж приложение 2

## ПРИЛОЖЕНИЕ 2

### КРИТЕРИИ ЗА КЛАСИФИЦИРАНЕ НА ИЗПИТВАНОТО ВЕЩЕСТВО С ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ НА LD50 НАД 2 000 MG/ KG БЕЗ НЕОБХОДИМОСТ ОТ ИЗПИТВАНЕ

Критериите за категория на опасност 5 са предназначени да подпомогнат идентифицирането на изпитвани вещества, които представляват относително ниска остра токсикологична опасност, но които при определени обстоятелства, могат да представляват опасност за уязвимото поколение. Тези вещества се очаква да имат орална или дермална LD50 в обхвата от 2 000- 5 000 mg/ kg или еквивалентни дози при други начини на въвеждане.

Изпитваното вещество следва да бъде класифицирано в категория на опасност, определена по:  $2\ 000\ \text{mg/ kg} < LD50 < 5\ 000\ \text{mg/ kg}$  (категория 5 в GHS) в следните случаи:

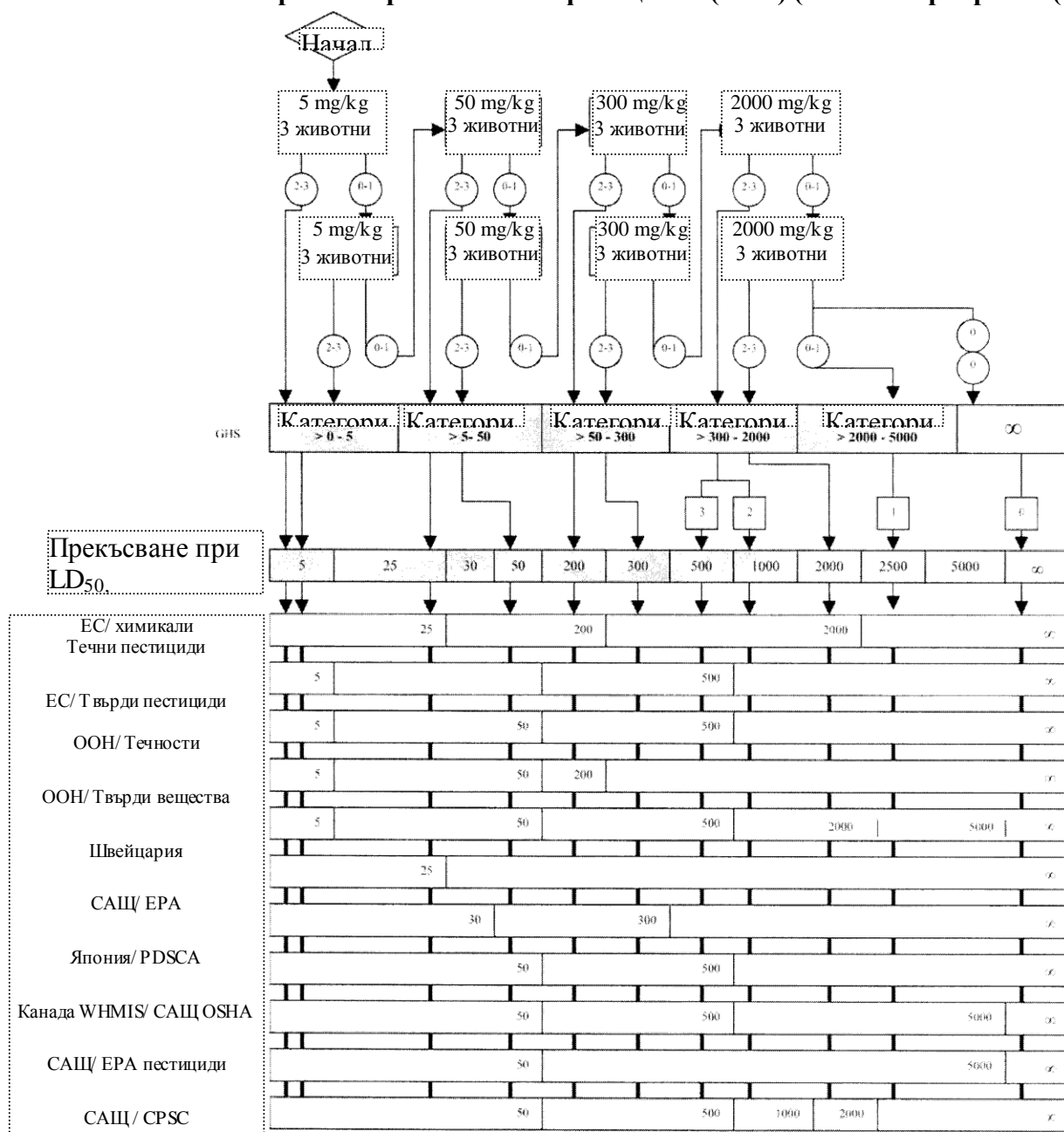
- а) ако насочено към тази категория по някоя от схемите за изследване от приложение 1a-1г, основани на смъртни инциденти;
- б) ако вече съществува достоверно доказателство, което показва, че LD50 е в обхвата от стойности на категория 5, или други изследвания върху животни, или токсикологични изследвания върху хора дават основание за сериозно безпокойство поради въздействие върху здравето на човека.
- в) чрез данни от екстраполации, оценяване или измерване, ако няма основание да се отнесе към по-висок клас на опасност, и
  - има налична достоверна информация, показваща значителни токсикологични ефекти при хората, или
  - се наблюдава смърт при изпитване със стойности, по- високи от посочените в категория 4 по орален начин на въвеждане, или
  - когато експертната оценка потвърди значимите клинични признаци на токсичност, при изпитване със стойности, по- високи от тези, в категория 4, освен при диария, пилоерекция или недобър външен вид, или
  - когато експертната оценка потвърди достоверната информация, която посочва потенциална възможност за значителни остри ефекти от други изследвания върху животни.

### ИЗСЛЕДВАНЕ С ДОЗИ НАД 2 000 MG/ KG

Признавайки необходимостта от запазване на хуманно отношение към животните, изследването на животни, попадащи в обхвата на категория 5 (5 000 mg/ kg), не е препоръчително и следва да бъде разглеждано само, когато има голяма вероятност резултатите от такова изследване да имат пряко практическо значение за опазване здравето на хората или животните (10). Следва да не бъдат провеждани допълнителни изследвания при по- високи нива на дозите. Когато за изследването се изисква прилагане на доза 5 000 mg/ kg, се изпълнява само един етап (т.е. три животни). Ако първото дозирано животно умре, тогава продължава дозирането при 2 000 mg/ kg, в съответствие с графичния алгоритъм в приложение 1. Ако първото животно оцелее, се дозират и другите две животни. Ако само едно от трите животни умре, се очаква стойността на LD50 да надвишава 5 000 mg/ kg. Ако и двете животни умрат, тогава дозирането продължава при 2 000 mg/ kg.

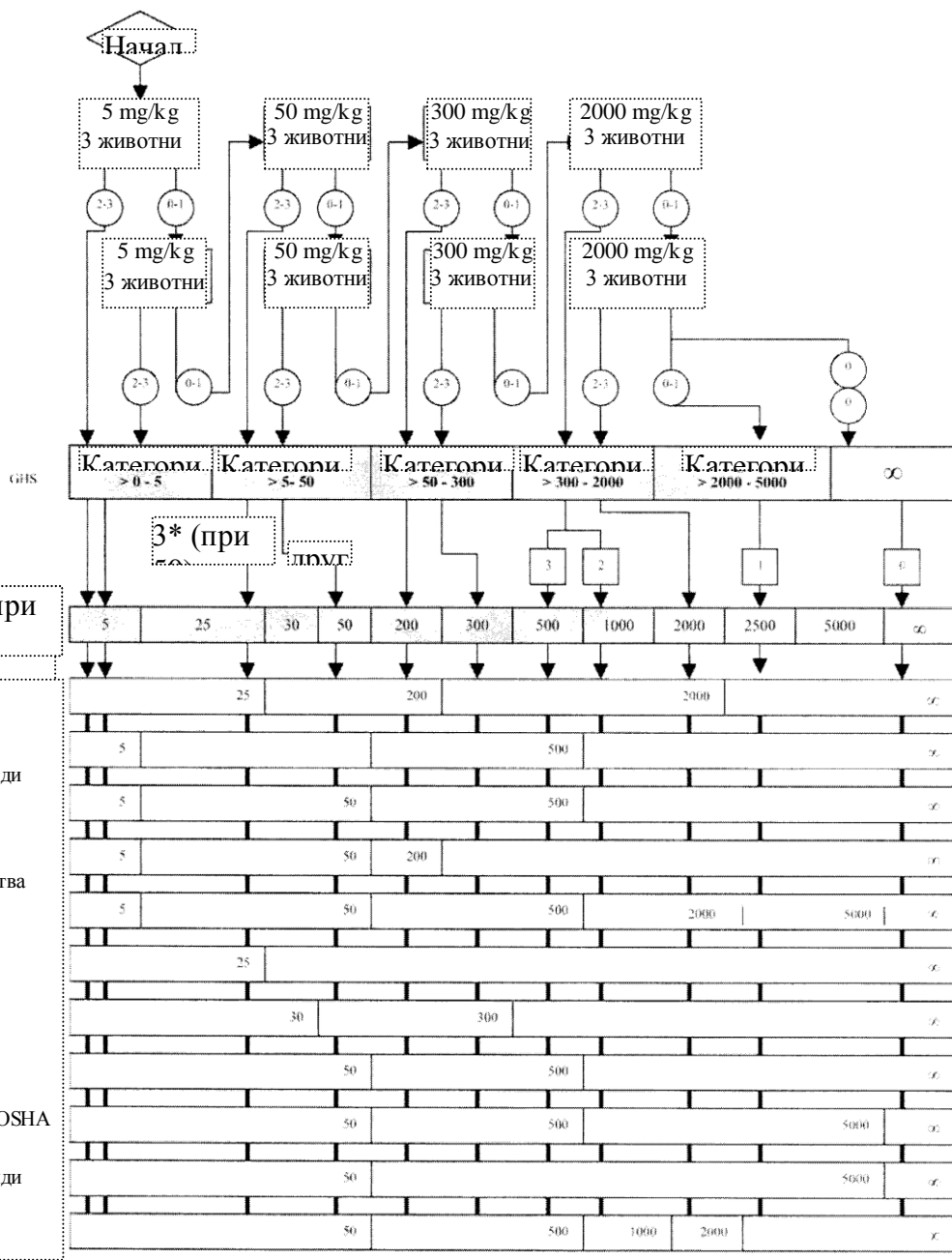
ПРИЛОЖЕНИЕ 3

**МЕТОД ЗА ИЗПИТВАНЕ В.1 tris: Ръководство за класифициране, съгласно схемата на ЕС за обхващане на преходния период до пълното прилагане на Глобалната система за хармонизиране на класификацията (GHS) (взето от препратка (8))**



за стъпка 3 обикновено се използват животни от един и същ пол (обикновено от женски пол)  
 0, 1, 2, 3: Брой на умиращите или умрелите животни при всяка стъпка

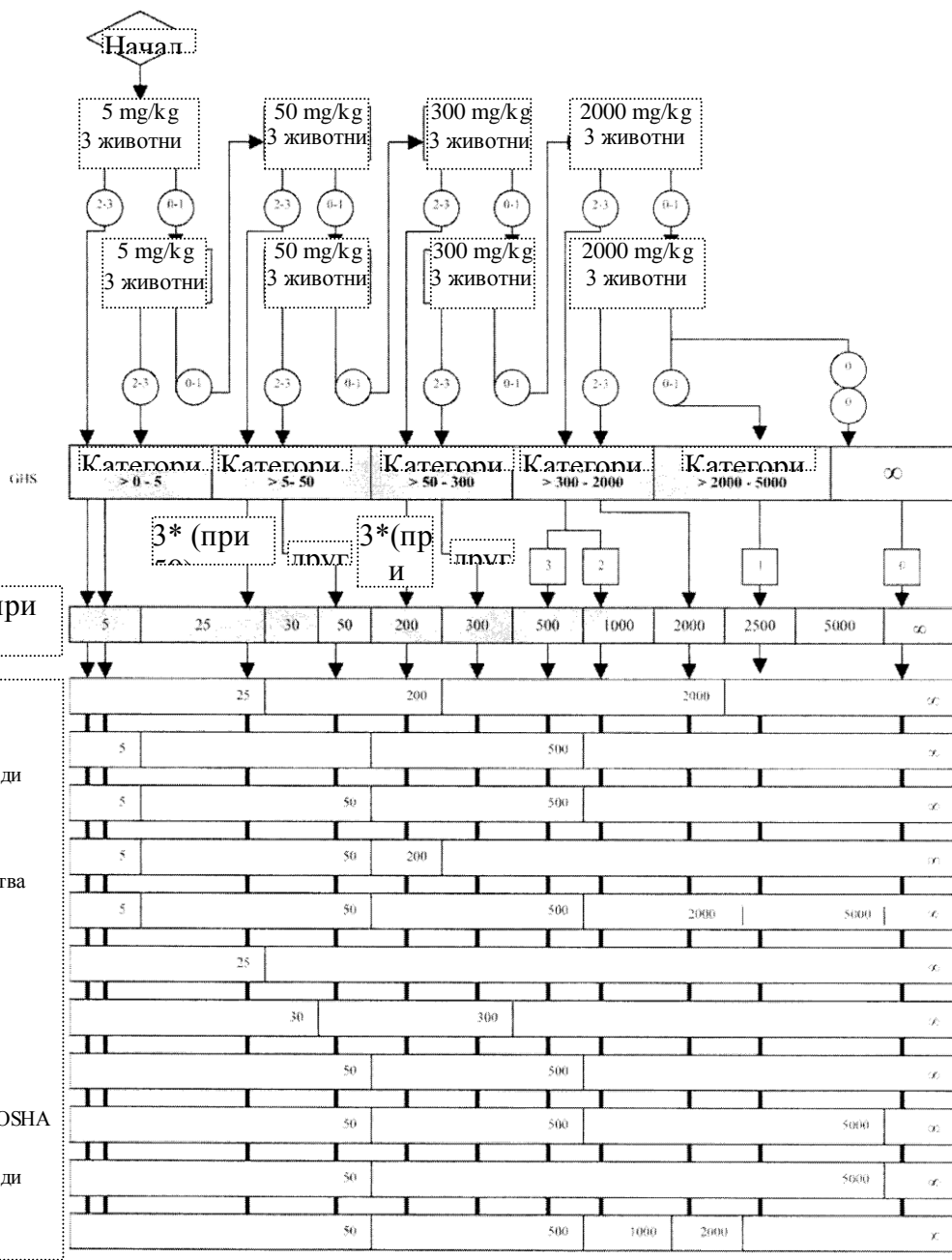
∞: неклассифицирано  
 GHS: Глобална система за хармонизиране на



за стъпка 3 обикновено се използват животни от един и същ пол (обикн. отженски пол)  
 0, 1, 2, 3: Брой на умиращите или умрелите животни при всяка стъпка

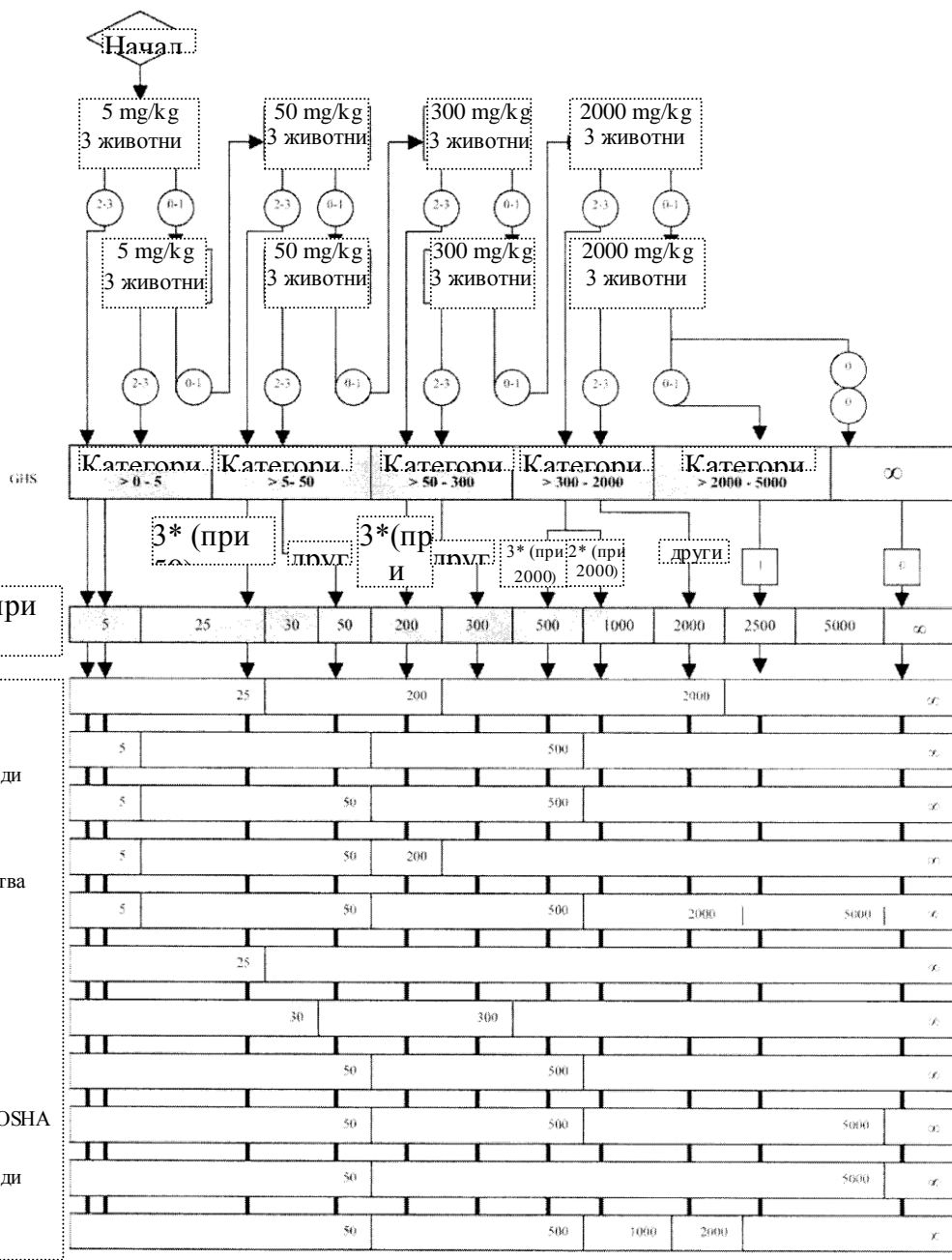
∞: неклассифицирано  
 \*: като първа стъпка  
 GHS: Глобална система за





за стъпка 3 обикновено се използват животни от един и същ пол (обикновено от женски пол)  
 0, 1, 2, 3: Брой на умиращите или умрелите животни при всяка стъпка

∞: неклассифицирано  
 \*: като първа стъпка  
 GHS: Глобална система за



за стъпка 3 обикновено се използват животни от един и същ пол (обикновено от женски пол)  
 0, 1, 2, 3: Брой на умиращите или умрелите животни при всяка стъпка

∞: неклассифицирано  
 \*: като първа стъпка  
 GHS: Глобална система за

## Б.4. ОСТРА ТОКСИЧНОСТ: КОЖНО ДРАЗНЕЩО/ КОРОЗИВНО ДЕЙСТВИЕ

### 1. МЕТОД

Този метод е еквивалентен на метод OECD TG 404 (2002).

#### 1.1. ВЪВЕДЕНИЕ

При подготовката на този осъвременен метод специално внимание беше обърнато на възможностите за усъвършенстване във връзка с осигуряване хуманно отношение към опитните животните и с цялостната оценка на съществуващата информация за изпитваното вещество с цел избягване на ненужно изпитване върху опитни животни. При този метод се препоръчва преди да се пристъпи към теста *in vivo* за оценка на корозивно/ дразнещо действие на веществото, да се извърши анализ на съществуващите данни за химичното вещество, които имат отношение към това действие. Когато липсват достатъчно данни, те могат да се получат чрез извършване на последващо проучване (1). Стратегията на изследване включва извършване на валидирани и утвърдени изследвания *in vitro* и е представена като приложение към този метод. Освен това се препоръчва, когато е възможно, при първоначалното изследване *in vivo* веществото да се прилага на животното в трите тестови приложения последователно, а не едновременно.

За целите и на научната стойност на проучването, и на хуманното отношение към животните, следва да не се пристъпва към изпитване *in vivo*, преди да бъдат анализирани и оценени всички налични данни във връзка с потенциалното корозивно/ дразнещо действие на веществото върху кожата. Тези данни включват доказателства от съществуващи проучвания върху хора и/или лабораторни животни, сведения за корозивно/ дразнещо действие на едно или повече вещества с подобен химичен строеж или смеси от такива вещества, данните за висока киселинност или алкалност на веществото (2)(3), както и резултатите от валидирани и утвърдени изследвания *in vitro* или *ex vivo* (4)(5)(5a). Този анализ следва да доведе до намаляване на необходимостта от извършване на изследвания *in vivo* за оценка на дразнещо/ корозивно действие на веществата върху кожата, за които вече съществуват достатъчно данни от други проучвания относно тези ефекти.

Като приложение към този метод е изложена препоръчителна стратегия за последователно изпитване, която включва извършването на валидирани и утвърдени *in vitro* или *ex vivo* изпитвания за оценка на корозивно/ дразнещо действие. Стратегията е разработена и единодушно препоръчана от участниците в семинар на OECD (6) и е приета като препоръчителна стратегия за изпитване в рамките на the Globally Harmonized System for the Classification of Chemical Substances, GHS (7). Глобално хармонизирана система за класифициране на химични вещества (7) Препоръчва се тази стратегия да бъде приложена, преди да се предприеме *in vivo* изпитване. За нови вещества стратегията представлява препоръчителният подход за поетапно изпитване с цел получаване на достоверни научни данни за корозивното или дразнещо действие на веществото. За съществуващи вещества с недостатъчно данни за корозивно/ дразнещо действие върху кожата, стратегията следва да се прилага, когато се провеждат проучвания, за да се получат липсващите данни. Използването на друга стратегия или процедура за изпитване, или решението да не се прилага поетапен подход за изпитване, следва да бъдат обосновани.

Когато оценката за корозивно/ дразнещо действие не може да бъде извършена чрез анализ на данните в съответствие със стратегията за последователно изпитване, следва да се пристъпи към *in vivo* изпитване (виж приложението).

## 1.2. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

**Кожно дразнене** е предизвикването на обратимо увреждане на кожата след прилагането на дадено химично вещество за период до 4 часа.

**Корозивно действие върху кожата** е предизвикването на необратимо увреждане на кожата, а именно видима некроза на епидермиса и дермата след прилагането на дадено химично вещество за период до 4 часа. Характерните прояви на корозивно действие включват язви, кръвене, а до края на 14-дневния период на наблюдение се появяват промени в цвета на кожата, области с пълна алоpecia и цикатрикси. При съмнение за вида на увреждането следва да се извърши хистопатологично изследване.

## 1.3. ПРИНЦИП НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

Изпитваното вещество се прилага еднократно върху кожата на опитно животно. Участък от кожата на животното, който не е третиран, служи като контрола. През определени интервали от време се отчита и оценява степента на дразнещо/ корозивно действие. Наблюдаваните ефекти се описват подробно, за да може да се извърши цялостната им оценка. Продължителността на наблюдението следва да бъде достатъчно голяма, за да може да се установи дали ефектите са обратими или не.

Животните, които показват трайни признаци на тежък стрес и/или болка, следва да бъдат умъртвени по хуманен начин, и тези ефекти да се вземат под внимание при оценката на веществото. Критериите за вземане на решение за умъртвяване по хуманен начин на животните, които изпитват тежко страдание и са в терминално състояние, са посочени в използваната литература (8).

## 1.4. ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

### 1.4.1. Подготовка на *in vivo* изпитването

#### 1.4.1.1. Избор на вида опитни животни

Предпочитаният вид опитни животни са зайците албиноси. Използват се млади, здрави, полово зрели животни. Използването на други животински видове следва да бъде обосновано.

#### 1.4.1.2. Подготовка на животните

Приблизително 24 часа преди изпитването козината от дорзалната част на тялото на животните се отстранява чрез подстригване или бръснене. При подстригването или бръсненето кожата не следва да се охлузва. Използват се само животни без наранявания или заболявания на кожата.

В козината на някои породи зайци има гъсто окосмени участъци, които са по-забележими през определени периоди от годината. Изпитваните вещества следва да не се прилагат върху участъците с гъсто окосмяване.

#### 1.4.1.3. Условия на отглеждане и хранене

Животните трябва да бъдат разпределени в отделни клетки.

В помещението на зайците следва да се поддържа температура 20 °C ( $\pm 3$  °C). Стойностите на относителната влажност не следва да бъдат по-ниски от 30% и е желателно да не превишават 70% освен при почистване на помещението. Целта трябва да бъде относителната влажност да се поддържа в интервала 50-60%. Осветлението следва да бъде изкуствено, като се редуват 12 часа светлина и 12 часа тъмнина. При храненето се прилагат обичайните лабораторни диети с неограничен достъп до питейна вода.

## 1.4.2. Процедура на изпитването

### 1.4.2.1. Прилагане на изпитваното вещество

Изпитваното вещество се нанася върху малък участък от кожата (около 6 cm<sup>2</sup>) и се покрива с марля. Марлята се прикрепва с помощта на лепенка, която не предизвиква дразнене на кожата. Когато не е възможно директно третиране (напр. при течности или някои пастообразни вещества), изпитваното вещество се нанася първо върху марлята, след което марлята се поставя върху кожата. През периода на експозиция марлята следва да се задържи в контакт с кожата, без да е притисната силно, с помощта на подходяща полуоклузивна превръзка. Когато изпитваното вещество се нанася върху марлята, тя следва да бъде прикрепена към кожата по такъв начин, че да се осигури плътен контакт и равномерно разпределение на веществото върху третирания участък. Достъпът на животното до марлята и поглъщането или вдишването на изпитваното вещество следва да бъде предотвратен..

Течните вещества най-често се използват, без да се разреждат. Когато се изпитва твърдо вещество (което може да се стрие на прах, ако това е необходимо), то следва да се навлажни с възможно най-малкото количество вода (или, при нужда, друг подходящ носител), което е достатъчно, за да се постигне плътен контакт с кожата. Когато се използва друг носител освен водата, той следва да не оказва влияние върху кожното дразнене, предизвикано от изпитваното вещество, или влиянието му следва да бъде минимално.

В края на периода на експозиция (обикновено 4 часа) остатъкът от веществото се отстранява от кожата, когато това е възможно, с вода или подходящ разтворител, без да се променя видът на кожната реакция или да се нарушава целостта на епидермиса.

### 1.4.2.2. Дози

Върху кожния участък се нанасят 0,5 ml от течни химични вещества или 0,5 g от твърди или пастообразни химични вещества.

### 1.4.2.3. Първоначално изпитване (*In vivo* изпитване за дразнещо/ корозивно действие върху кожата с използване на едно опитно животно).

Препоръчва се *in vivo* изпитването да се извърши първоначално върху едно опитно животно, особено в случаите, когато се предполага, че веществото проявява корозивно действие. Този подход е в съответствие със стратегията за последователно изпитване (виж приложение 1).

Когато въз основа на анализа на съществуващите данни се прецени, че веществото проявява корозивно действие, не е необходимо по-нататък то да се изпитва върху лабораторни животни. За повечето химични вещества, за които се предполага, че са корозивни, най-често не е необходимо да се извършва *in vivo* изпитване. Въпреки това в случаите, когато се

прецени, че са необходими допълнителни данни, поради недостатъчни доказателства може да се извърши изпитване върху животни в ограничен обем, като се използва следният подход: веществото се прилага върху едно и също животно последователно до 3 пъти. Първият път превръзката и марлята се отстраняват след три минути. Ако не се наблюдава значителна кожна реакция, веществото се прилага втори път за един час. Ако наблюденията на този етап показват, че експозицията може продължи 4 часа, като се спази принципът за хуманно отношение към животните, веществото се нанася трети път за четири часа, след което се оценява степента на реакцията.

Когато след една от трите последователни апликации се открие корозивен ефект, изпитването се прекратява веднага. Когато след нито една от апликациите не се наблюдава корозивен ефект, опитното животно се проследява в продължение на 14 дни, освен ако на по-ранен етап не се появят корозивни промени.

В случаите, когато не се очаква изпитваното вещество да прояви корозивно действие, но може да предизвика дразнене, третирането се провежда върху едно животно с една апликация за четири часа.

#### *1.4.2.4. Потвърдително изпитване ((In vivo изпитване за кожно дразнещо действие с използване на допълнителни опитни животни).*

Когато при първоначалното изпитване не се установява корозивен ефект, наблюдаваните прояви на дразнене или отрицателната реакция следва да бъдат потвърдени, като се извърши еднократно третиране на най-много две допълнителни животни за 4 часа. Ако при първоначалното изпитване са отчетени прояви на дразнене, потвърдителното изпитване може да се извърши последователно с използване на едно или две опитни животни или едновременно върху двете опитни животни. Когато по изключение не е проведено първоначално изпитване, могат да се третират две или три животни, като на всяко животно се прави по една апликация за 4 часа. Когато се използват две животни и при двете се наблюдава една и съща реакция, не е необходимо по-нататъшно продължаване на изпитването. В обратния случай се третира и трето допълнително животно. При получаване на противоречиви резултати може да се наложи използването на още допълнителни животни.

#### *1.4.2.5. Период на наблюдение*

Продължителността на периода на наблюдение следва да бъде достатъчна за пълната оценка на обратимостта на наблюдаваните ефекти. Въпреки това изпитването трябва да се прекрати във всеки момент, когато животните покажат трайни признаци на силна болка или стрес. Обикновено за да се установи дали ефектите са обратими, животните се наблюдават в продължение на 14 дни след прекратяване на експозицията. Ако преди края на 14-дневния период се установи, че промените са обратими, изпитването се прекратява в момента, когато това е установено.

#### *1.4.2.6. Клинични наблюдения и оценка на кожните реакции*

Всички животни се преглеждат за признаци на еритема и едем и реакциите се оценяват 60 минути, а след това 24, 48 и 72 часа след прекратяването на експозицията. При първоначалното изпитване върху едно животно третираният участък се преглежда и веднага след отстраняването на превръзката и марлята. Кожните промени се класифицират и отчитат според скалата, дадена в таблица 1. Когато до 72-ия час не може да се определи дали настъпилото увреждане на кожата е проява на дразнещо или корозивно действие, наблюдението продължава до 14-ия ден, за да се оцени дали промените са обратими. Освен

признаците на дразнене следва да се опишат подробно и всички локални токсични прояви (напр. изсушаване на кожата) и системни неблагоприятни ефекти (напр. клинични симптоми на отравяне, промени в телесната маса). Когато е необходимо да се изяснят противоречиви резултати, следва да се използва хистопатологично изследване.

Класифицирането на кожните промени е субективен процес. За да се постигне съответствие в оценките при класифицирането на кожните промени и да се подпомогнат лабораториите, в които се провеждат изпитвания, и лицата, които наблюдават животните и оценяват намерените промени, персоналът, извършващ наблюдението, е необходимо да бъде добре обучен да прилага класификационната скала (виж таблицата по-долу). Може да се използва и илюстрирано ръководство за класифициране на проявите на кожно дразнене и други увреждания. (9).

## **2. ДАННИ**

### **2.1. ПРЕДСТАВЯНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ**

В отчета за изпитването получените резултати следва да се обобщят в табличен вид. Той следва да включва всички данни, посочени в точка 3.1.

### **2.2. ОЦЕНКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ**

Баловата оценка на кожното дразнене следва да се разглежда във връзка с вида, тежестта и обратимостта или необратимостта на уврежданията. Индивидуалната балова оценка не е единственият критерий за определяне на дразнещите свойства на изпитваното вещество, тъй като се оценяват и други ефекти на веществото. Вместо това индивидуалният бал следва да се разглежда като стойност, която се оценява съвместно с всички други наблюдения от проучването.

При оценката на дразнещия ефект трябва да се има предвид дали кожните увреждания са обратими или не. Когато промени като алоpecia (в ограничени участъци), хиперкератоза, хиперплазия и излющване на кожата се задържат до края на 14-дневния период на наблюдение, изпитваното вещество следва да се класифицира като дразнещо.

## **3. ДОКЛАДВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ**

### **3.1. ОТЧЕТ ЗА ИЗПИТВАНЕТО**

Отчетът за изпитването трябва да включва следната информация:

Обосновка за провеждане на *in vivo* изпитване: резултати от анализа на съществуващите данни, включително резултатите от прилагането на стратегията за последователно изпитване:

- описание на съответните данни от предишни изпитвания;
- данни, получени при всеки етап от стратегията за изпитване;
- описание на извършените *in vitro* изпитвания, включително подробно представяне на процедурите на изпитване и резултатите за изпитваните и референтните химични вещества.

- анализ на съществуващите данни с оглед преценка на необходимостта от извършване на *in vivo* проучване:

Изпитвано вещество:

- данни за идентифициране на химичното вещество (напр. CAS номер, източник, чистота, известни примеси, номер на партидата);
- физична природа и физикохимични свойства (напр. рН, летливост, разтворимост, стабилност);
- при изпитване на смеси, се представят данни за качествения състав на сместа и процентното съдържание на компонентите ѝ.

Носител (ексципиент):

- Химично идентифициране, концентрация (където е необходимо), използван обем;
- обосновка за избора на носителя.

Опитни животни:

- използван вид/ порода, обосновка за използване на други животински видове/ породи освен зайци албиноси;
- брой на животните от всеки пол;
- индивидуална телесна маса на всяко животно в началото и края на изпитването;
- възраст на животните в началото на проучването;
- източник за доставка на животните, условия на отглеждане, диета и т.н.

Условия на изпитването

- начин за подготовка на кожния участък за третиране;
- описание на материалите, използвани при апликацията на веществото и приготвянето на превръзката, и на начина на поставяне на превръзката;
- описание на подготовката на изпитваното вещество за нанасяне и на нанасянето и отстраняването му.

Резултати:

- таблица с баловите оценки на проявите на дразнещо/ корозивно действие за всяко животно във всички моменти на отчитане;
- описание на всички наблюдавани увреждания;
- описание в разказна форма на вида и степента на наблюдаваните прояви на дразнене/ корозивно действие, както и на хистопатологичните заключения;



- описание на други неблагоприятни локални (напр. отстраняване на мазнините на кожата) и системни ефекти освен проявите на кожно дразнене и корозивно действие.

Обсъждане на резултатите

#### 4. ЛИТЕРАТУРА

(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 №.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., Esdaile, D.J., Holzutter, 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) Testing Method B.40 Skin Corrosion.

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

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

(8) OECD (2000). Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. OECD Environmental Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment №.19 (<http://www1.oecd.org/ehs/test/monos.htm>).

(9) EPA (1990). Atlas of Dermal Lesions, (20T-2004). United States Environmental Protection Agency, Office of Pesticides and Toxic Substances, Washington, DC, August 1990.  
[Може да се получи от секретариата на OECD].

#### ТАБЛИЦА I. СКАЛА НА КОЖНИТЕ ПРОМЕНИ

##### Образуване на еритема и есхара

Отсъствие на еритема.....0

Много слаба еритема (едва забележима).....	1
Добре изразена еритема.....	2
Умерена до тежка еритема.....	3
Тежка еритема (силно зачервяване - с цвят на цвекло) до образуване на есхара, което не позволява да се отчете балът на еритемата.....	4

Максимален бал - 4

### **Образуване на едем**

Отсъствие на едем.....	0
Много слаб едем (едва забележим).....	1
Лек едем ( границите на едемния участък са видимо повдигнати и се очертават ясно).....	2
Умерено изразен едем ( подуване около 1 мм).....	3
Тежък едем (подуване повече от 1 мм, което обхваща участък, по-голям от третирания).....	4

Максимален бал – 4

Когато е необходимо да се изяснят противоречиви резултати, може да проведе хистопатологично изследване.

## **ПРИЛОЖЕНИЕ**

Стратегия за последователно изпитване за оценка на дразнещо/ корозивно действие върху кожата

### **ОБЩИ СЪОБРАЖЕНИЯ**

В интерес на научната стойност на проучването и на хуманното отношение към животните е важно да се избягва ненужното използване на опитни животни и да се допускат колкото е възможно по-малко изпитвания, за които се очаква, че ще предизвикат тежки увреждания. Преди да се пристъпи към *in vivo* изпитвания, следва да се оцени цялата съществуваща информация по отношение на дразнещия/ корозивния потенциал на дадено химично вещество за кожата. Възможно е вече да съществуват достатъчно данни, въз основа на които веществото може да се класифицира по отношение на кожно дразнещо/ корозивно действие, без да е необходимо да се извършват изпитвания върху лабораторни животни. Затова чрез

анализа на съществуващите данни и стратегията за последователно изпитване свежда до минимум необходимостта от *in vivo* изпитвания, особено когато се очаква, че химичното вещество ще предизвика тежки увреждания у животните.

Препоръчва се да се извърши анализ на съществуващите данни за кожното дразнещо и корозивно действие на химичното вещество, за да се прецени дали да се проведат други проучвания освен *in vivo* дермалните изпитвания, които могат да подпомогнат оценката на дразнещия/ корозивния потенциал. Когато се прецени, че са нужни по-нататъшни проучвания, се препоръчва необходимите експериментални данни да се получат, като се приложи стратегията за последователно изпитване. За химични вещества, които не са изпитвани досега, стратегията за последователно изпитване трябва да се използва, за да се съберат всички данни, необходими за оценката на дразнещия/ корозивния ефект върху кожата. Стратегията за изпитване, изложена в това приложение, е разработена на семинар на OECD (1) и по-късно е утвърдена и разширена в рамките на Хармонизираната интегрирана система за класифициране на опасностите във връзка с ефектите на химичните вещества върху човешкото здраве и околната среда, приета на 28-та Съвместна среща на Комитета по химикалите и Работната група по химикалите, ноември 1998 година (2).

Въпреки че стратегията за последователно изпитване не е включена като неразделна част от метод Б 4, тя представлява препоръчителния подход за оценка на дразнещия и корозивния ефект върху кожата. Този подход съответства в най-висока степен на критериите за добра практика и етика при *in vivo* изпитванията за оценка на кожното дразнещо и корозивно действие. В представения метод са дадени указания за провеждането на *in vivo* изпитването и се обобщават факторите, които следва да се вземат предвид, преди да се пристъпи към него. Стратегията предлага подход за оценка на съществуващите данни за кожното дразнещо/ корозивно действие на химичните вещества и поетапен подход за получаване на необходимите данни за веществата, които досега не са били изследвани или за които са необходими допълнителни проучвания. В нея също се препоръчва при определени условия извършването на валидирани и утвърдени *in vitro* или *ex vivo* методи за оценка на кожно корозивно/ дразнещо действие.

## **ОПИСАНИЕ НА СТРАТЕГИЯТА ЗА ОЦЕНКА И ИЗПИТВАНЕ**

Преди да се предприемат изпитвания в рамките на стратегията за последователно изпитване (фигурата), следва да се прецени цялата налична информация, за да определяне на необходимостта от провеждане на *in vivo* дермално изпитване. Въпреки че при оценката на отделни параметри (например много високи или ниски стойности на рН ) може да се получи съществена информация, следва да се разгледат всички съществуващи данни. Всички сведения за ефектите на дадено вещество или негови структурни аналози следва да бъдат оценени в процеса на вземане на решение и да се представи обосновката на взетото решение. На първо място трябва да се обърне внимание на съществуващите данни за ефектите върху хора и животни, а след това да се оценят резултатите от *in vitro* или *ex vivo* изпитвания. Във всички случаи, когато е възможно, трябва да се избягва провеждането на *in vivo* изпитвания на корозивни химични вещества. Факторите, които се вземат под внимание в стратегията на изпитване, включват:

*Оценка на съществуващите данни за хора и животни (стъпка 1).* Съществуващите данни за хора, като например данни от клинични проучвания, проучвания върху работници, описания на случаи и/или данни от изпитвания върху животни, например от проучвания на острата дермална токсичност или дермалната токсичност при многократно постъпване, следва да се разглеждат с предимство, защото те осигуряват информация, пряко свързана с ефектите

върху кожата. Не е необходимо да се провеждат *in vivo* изпитвания на вещества с известно дразнещо или корозивно действие, както и на тези, при които данните убедително показват отсъствие на дразнещ или корозивен ефект.

*Анализ на зависимостите “структура-активност” (structure activity relationships, SAR) (стъпка 2).* Резултатите от изпитвания на вещества с подобна химична структура следва да се вземат под внимание, ако са налице такива данни. Когато съществуват достатъчно данни за хора и/или животни, свидетелстващи за дермално дразнещо/ корозивно действие на химични вещества с аналогична структура или смеси от такива вещества, може да се приеме, че веществото, което подлежи на проучване, ще предизвика същия ефект. В тези случаи може да се прецени, че не е необходимо да се провежда изпитване. Съгласно стратегията за последователно изпитване негативните данни от проучвания на химични вещества с аналогична структура или смеси от такива вещества не се считат като достатъчно основание, за да се приеме отсъствие на корозивен или дразнещ ефект за дадено химично вещество. За установяване на потенциално корозивно/ дразнещо действие върху кожата следва да се използват валидирани и утвърдени SAR подходи.

*Физикохимични свойства и химична активност (стъпка 3).* Химични вещества с много високо или много ниско рН ( $\text{pH} \geq 11.5$  или  $\text{pH} \leq 2.0$ ) могат да предизвикат силно изразени локални ефекти. Когато дадено химично вещество може да се определи като корозивно за кожата въз основа на високо или ниско рН, следва да се вземе под внимание и неговият алкално-киселинен резерв (или буферен капацитет) (3)(4). Когато данните за буферния капацитет показват, че веществото може да не е корозивно за кожата, следва да се проведе по-нататъшно проучване за потвърждаване на това предположение, за предпочитане посредством валидирано и утвърдено *in vitro* или *ex vivo* изпитване (виж стъпки 5 и 6).

*Дермална токсичност (стъпка 4).* Когато е доказано, че дадено химично вещество проявява висока токсичност по дермален път на постъпване, провеждането на *in vivo* изпитване за кожно дразнещо/ корозивно действие може да бъде практически невъзможно, тъй като количеството от изпитваното вещество, което обикновено се прилага може да надвиши дозите, водещи до изразена токсичност или леталитет, и вследствие на това изпитването да доведе до смърт или тежко страдание на опитните животни. В допълнение, когато са извършени проучвания на дермалната токсичност върху зайци албиноси с лимитираща доза 2 000 mg/kg т. или по-високи дози, и при тях не е установено кожно дразнене или корозивен ефект, може да се прецени, че не е необходимо да се провежда по-нататъшно изпитване за кожно дразнещо/ корозивно действие. Когато острата дермална токсичност се оценява въз основа на извършени в миналото проучвания, следва да се имат предвид редица съображения. Например, представените данни за кожни увреждания могат да бъдат непълни. Изпитването и наблюденията може да са извършени не върху зайци, а върху друг животински вид, който се различава значително по своята чувствителност към веществото. Също така формата, в която изпитваното вещество е приложено на животните, може да не е избрана подходящо с оглед оценката на кожно дразнещо/ корозивно действие (например, при оценката на дермалната токсичност веществата се използват често в разрежено състояние (5)). Въпреки това, в случаите, когато са налице адекватно планирани и проведени проучвания на дермалната токсичност върху зайци, отрицателните резултати могат да се считат като достатъчно доказателство за това, че веществото не проявява корозивно или дразнещо действие.

*Резултати от *in vitro* или *ex vivo* изпитвания (стъпки 5 и 6).* Химични вещества, които проявяват корозивни или силно изразени дразнещи свойства при валидирано и утвърдено *in vitro* или *ex vivo* изпитване за оценка на тези специфични ефекти (6)(7), не е необходимо да

се изпитват върху животни. Може да се приеме, че тези вещества ще предизвикат подобни силно изразени ефекти *in vivo*.

*In vivo* изпитване върху зайци (стъпки 7 и 8). Когато е взето решение за провеждане на *in vivo* изпитване, то следва да започне с третиране на едно животно. Когато резултатите от третирането показват, че веществото е корозивно за кожата, по-нататъшно изпитване не следва да се извършва. Ако при първоначалното изпитване не се наблюдава корозивен ефект, дразнещият ефект или негативният резултат следва да се потвърди, като се третират най-много две допълнителни животни при 4-часова експозиция. Когато при първоначалното изпитване се наблюдава дразнещо действие, изпитването за потвърждение на резултата може да се извърши последователно (върху едно животно и при необходимост - върху второ животно) или едновременно върху две животни.

## ЛИТЕРАТУРА

(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 28<sup>th</sup> 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., Esdail D.J., Liebsch M. (1998). An Evaluation of the Proposed OECD Testing Strategy for Skin Corrosion. ATLA 26, 709-720.

(4) Young, J.R., How, M.J., Walker, A.P., Worth, W.M.H. (1988). Classification as Corrosive or Irritant to Skin of Preparations Containing Acidic or Alkaline Substances, Without Testing on Animals. Toxic. In Vitro, 2 (1) 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.

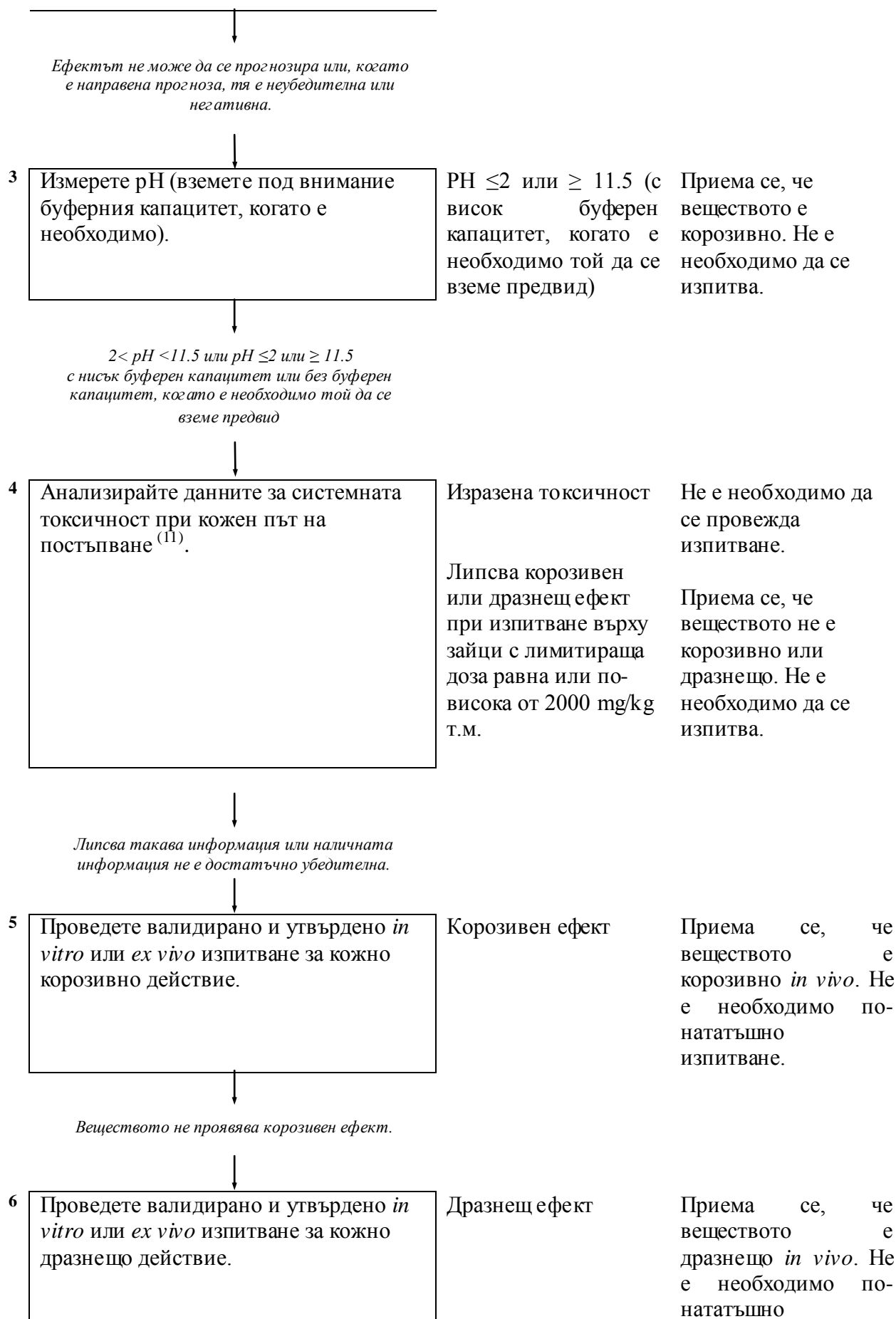
(6) Testing Method B.40.

(7) Fentem, J.H., Archer, G.E.B., Balls, M., Botham, P.A., Curren, R.D., Earl, L.K., Esdail, 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.

## ФИГУРА

### СТРАТЕГИЯ ЗА ИЗПИТВАНЕ И ОЦЕНКА НА ДРАЗНЕЩО/ КОРОЗИВНО ДЕЙСТВИЕ ВЪРХУ КОЖАТА

	Действие	Резултат	Извод
1	Съществуващите данни за хора и/или животни показват наличие на ефекти върху кожата или лигавиците.	Корозивен ефект  Дразнещ ефект  Ефектът не е корозивен / не е дразнещ.	С този резултат проучването приключва. Веществото се класифицира като корозивно. Не е необходимо да се изпитва.  С този резултат проучването приключва. Веществото се класифицира като дразнещо. Не е необходимо да се изпитва.  С този резултат проучването приключва. Веществото не се класифицира като корозивно или дразнещо. Не е необходимо да се изпитва.
	↓ <i>Липса информация или наличната информация не е достатъчно убедителна.</i> ↓		
2	Извършете оценка на SAR за кожно дразнещо / корозивно действие.	Прогнозира се тежко увреждане на кожата.  Прогнозира се дразнещ ефект върху кожата.	Веществото се класифицира като корозивно. Не е необходимо да се изпитва.  Веществото се класифицира като дразнещо. Не е необходимо да се изпитва.



<sup>1</sup> Може да се извърши и между стъпки 2 и 3.

[Empty box]

изпитване.

↓  
*Все още не са налице валидирани и утвърдени in vitro или ex vivo методи за оценка на кожно дразнещо действие или веществото не проявява дразнещ ефект.*

7 Извършете първоначално *in vivo* изпитване върху един заек.

Тежко увреждане на кожата

Веществото се класифицира като корозивно. Не е необходимо по-нататъшно изпитване.

↓  
*Не се наблюдава тежко увреждане.*

8 Извършете потвърдително изпитване върху едно или две допълнителни животни.

Корозивен или дразнещ ефект

Веществото се класифицира като корозивно или дразнещо. Не е необходимо по-нататъшно изпитване.

Липсва корозивен или дразнещ ефект.

Веществото не се класифицира като корозивно или дразнещо. Не е необходимо по-нататъшно изпитване.



## Б5. ОСТРА ТОКСИЧНОСТ: ОЧНО ДРАЗНЕЩО/ КОРОЗИВНО ДЕЙСТВИЕ

### 1. МЕТОД

Този метод е еквивалентен на OECD TG 405 (2002)

#### 1.1. ВЪВЕДЕНИЕ

При подготовката на този осъвременен метод специално внимание е отделено на възможностите за усъвършенстване на метода посредством оценка на цялата съществуваща информация за изпитваното вещество с оглед избягване на ненужно изпитване върху лабораторни животни. В този метод се препоръчва преди да се пристъпи към *in vivo* изпитването за оценка на острото корозивно/ дразнещо действие върху очите, да се извърши анализ на съществуващите данни за химичното вещество (1), които имат отношение към тези ефекти. Когато липсват достатъчно данни, се препоръчва те да бъдат получени чрез извършване на последователно изпитване (2)(3). Стратегията за изпитването включва извършването на валидирани и утвърдени *in vitro* изпитвания и е изложена като приложение към този метод. Също така се препоръчва преди да се вземе решение за провеждане на *in vivo* изпитване за очно дразнещо/ корозивно действие, да се проведе *in vivo* изпитване за оценка на кожното дразнещо/ корозивно действие, въз основа на което може да се предвиди корозивният ефект върху очите.

В интерес, както на научната стойност на проучването, така и на хуманното отношение към лабораторните животни, е да не се взема решение за провеждане на *in vivo* изпитване, преди да бъдат анализирани и оценени всички налични данни във връзка с потенциалното корозивно/ дразнещо действие на веществото върху очите. Тук се включват данни от съществуващи проучвания върху хора и/или лабораторни животни, данни за корозивно/ дразнещо действие на едно или повече вещества с подобен химичен строеж или смеси от такива вещества, данни за висока киселинност или алкалност (4)(5), както и резултати от валидирани и утвърдени *in vitro* или *ex vivo* методи за оценка на дразнещо/ корозивно действие върху кожата (6)(6a). Проучванията могат да бъдат извършени преди анализа на съществуващите данни или в резултат от този анализ.

За някои вещества анализът може да покаже необходимост от извършване на *in vivo* изпитване за оценка на потенциалното дразнещо/ корозивно действие върху очите. Във всички тези случаи преди да се вземе решение за провеждане на това изпитване, се препоръчва да се извърши *in vivo* изпитване на дермалните ефекти на веществото и оценка на резултатите от него съгласно метод Б.4 (7). Приложението на анализа на съществуващите данни и стратегията за последователно изпитване следва да доведе до намаляване на необходимостта от извършване на *in vivo* изпитвания за очно корозивно/ дразнещо действие на веществата, за които съществуват достатъчно събрани данни от други проучвания. *In vivo* изпитване за оценка на очното корозивно/ дразнещо действие може да се проведе, когато потенциалното очно корозивно/ дразнещо действие не може да се оцени чрез прилагане на стратегията за последователно изпитване дори след извършването на *in vivo* изпитване за кожно дразнещо/ корозивно действие.

Като приложение към този метод е представена препоръчителна стратегия за последователно изпитване, която включва прилагането на валидирани *in vitro* или *ex vivo* методи за оценка на корозивно/ дразнещо действие. Стратегията е разработена и единодушно препоръчана от участниците в семинар на OECD (8) и е приета като препоръчителна стратегия за изпитване в

рамките Глобално хармонизирана система за класифициране на химични вещества (the Globally Harmonized System for the Classification of Chemical Substances, GSH (9)). Препоръчва се тази стратегия за изпитване да се приложи, преди да се проведе *in vivo* изпитване. За нови вещества стратегията представлява препоръчителният подход за поетапно изпитване с цел получаване на достоверни научни данни за корозивно/ дразнещо действие. За съществуващи вещества с недостатъчно данни за кожно и очно корозивно/ дразнещо действие, стратегията следва да се приложи, за да се получат липсващите данни. Използването на друга стратегия или процедура за изпитване или решението да не се прилага поетапният подход за изпитване следва да бъдат обосновани.

## 1.2.ОПРЕДЕЛЕНИЯ

**Очно дразнене** е предизвикването на промени в окото след прилагане на изпитваното вещество върху предната очна повърхност, като промените се възстановяват напълно до 21-я ден след третирането.

**Корозивно действие върху очите** е предизвикването на увреждане на тъканите на окото или сериозно увреждане на зрението вследствие прилагането на изпитваното вещество върху предната очна повърхност, като увреждането не се възстановява напълно до 21-я ден след третирането.

## 1.3.ПРИНЦИП НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

Изпитваното вещество се прилага еднократно върху едно от очите на опитното животно а окото, което не е третирано, служи като контрола. През определени интервали от време се отчита и оценява степента на дразнещо/корозивно действие върху конюнктивата, роговицата и ириса. Други ефекти върху очите, както и неблагоприятни системни ефекти също се описват с оглед извършването на цялостна оценка на токсичното действие. Продължителността на наблюдението трябва да бъде достатъчно голяма, за да може да се отчете дали наблюдаваните ефекти са обратими или не.

Животните, които показват трайни признаци на тежък стрес и/или болка в който и да е момент от изпитването, трябва да бъдат умъртвени по хуманен начин и наблюдаваните ефекти да се вземат под внимание при оценката на веществото. Критериите за вземане на решение за умъртвяване по хуманен начин на животните, които изпитват тежко страдание и се намират в терминално състояние, са посочени в литературата (10)

## 1.4.ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

### 1.4.1. Подготовка на *in vivo* изпитването

#### 1.4.1.1. Избор на вида опитни животни

Предпочитаните опитни животни са зайците албиноси. Използват се млади, здрави, полово зрели животни. Използването на други животински видове трябва да бъде обосновано.

#### 1.4.1.2. Подготовка на животните

Двете очи на всяко експериментално животно, което е избрано за евентуално включване в изпитването, трябва да се прегледат през последните 24 часа преди началото му. Животните, при които се установяват признаци на очно дразнене, очни дефекти или предшестващо увреждане на роговицата, не следва да се използват.

### *1.4.1.3. Условия на отглеждане и хранене*

Животните следва да бъдат разпределени в отделни клетки. В помещението, в което се намират зайците, следва да се поддържа температура 20 °C ( $\pm 3$  °C). Стойностите на относителната влажност следва да не са по-ниски от 30% и е желателно да не превишават 70% освен по време на почистване на помещението. Целта е относителната влажност да се поддържа в интервала 50-60%. Осветлението следва да бъде изкуствено, като се редуват 12 часа светлина и 12 часа тъмнина. При храненето се прилагат обичайните лабораторни диети с неограничен достъп до питейна вода.

## **1.4.2. Процедура на изпитването**

### *1.4.2.1. Прилагане на изпитваното вещество*

Изпитваното вещество трябва да се постави в конюнктивалната торбичка на едното око на всяко от животните след леко издърпване на долния клепач по-напред от очната ябълка. След това двата клепача се държат долепени за около една секунда, за да може цялото поставено количество от веществото да се задържи в контакт с окото. Другото око не се третира и служи за контрола.

### *1.4.2.2. Промивка*

Очите на опитните животни не следва да се промиват в продължение най-малко на 24 часа след прилагане на веществото, освен в случаите, когато веществото е в твърдо агрегатно състояние (виж точка 1.4.2.3.2) и когато корозивният или дразнещ ефект се проявява непосредствено след третирането. Промивка може да се направи на 24-я час след третирането, ако е необходимо.

Използването на допълнителна група животни за изследване влиянието на промивката не се препоръчва, освен ако не е достатъчно обосновано от научна гледна точка. Когато е необходимо използването на допълнителна група, тя следва да включва два заека. Условията за извършване на промивката следва да се документират внимателно, включително дата и час, състав и температура на разтвора за промиване и използвано количество от него, продължителност и скорост на промиването.

### *1.4.2.3. Дози*

#### *1.4.2.3.1. Изпитване на течности*

Когато се изпитват течни вещества, третирането се извършва с количество от 0,1 ml. Вещества, които се употребяват под формата на спрей, следва да не бъдат прилагани директно върху окото чрез пръскане. В този случай част от течността следва да се изпръска и да се събере в контейнер, след което от нея се взема необходимото количество от 0,1 ml и се поставя в окото.

#### *1.4.2.3.2. Изпитване на твърди вещества*

Когато се изпитват твърди, пастообразни вещества и вещества, съставени от дребни частици, се прилага количество с обем 0,1 ml или маса не повече от 100 mg. Материалът, който се изпитва, следва да бъде стрит до фин прах. Обемът на прахообразното твърдо вещество следва да бъде измерен след леко уплътняване, например чрез почукване върху съда, в който

се извършва измерването. Когато твърдото вещество не се е отстранило от окото по естествен път при първото отчитане на наблюдаваните промени (един час след третирането), окото може да се изплакне с физиологичен разтвор или дестилирана вода.

#### *1.4.2.3.3. Изпитване на аерозоли*

При всички веществата, които се прилагат като спрей (спрей с помпа или аерозол), се препоръчва част от течността да се изпръска в контейнер и от нея да се вземе количеството, необходимо за третиране на окото. Изключение се прави само за вещества в аерозолни флакони под налягане, които не могат да се съберат по този начин поради това, че се изпаряват. В тези случаи окото следва да се придържа отворено и изпитваното вещество се поставя директно върху предната му повърхност с едно изпръскване в продължение на около една секунда. Флаконът се държи пред окото на разстояние 10 cm. Разстоянието може да варира в зависимост от налягането на аерозола и неговия състав. Изпръскването под налягане трябва да се извърши внимателно, за да не се увреди окото. В някои случаи може да бъде необходимо да се оцени потенциалът за “механично” увреждане на окото от налягането на аерозола.

Оценка на дозата от аерозола, с която е третирано окото, може да бъде направена чрез следната процедура: веществото се напръсква върху тегловна хартия през отвор с размерите на окото на заека, поставен непосредствено пред хартията. Чрез разликата в теглото на хартията преди и след напръскването се определя приблизително количеството, което би попаднало върху окото. За летливи вещества вместо тегловна хартия може да се използва контейнер. Изпръсканото в него количество се определя чрез претегляне на контейнера преди и след изпразването му.

#### *1.4.2.4. Първоначално изпитване (In vivo изпитване за оценка на очно дразнещо/ корозивно действие с използване на едно опитно животно)*

В съответствие със стратегията за последователно изпитване (виж приложение 1) се препоръчва *in vivo* изпитването да се извърши първоначално върху едно опитно животно.

Когато това изпитване се проведе съгласно описаната процедура и резултатите показват, че веществото може да прояви корозивно или изразено дразнещо действие върху очите, не следва да не се извършва по-нататъшно изпитване за оценка на очното дразнещо/ корозивно действие.

#### *1.4.2.5. Местна упойка*

Необходимостта от използване на местни анестетици се преценява конкретно за всеки отделен случай. Когато анализът на съществуващите данни показва, че изпитваното вещество може да причини болка или при първоначалното изпитване се появява болка, преди третирането може да се приложи местен анестетик. Видът, концентрацията и дозата на анестетика следва да се подберат внимателно, така че употребата му да не доведе до промяна в реакцията към изпитваното вещество. Контролното око се третира с анестетика по същия начин.

#### *1.4.2.6. Потвърдително изпитване ((In vivo изпитване за оценка на очно дразнещо действие с използване на допълнителни опитни животни).*

Когато при първоначалното изпитване не се наблюдава корозивен ефект, дразнещият ефект или негативният резултат трябва да се потвърдят, като се третира най-много две

допълнителни животни. Ако при първоначалното изпитване се установява силно изразено дразнещо действие и при потвърдителното изпитване се очаква силно изразен (необратим) ефект, се препоръчва потвърдителното изпитване да се извърши чрез последователно третиране (върху едно животно и след това при необходимост - върху още едно животно) вместо едновременно върху двете допълнителни животни. Когато при второто третирано животно се наблюдава корозивен или силно изразен дразнещ ефект, изпитването се прекратява. При поява на слаб или умерен дразнещ ефект може да се наложи използването на допълнителни опитни животни, за да се потвърдят тези резултати.

#### *1.4.2.7. Период на наблюдение*

Продължителността на периода на наблюдение трябва да бъде достатъчна за цялостната оценка на степента и обратимостта на наблюдаваните ефекти. Въпреки това изпитването трябва да се прекрати във всеки момент, когато опитните животни покажат трайни признаци на силна болка или стрес (9). Обикновено за да се установи дали ефектите са обратими, животните трябва да се наблюдават в продължение на 21 дни след прилагането на веществото. Ако преди края на 21-дневния период се установи, че промените са обратими, изпитването се прекратява в момента, когато това е установено.

##### *1.4.2.7.1. Клинично наблюдение и оценка на очните реакции*

Очите се преглеждат на 1-я, 24-я, 48-я и 72-я час след прилагането на изпитваното вещество. Наблюдението не трябва да продължава по-дълго от необходимото за получаване на достатъчно ясна и пълна информация. Животните, които показват трайни признаци на силна болка или стрес, трябва да бъдат умъртвени незабавно по хуманен начин, и тези ефекти да се вземат под внимание при оценката на веществото. Опитните животни със следните очни увреждания, настъпили след третирането, трябва да бъдат умъртвени по хуманен начин: перфорация на роговицата или язва/ язви, засягащи значителна част от роговицата, включително стафилома; кръв в предната камера на окото; помътняване на роговицата от четвърта степен, което персистира за 48 часа; отсъствие на реакция на светлината (промени в ириса от втора степен), което персистира за 72 часа; язви на конюнктивата; некроза на конюнктивата или мигателните ципи; влажна некроза. Умъртвяването се налага, защото тези лезии най-често са необратими.

Опитните животни, при които не се развиват очни лезии, трябва да бъдат умъртвени не по-рано от 3 дни след третирането. Опитни животни с леко до умерено изразени лезии трябва да се наблюдават, докато лезиите отзвучат или в продължение на 21 дни, след което изпитването се прекратява. Наблюдението трябва да се извърши на 7-я, 14-я и 21-я ден след третирането, за да се прецени състоянието на получените лезии и тяхната обратимост или необратимост.

При всяко наблюдение трябва да се отчита степента на очните реакции (за конюнктива, роговица и ирис) (таблица 1). Всички други очни лезии (например панус, пигментиране) или неблагоприятни системни ефекти също трябва да се опишат.

Прегледът на очните реакции може да се улесни чрез използване на бинокулярна лупа, ръчна шпалт-лампа, биомикроскоп или друг подходящ уред. След отчитане на наблюденията на 24-я час очите могат допълнително да се изследват с помощта на флуоресцеин.

Оценката и степенуването на очните промени е субективен процес. За да се постигне съответствие в оценките при класифицирането на очните промени и да се подпомогнат

лабораториите, в които се провеждат изпитвания, и лицата, които наблюдават животните и оценяват намерените промени, персоналът, извършващ наблюдението, трябва да се обучи добре да прилага класификационната скала.

## 2. ДАННИ

### 2.2. ОЦЕНКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Баловата оценка на очното дразнене трябва да се разглежда заедно с вида, тежестта и обратимостта или необратимостта на настъпилите лезии. Индивидуалната балова оценка не е единственият критерий за определяне на дразнещите свойства на изпитваното вещество, той като се оценяват и други ефекти на веществото. Вместо това индивидуалният бал трябва да се разглежда като стойност, която има съдържание само, когато е подкрепена от пълното описание и оценка на всички наблюдения.

## 3. ДОКЛАДВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

### 3.1. ОТЧЕТ ЗА ИЗПИТВАНЕТО

Отчетът за изпитването трябва да включва следната информация:

Обосновка на извършеното *in vivo* изпитване: резултати от анализа на съществуващите данни от предишни изпитвания, включително резултатите от прилагането на стратегията за последователно изпитване:

- описание на съществените данни от предишни изпитвания;
- данни, получени при всяка стъпка от стратегията за изпитване;
- описание на извършените *in vitro* изпитвания, включително подробно представяне на процедурите за изпитване и резултатите, получени при прилагане на изпитваните и референтните химични вещества;
- описание на проведеното *in vivo* изпитване за оценка на кожно дразнещо/ корозивно действие и на получените резултати;
- анализ на съществуващите данни с оглед преценка на необходимостта от извършване на *in vivo* проучване.

Изпитвано вещество:

- данни за идентифициране на химичното вещество (напр. CAS номер, източник, чистота, известни примеси, номер на партидата);
- физична природа и физикохимични свойства (напр. рН, летливост, разтворимост, стабилност, химична реакция с вода);
- при изпитване на смеси, трябва да се представят данни за качествения състав на сместа и процентното съдържание на компонентите ѝ.
- когато се използва местен анестетик, за него се представят данни за идентичност, чистота, вид, доза, възможност за взаимодействие с изпитваното вещество.

Носител:

- химично идентифициране, концентрация (когато е необходимо), използван обем;
- обосновка за избора на носителя.

Опитни животни:

- вид/ порода, обосновка за използване на други животински видове/ породи освен зайци албиноси;
- възраст на животните в началото на проучването;
- брой на животните от всеки пол в опитните и контролните групи (когато се изисква);
- индивидуална телесна маса на всяко животно в началото и края на изпитването;
- източник за доставка на животните, условия на отглеждане, диета и т.н.

Резултати:

- описание на методите за изследване на очния статус, използвани при характеризирането и степенуването на очните промени във всеки момент на отчитане (напр. използване на ръчна шпалт-лампа, биомикроскоп, флуоресцеин и др.)
- представяне в табличен вид на данните за проявите на дразнещо/ корозивно действие за всяко животно във всички моменти на отчитане до отстраняването на животното от изпитването;
- описание в разказна форма на вида и степента на наблюдаваните прояви на дразнещо/ корозивно действие;
- описание на всички други очни лезии (например васкуларизация, образуване на панус, адхезии, пигментиране);
- описание на неблагоприятни локални ефекти, освен очните лезии, както и на неблагоприятни системни ефекти и хистопатологични наблюдения, ако такива са налице.

Обсъждане на резултатите.

### 3.2. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Екстраполацията на резултатите от проучванията на очното дразнене върху лабораторни животни е валидна само в ограничена степен. В много случаи зайците албиноси са почувствителни от хората към вещества с очно дразнещо или корозивно действие.

При интерпретацията на данните трябва внимателно да се прецени и изключи възможността дразненето да е предизвикано вторично вследствие на инфекция.

## 4. ЛИТЕРАТУРА

- (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) Testing Method B.40. Skin Corrosion.
- (7) Testing method B.4. Acute toxicity: dermal irritation/corrosion.
- (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 28<sup>th</sup> Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, November 1998 (<http://www.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm>).
- (10) 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 №.19 (<http://www.oecd.org/ehs/test/monos.htm>).

## ТАБЛИЦА I. СКАЛА НА ОЧНИТЕ УВРЕЖДЕНИЯ

### Роговица

Помътняване: степен на плътност (отчитането се извършва за участъка с най-плътно помътняване) (\*)

Отсъствие на улцерация или помътняване.....0



Разпръснати или дифузни зони на помътняване (изключва се лекото замъгляване на нормалния блясък); детайлите на ириса са ясно различни.....1

Ясно различима полупрозрачна зона; детайлите на ириса са леко замъглени.....2

**Зона със седефен цвят; детайлите на ириса не се забелязват; големината на зеницата се определя трудно.....3**

Непрозрачна роговица; ирисът не се различава през помътнената роговица. ....4

Максимален бал: 4

(\*) Зоната на помътняване на роговицата трябва да бъде отбелязана.

### **Ирис**

Без промени.....0

Забележимо увеличени гънки, конгестия, оток, умерена перикорнеална хиперемия; ирисът реагира на светлина (вялата реакция се счита за признак на увреждане).....1

Кръвоизлив, разрушаване на нормалната структура, което е видимо макроскопски, или липса на реакция на светлина.....2

Максимален бал: 2

### **Конюнктиви**

Еритем (отнася се за палпебралната и булбарната конюнктива, като се изключват роговицата и ирисът)

Нормални кръвоносни съдове.....0

Хиперемия на някои кръвоносни съдове.....1

Дифузно кървавочервено оцветяване; отделните кръвоносни съдове са трудно различни.....2

Дифузно тъмночервено оцветяване.....3

Максимален бал: 3

### **Хемоза**

*Подуване (отнася се за конюнктивата на клепачите и/или мигателните цици)*

Липсва подуване .....0

Наличие на подуване, забелязва се известна разлика спрямо нормалното състояние.....1

Ясно изразено подуване с частично обръщане на клепачите.....	2
Подуване със затворени приблизително наполовина клепачи.....	3
Подуване със затворени повече от наполовина клепачи.....	4

Максимален бал: 4

## **ПРИЛОЖЕНИЕ**

Стратегия за последователно изпитване за оценка на дразнещо/корозивно действие върху очите

### **ОБЩИ СЪОБРАЖЕНИЯ**

В интерес на научната стойност на проучването и на благополучието на животните е важно да се избягва ненужното използване на опитни животни и да се допускат колкото е възможно по-малко изпитвания, за които се очаква, че ще предизвикат тежки увреждания. Преди да се пристъпи към *in vivo* изпитване, трябва да се оцени цялата съществуваща информация по отношение на дразнещия/ корозивния потенциал на дадено химично вещество за очите. Възможно е вече да съществуват достатъчно данни, въз основа на които веществото може да се класифицира по отношение на очното дразнещо/ корозивно действие, без да е необходимо да се извършват изпитвания върху лабораторни животни. Затова чрез анализа на съществуващите данни и стратегията за последователно изпитване ще се сведе до минимум необходимостта от *in vivo* изпитвания, особено когато се очаква, че химичното вещество ще предизвика тежки увреждания у животните.

Препоръчва се да се извърши анализ на съществуващите данни за очното дразнещо и корозивно действие на химичното вещество, за да се прецени дали да се проведат други проучвания освен *in vivo* изпитвания върху очите, които могат да подпомогнат оценката на дразнещия/ корозивния потенциал. Когато се прецени, че са нужни по-нататъшни проучвания, се препоръчва необходимите експериментални данни да се получат, като се приложи стратегията за последователно изпитване. За химични вещества, които не са изпитвани досега, стратегията за последователно изпитване трябва да се използва, за да се съберат всички данни, необходими за оценката на дразнещия/ корозивния ефект върху очите. Стратегията за изпитване, изложена в това приложение, е разработена на семинар на OECD (1). По-късно тя е утвърдена и разширена в рамките на Хармонизираната интегрирана система за класифициране на опасностите във връзка с ефектите на химичните вещества върху човешкото здраве и околната среда, приета на 28<sup>-та</sup> Съвместна Среца на Комитета по химикалите и Работната група по химикалите, ноември 1998 (2).

Въпреки че стратегията за последователно изпитване не е включена като неразделна част от метод B5, тя представлява препоръчителния подход за оценка на дразнещия и корозивен ефект върху очите. Този подход съответства в най-висока степен на критериите за добра практика и етика при *in vivo* изпитванията за оценка на очното дразнещо и корозивно действие. В представения метод са дадени указания за провеждането на *in vivo* изпитването и се обобщават факторите, които трябва да се вземат предвид, преди да се пристъпи към него. Стратегията предлага подход за оценка на съществуващите данни за очното дразнещо/ корозивно действие на химичните вещества и поетапен подход за получаване на необходимите данни за веществата, които досега не са изследвани или за които са необходими

допълнителни проучвания. В стратегията се включва първоначалното извършване на валидирани и утвърдени *in vitro* или *ex vivo* изпитвания и след това на изпитването за оценка на кожно корозивно/ дразнещо действие (метод В.4) при определени условия (3)(4).

## ОПИСАНИЕ НА СТРАТЕГИЯТА ЗА ПОСЛЕДОВАТЕЛНО ИЗПИТВАНЕ

Преди да се предприемат изпитвания в рамките на стратегията за последователно изпитване (фигура), трябва да се разгледа цялата налична информация, за да се оцени необходимостта от провеждане на *in vivo* изпитване върху очите. Въпреки че при оценката на отделни параметри (например при много високи или ниски стойности на рН) може да се получи съществена информация, трябва да се разгледат всички съществуващи данни. Всички сведения за ефектите на дадено вещество и неговите структурни аналози трябва да бъдат оценени в процеса на вземане на решение и трябва да се представи обосновката на взетото решение. На първо място трябва да се обърне внимание на съществуващите данни за ефектите на веществото върху хора и животни, а след това да се оценят резултатите от *in vitro* или *ex vivo* изпитвания. Във всички случаи, когато е възможно, трябва да се избягва провеждането на *in vivo* изпитвания на корозивни химични вещества. Факторите, които се вземат под внимание в стратегията на изпитване, включват:

*Оценка на съществуващите данни за хора и животни (стъпка 1).* Съществуващите данни за хора, като например данни от клинични проучвания, проучвания върху работници, описания на случаи, и/или данни от изпитвания върху животни за оценка на ефекта върху очите, трябва да се разглеждат с предимство, защото те осигуряват информация, пряко свързана с действието на веществото върху очите. След това трябва да се оценят данните от проучвания на кожното корозивно/ дразнещо действие при хора и/или животни. Опитните животни не трябва да се третират с вещества с известно корозивно или изразено дразнещо действие върху очите. Това се отнася и за вещества с корозивно/ дразнещо действие върху кожата. Тези вещества трябва да се разглеждат като корозивни/ дразнещи и за очите. Също така не е необходимо да се провеждат *in vivo* изпитвания на вещества, за които съществуват достатъчно данни от предишни проучвания за отсъствие на очно дразнещо или корозивно действие.

*Анализ на зависимостта “структура-активност” (structure activity relationships, SAR) (стъпка 2).* Резултатите от изпитвания на вещества с подобна химична структура трябва да се вземат под внимание, ако са налице такива данни. Когато съществуват достатъчно данни за хора и/или животни, свидетелстващи за очно дразнещо/ корозивно действие на химични вещества с аналогична структура или смеси от такива вещества, може да се приеме, че веществото, което подлежи на проучване, ще предизвика същия ефект. В тези случаи може да се прецени, че не е необходимо да се провежда изпитване. Съгласно стратегията за последователно изпитване негативните данни от проучвания на химични вещества с аналогична структура или смеси от такива вещества не се считат като достатъчно основание, за да се приеме отсъствие на корозивен или дразнещ ефект за дадено химично вещество. За установяване на потенциално корозивно/ дразнещо действие върху кожата и очите трябва да се използват валидирани и утвърдени SAR подходи.

*Физикохимични свойства и химична активност (стъпка 3).* Химични вещества с много високо или много ниско рН ( $\text{pH} \geq 11,5$  или  $\text{pH} \leq 2,0$ ) могат да предизвикат силно изразени локални ефекти. Когато дадено химично вещество може да се определи като корозивно за кожата въз основа на високо или ниско рН, трябва да се вземе под внимание и неговият алкално-киселинен резерв (или буферен капацитет) (5)(6). Когато данните за буферния капацитет показват, че веществото може да не е корозивно за кожата, трябва да се проведе по-нататъшно проучване за потвърждаване на това предположение, за предпочитане посредством валидирано и утвърдено *in vitro* или *ex vivo* изпитване (виж стъпки 5 и 6).

*Оценка на други съществуващи данни (стъпка 4).* На този етап трябва да се оцени цялата налична информация за системната токсичност по дермален път на постъпване. Острата дермална токсичност на химичното вещество също трябва да се вземе под внимание. Когато е доказано, че дадено химично вещество проявява висока токсичност по дермален път на постъпване, може да се прецени, че не е необходимо да се изпитва върху опитни животни. Въпреки че не винаги съществува връзка между острата дермална токсичност и очното дразнещо/ корозивно действие, може да се приеме, че ако дадено вещество проявява висока токсичност по дермален път на постъпване, то може да прояви висока токсичност и при инстилиране в очите. Тези данни могат да се разгледат също и между стъпки 2 и 3.

*Резултати от in vitro или ex vivo изпитвания (стъпки 5 и 6).* Химични вещества, които проявяват корозивни или силно изразени дразнещи свойства при валидирано и утвърдено in vitro или ex vivo изпитване за оценка на кожно или очно дразнещо/ корозивно действие (7)(8), не е необходимо да се изпитват върху животни. Може да се приеме, че тези вещества ще предизвикат подобни силно изразени ефекти in vivo. Когато не съществуват валидирани и утвърдени in vitro/ ex vivo изпитвания, стъпки 5 и 6 се пропускат и се преминава директно към стъпка 7.

*Оценка на in vivo дразнещото или корозивно действие на химичното вещество върху кожата (стъпка 7).* Когато съществуващите данни за потенциалното очно дразнещо/ корозивно действие на дадено вещество, получени от посочените по-горе проучвания, не са достатъчни, за да се извърши анализ и да се стигне до убедителни изводи, първо трябва да се оцени потенциалното кожно дразнещо /корозивно действие посредством метод В4 (4) и приложението към него (9). Когато е доказано, че веществото предизвиква корозивен ефект или силно изразено дразнене върху кожата, то трябва да се разглежда като корозивно за очите, освен ако съществуват други данни, които не са в подкрепа на това заключение. Затова в този случай не е необходимо да се извършва in vivo изпитване за оценка на действието върху очите. Когато веществото не е корозивно или силно дразнещо за кожата, in vivo изпитването трябва да се извърши.

*In vivo изпитване върху зайци (стъпки 8 и 9).* In vivo изпитването за оценка на действието върху очите трябва да започне с изпитване върху едно опитно животно. Когато резултатите от него показват, че веществото проявява изразено очно дразнещо или корозивно действие, не трябва да се извършва по-нататъшно изпитване. Когато при първоначалното изпитване не се наблюдават корозивен или изразен дразнещ ефект, се извършва потвърдително изпитване с две допълнителни животни.

## ЛИТЕРАТУРА

(1) OECD (1996) OECD Test Guidelines Programme: Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Held in 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>).

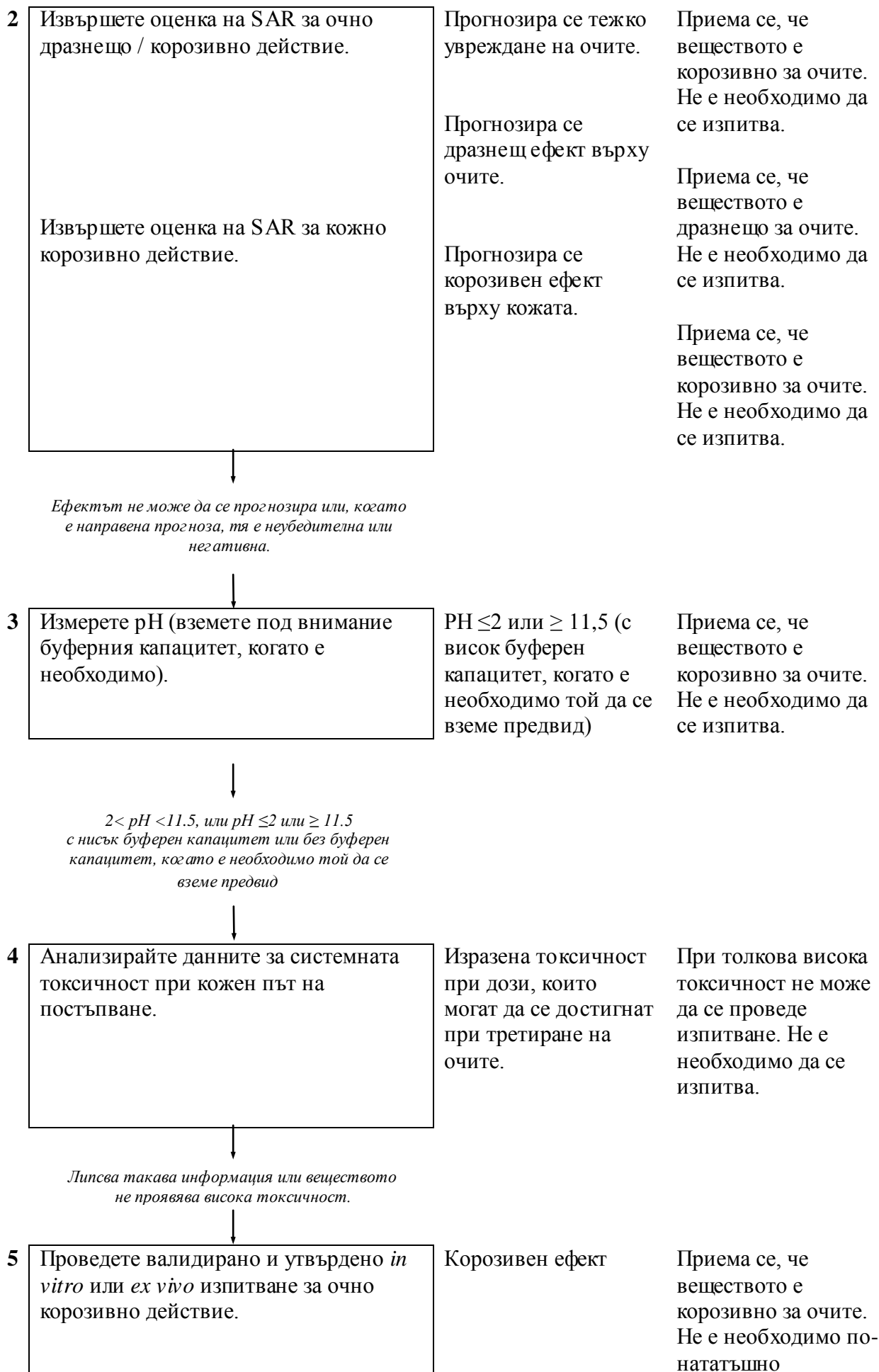
(3) Worth, A.P. and Fentem, J.H.(1999). A General Approach for Evaluating Stepwise Testing Strategies. ATLA 27,161-177.

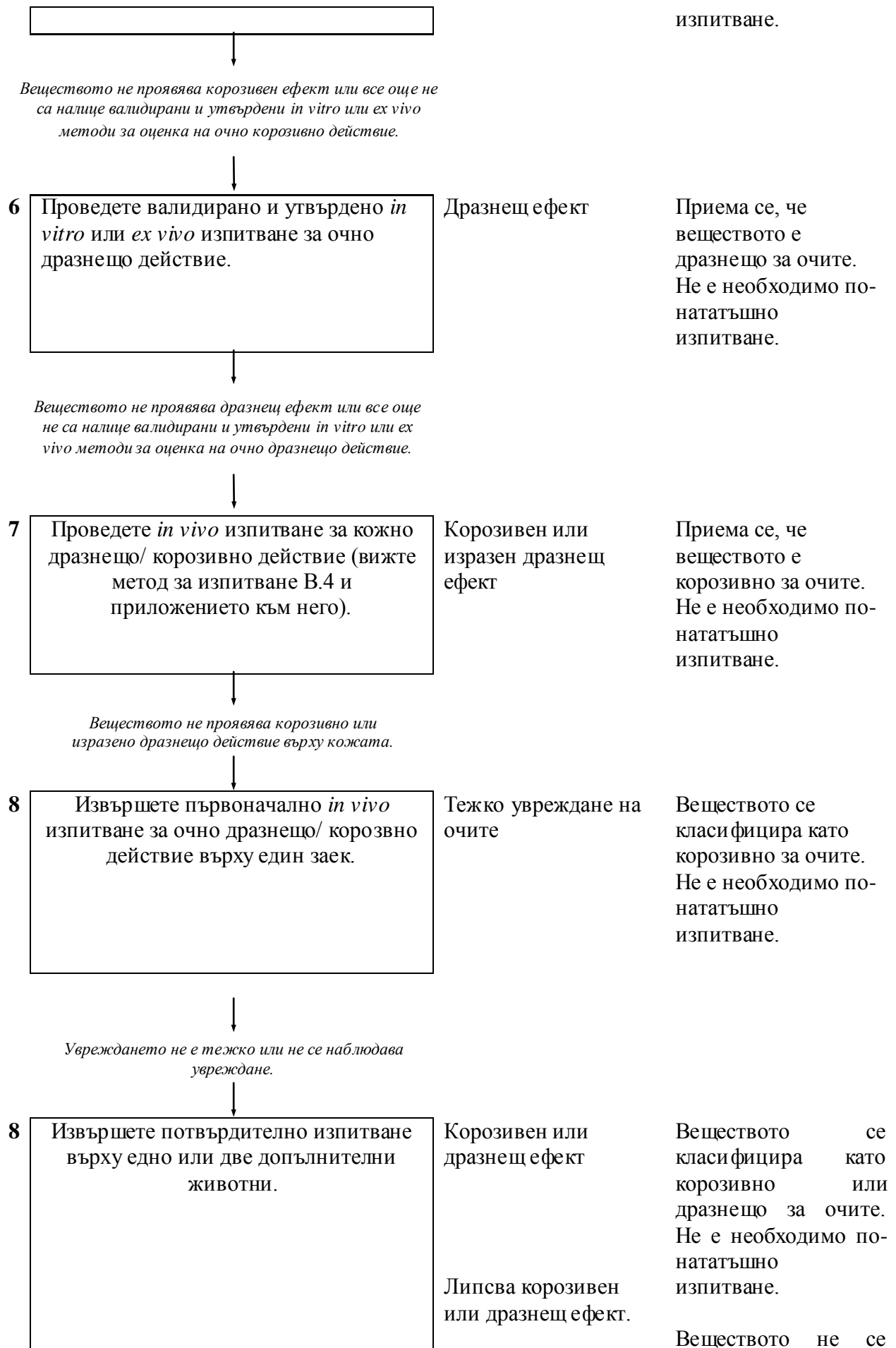
- (4) Testing method B.4. Acute Toxicity: dermal irritation/corrosion.
- (5) Young, J.R., How, M.J., Walker, A.P., Worth W.M.H. (1988) Classification as Corrosive or Irritant to Skin of Preparations Containing Acidic or Alkaline Substance Without Testing on Animals. *Toxicol. In Vitro*, 2,19-26.
- (6) 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) Testing Method B.40 Skin Corrosion.
- (9) Annex to Testing method B.4: A Sequential Testing Strategy for Skin Irritation and Corrosion.

## ФИГУРА

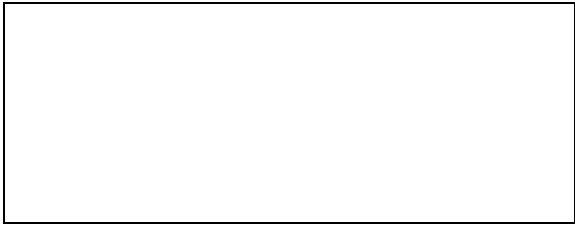
### СТРАТЕГИЯ ЗА ИЗПИТВАНЕ И ОЦЕНКА НА ДРАЗНЕЩО/ КОРОЗИВНО ДЕЙСТВИЕ ВЪРХУ ОЧИТЕ

Действие	Резултат	Извод
<p>1 Съществуващите данни за хора и/или животни показват наличие на ефекти върху очите.</p> <p>Съществуващите данни за хора и/или животни показват наличие на корозивен ефект върху кожата.</p> <p>Съществуващите данни за хора и/или животни показват наличие на изразен дразнещ ефект върху кожата.</p>	<p>Тежко увреждане на очите</p> <p>Дразнещ ефект върху очите</p> <p>Ефектът върху очите не е корозивен / не е дразнещ</p> <p>Корозивен ефект върху кожата</p> <p>Изразен дразнещ ефект върху кожата</p>	<p>С този резултат проучването приключва. Веществото се класифицира като корозивно за очите. Не е необходимо да се изпитва.</p> <p>С този резултат проучването приключва. Веществото се класифицира като дразнещо за очите. Не е необходимо да се изпитва.</p> <p>С този резултат проучването приключва. Веществото не се класифицира като корозивно или дразнещо за очите. Не е необходимо да се изпитва.</p> <p>Приема се, че веществото е корозивно за очите. Не е необходимо да се изпитва.</p> <p>Приема се, че веществото е дразнещо за очите. Не е необходимо да се изпитва.</p>
<p>↓</p> <p><i>Липсва информация или наличната информация не е достатъчно убедителна.</i></p> <p>↓</p>		









класифицира като  
корозивно или  
дразнещо. Не е  
необходимо по-  
нататъшно  
изпитване.

## В.31. ИЗПИТВАНЕ ЗА ОЦЕНКА НА ТОКСИЧНОСТТА ЗА ПРЕНАТАЛНОТО РАЗВИТИЕ

### 1. МЕТОД

Този метод е еквивалентен на метод OECD TG 414 (2001).

#### ВЪВЕДЕНИЕ

Този метод за оценка на токсичността за развитието е разработен с цел да се проучат ефектите на пренаталната експозиция върху бременните опитни животни и върху развиващите се организми *in utero*. Това включва оценка на ефектите върху майките, както и на смъртността, структурните аномалии и отклоненията в растежа на плода. Въпреки че функционалните нарушения представляват съществена проява на токсичността за развитието, тяхната оценка не е предмет на настоящия метод за изпитване. Тя може да се извърши отделно или като допълнение към това изпитване, като се приложи методът за оценка на невротоксичността за развитието. За информация във връзка с изпитването за функционални нарушения и други постнатални ефекти могат да се ползват методите за оценка на репродуктивната токсичност в две поколения и на невротоксичността за развитието.

В отделни случаи може да се наложи този метод да се адаптира въз основа на познанията за специфичните особености на изпитваното химично вещество, например за неговите физикохимични или токсикологични свойства. Внасянето на изменения в метода е допустимо, когато съществуват убедителни научни данни за това, че прилагането на адаптирания метод ще доведе до по-информативни резултати. Научните данни в подкрепа на необходимостта от адаптиране на метода трябва внимателно да се документират в отчета на проучването.

#### 1.2. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

**Токсикология на развитието:** дял от токсикологията, който изучава неблагоприятните ефекти върху развиващия се организъм в резултат от експозиция преди зачеването, по време на пренаталното развитие или постнатално до настъпването на полова зрялост. Основните прояви на токсичността за развитието включват: 1) смърт на организма; 2) структурни аномалии; 3) промени в растежа; 4) функционални нарушения. В миналото вместо “токсикология на развитието” често се е използвало названието “тератология”.

**Неблагоприятен ефект:** всяка промяна спрямо изходното състояние на организма, свързана с прилагането на изпитваното вещество, която води до понижаване жизнеспособността на организма, способността му да се размножава или да се адаптира към околната среда. Неблагоприятните ефекти за развитието в най-широк смисъл обхващат всеки ефект, който нарушава нормалното развитие на организма преди или след раждането.

**Нарушение на растежа:** промени в масата или размерите на тялото или органите на развиващия се организъм.

**Изменения (аномалии):** нарушения в развитието на анатомичната структура, които включват малформации и вариации (28).

**Малформация /тежка аномалия:** структурна промяна, която оказва значителен неблагоприятен ефект върху състоянието на животното (може да бъде и летална) и обикновено настъпва рядко.

**Вариация/ незначителна аномалия:** структурна промяна, която оказва незначителен неблагоприятен ефект или не оказва неблагоприятен ефект върху състоянието на животното; тя може да бъде преходна и може да се среща сравнително често в контролната популация.

**Заченат организъм:** термин, с който се обозначава развиващият се организъм през всички етапи от развитието на оплодената яйцеклетка от оплождането до раждането, включително ембрионалния и феталния период; към него се отнасят и екстраембрионалните структури.

**Имплантация (нидация):** прикрепването на бластоциста към епителния слой, покриващ маточната кухина, включително проникването на бластоциста през епитела и навлизането му в ендометриума.

**Ембрион:** организъмът в ранния стадий на развитие след оплождането, по-специално времето от появата на дългата ос до момента, в който са налице всички основни анатомични структури (до края на периода на органогенезата).

**Ембриотоксичност:** токсичност, свързана с нарушаване на нормалната анатомична структура, развитието, растежа и/или жизнеспособността на ембриона.

**Фетус (плод):** организъмът в стадия на развитие между края на ембрионалния период и раждането.

**Фетотоксичност:** токсичност, свързана с нарушаване на нормалната анатомична структура, развитието, растежа и/или жизнеспособността на фетуса.

**Аборт:** преждевременното изхвърляне на ембриона или нежизнеспособния фетус от матката.

**Резорбция:** състояние, при което имплантираният в матката плод е загинал и в момента на наблюдението е в процес на резорбция или вече се е резорбирал.

**Ранна резорбция:** състояние, при което се наблюдават признаци на имплантация, без да се открива ембрион/фетус.

**Късна резорбция:** състояние, при което ембрионът или фетусът е загинал и при огледа му се наблюдават външни дегенеративни промени.

**NOAEL:** съкращение на термина “No-observed-adverse-effect level“ (ниво, при което не се наблюдава неблагоприятен ефект); означава най-високата доза/ниво на експозиция, при които не се наблюдават неблагоприятни ефекти вследствие третирането на организма с дадено химично вещество.

### 1.3. РЕФЕРЕНТНО ВЕЩЕСТВО

Не се използва.

### 1.4. ПРИНЦИП НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

Обикновено бременните животни се третират с изпитваното вещество най-късно от момента на имплантацията до деня преди датата, за която е планирано убиването им. Тази дата трябва да се избере така, че да бъде колкото е възможно по-близо до датата на термина, като в същото време се избегне рискът от загуба на данни в резултат от настъпване на преждевременно раждане. Методът не е предназначен за изследване само на периода на

органогенезата (ден 5-15 при гризачи и ден 6-18 при зайци). Проследяват се ефектите през цялата бременност до деня преди извършването на Цезарово сечение. Когато е възможно, се обхваща и предимплантационният период. Непосредствено преди извършването на Цезарово сечение женските животни се убиват, съдържанието на матката се преглежда и фетусите се изследват за наличие на видими външни аномалии и аномалии на меките тъкани и скелета.

## 1.5. ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА НА ИЗПИТВАНЕ

### 1.5.1. Избор на вида опитни животни

Препоръчва се изпитването да се извърши върху най-подходящия вид животни и да се изберат видове и породи лабораторни животни, които обикновено се използват при изпитвания за оценка на пренаталната токсичност за развитието. Предпочитаният вид гризачи е плъх, а предпочитаният вид опитни животни, който не се отнася към гризачите, е заек. Използването на други животински видове трябва да се обоснове.

### 1.5.2. Условия на отглеждане и хранене

Температурата на помещението, в което се извършва изпитването, трябва да бъде 22°C ( $\pm 3^\circ$ ) за гризачите и 18°C ( $\pm 3^\circ$ ) за зайците. Стойностите на относителната влажност не трябва да бъдат по-ниски от 30% и е желателно да не превишават 70% освен при почистване на помещението. Целта трябва да бъде относителната влажност да се поддържа в интервала 50-60%. Осветлението трябва да бъде изкуствено, като се редуват 12 часа светлина и 12 часа тъмнина. При храненето се използват обичайните лабораторни диети с неограничен достъп до питейна вода.

Чифтосването трябва да се извърши в клетки, подходящи за целта. За предпочитане е чифтосаните животни да се поставят в индивидуални клетки, но се допуска да се разпределят на малки групи в общи клетки.

### 1.5.3. Подготовка на опитните животни

Трябва да се използват здрави животни, които предварително са се аклиматизирали към лабораторните условия в продължение най-малко на 5 дни и не са подлагани на други изпитвания. Опитните животни трябва да се опишат по отношение на вид, порода, източник за доставка, пол, телесна маса и/или възраст. Стойностите на телесната маса и възрастта на животните във всички опитни групи трябва да бъдат възможно най-близки. Във всяка опитна група трябва да се включат млади, полово зрели, нераждали женски животни. Женските животни трябва да се чифтосат с мъжки животни от същия вид и порода, като се избягва чифтосването между животни от едно и също котило. При гризачите за ден 0 на гестацията се приема денят, в който се наблюдава вагинална запушалка и/или сперматозоиди; при зайците за ден 0 се счита най-често денят на коитуса или изкуственото осеменяване, в случаите, когато се прилага тази техника. Чифтосаните женски животни трябва да бъдат разпределени на принципа на случайния подбор към експонираните групи и контролната група. Клетките трябва да бъдат подредени по такъв начин, че да се намалят до минимум възможните ефекти в резултат от разположението им. Всяко животно трябва да получи индивидуален идентификационен номер. Чифтосаните женски животни трябва да бъдат разпределени чрез случаен подбор към контролната и опитните групи. Когато женските са чифтосани последователно по групи, животните от всяка група трябва да се разпределят равномерно между отделните експонирани групи и контролната група. Също така женските, осеменени от едно и също мъжко животно, трябва да се разпределят равномерно в отделните групи.

## 1.6. ПРОЦЕДУРА

### **1.6.1. Брой и пол на животните**

Експонираните групи и контролната група трябва да обхващат достатъчен брой женски животни, така че при аутопсията всяка група да включва приблизително 20 женски животни с места на имплантация. По правило групите не би трябвало да наброяват по-малко от 16 животни с места на имплантация. При появата на смъртни случаи сред майките проучването се приема за валидно, когато смъртността не превишава приблизителната граница от 10%.

### **1.6.2. Подготовка на дозите**

Когато за улесняване на въвеждането се използва носител или друга добавка към изпитваното вещество, трябва да се вземат предвид следните възможни ефекти на носителя/ добавката: ефекти върху резорбцията, разпределението, метаболизма и ретенцията или екскрецията на изпитваното вещество; ефекти върху химичните свойства на веществото, които могат да повлияят върху токсикологичните му свойства; ефекти върху консумацията на храна и вода или върху хранителния статус на животните. Веществото – носител не трябва да предизвиква токсични ефекти върху развиващия се организъм или възпроизводителната функция.

### **1.6.3. Дози**

Най-често изпитваното вещество се въвежда всеки ден от момента на имплантацията (напр. от ден 5 след чифтосването) до деня преди датата, за която е определено извършването на Цезарово сечение. Когато предварителните проучвания, ако такива са налице, показват че вероятността от настъпване на предимплантационна смърт не е висока, периодът на третиране може да се разшири и да обхване целия гестационен период от момента на чифтосването до деня преди датата, за която е определено убиването. Известно е, че неправилното отглеждане и провеждане на манипулациите, както и стресът по време на бременността могат да доведат до преждевременна загуба на плода. За да се предотврати загубата на плода в резултат от фактори, които не са свързани с експозицията на изпитваното вещество, трябва да се избягват ненужни манипулации върху бременните животни, както и стресът от външни фактори, например шум.

Трябва да се приложат най-малко три дози. Успоредно с експонираните групи се наблюдава и нетретирана контролна група. Опитните животни трябва да са здрави. Те се разпределят между отделните експонирани групи и контролната група чрез случаен подбор. Дозите трябва да бъдат избрани в такова съотношение, че с нарастването им да се наблюдава ясно изразено засилване на токсичните ефекти. С изключение на случаите, когато се налагат ограничения във връзка с физични, химични или биологични свойства на изпитваното вещество, най-високата доза трябва да бъде подбрана, така че да води до прояви на токсичност за майката и/или за развиващия се организъм (клинични симптоми или понижение на телесната маса), но не и до смърт или тежко страдание. Най-малко една междинна доза трябва да предизвиква минимални наблюдавани токсични ефекти. Най-ниската доза не трябва да предизвиква никакви прояви на токсичност за майката или развиващия се организъм. Дозите трябва да се подберат в намаляваща последователност по такъв начин, че да се характеризира зависимостта “доза – отговор” и да се установи нивото, при което не се наблюдава неблагоприятен ефект (NOAEL). В повечето случаи най-подходящо е да се използва двукратно до четирикратно намаление на всяка доза спрямо най-близката по-висока доза. Включването на допълнителна четвърта експонирана група често е за предпочитане пред използването на твърде големи интервали между дозите (напр. намаление повече от 10 пъти). Въпреки че целта на изпитването е определяне на NOAEL за майката, се допускат и случаи, когато това ниво не може да се установи (1).

Нивата на дозите трябва да се подберат, като се вземат под внимание всички съществуващи токсикологични данни, както и информацията за метаболизма и токсикокинетиката на изпитваното вещество или на подобни вещества. Тази информация се използва също и при обосновката на схемата на третиране.

Заедно с експонираните групи трябва да се използва и контролна група. На животните от тази група се въвежда вода или носител, когато се използва такъв. Изпитваното вещество или носителят се въвеждат в един и същи обем при всички групи. Животните в контролната група/групи трябва да се поставят при същите условия и да се подлагат на същите манипулации, както тези от експонираните групи. Носителят трябва да се въвежда на животните от контролната група в най-голямото количество, което се въвежда на експонираните животни (количеството, с което се въвежда най-ниската доза от изпитваното вещество).

#### **1.6.4. Лимитиращо изпитване**

Когато изпитването върху една експонирана група с орална дневна доза равна или по-висока от 1 000 mg/kg т.м., извършено съгласно процедурите, описани в този метод, не предизвика наблюдавани признаци на токсичност, както при бременните животни, така и при тяхното поколение, или когато при тази или по-високи дози не се очаква поява на токсичен ефект въз основа на съществуващи данни (напр. за структурни аналози или за вещества с подобен метаболизъм), тогава извършването на изпитването в пълен обем с три различни дози може да се прецени като ненужно. Във връзка с очакваните нива на експозиция за населението може да се наложи необходимостта от използване на по-високи орални дози в лимитиращото изпитване. При други пътища на въвеждане, напр. инхалаторно или дермално, физикохимичните свойства на изпитваното вещество често могат да повлияят и да ограничат максимално възможното ниво на експозиция (например, дермалната апликация не трябва да предизвиква силно изразена локална токсичност).

#### **1.6.5. Въвеждане на дозите**

Изпитваното вещество или носителят обикновено се въвеждат орално чрез гаваж. Когато се използва друг път на въвеждане, изборът трябва да се обоснове. В този случай може да се наложи въвеждането на модификации в представения метод (2)(3)(4). Изпитваното вещество трябва да се въвежда приблизително по едно и също време всеки ден.

Количеството от веществото, което се въвежда на всяко животно, се изчислява спрямо последното измерване на телесната маса. Въпреки това когато третирането се извършва през последната третина на бременността, трябва да се подхожда предпазливо при изчисляване на количеството. За да се избегне силно изразен токсичен ефект върху майките, при избора на дозите трябва да се използват съществуващите данни за веществото. Когато при бременните животни се наблюдават симптоми на тежка интоксикация, те трябва да бъдат умъртвени по хуманен начин. Ако няколко бременни животни показват симптоми на тежка интоксикация, трябва да се прецени дали е необходимо всички животни от тази опитна група да бъдат умъртвени по хуманен начин. Когато веществото се въвежда чрез гаваж, се препоръчва въвеждането да се извършва веднъж дневно посредством стомашна сонда или подходяща интубационна канюла. Максималният обем течност, който може да бъде введен еднократно, зависи от телесната маса на опитното животно. Обемът не трябва да превишава 1 ml/100 g т.м., освен в случаите, когато се прилагат водни разтвори. Тогава обемът може да достигне 2 ml/100 g т.м. Когато се използва царевично олио като носител, обемът не трябва да превишава 0,4 ml/100 g т.м. За да се осигури въвеждането на веществото в постоянен обем

при всички използвани дози, промените в обема трябва да бъдат сведени до минимум, като вместо него се променят концентрациите.

#### **1.6.6. Наблюдения върху бременните животни**

Клиничните наблюдения трябва да се извършват и да се отразяват в документацията на изпитването най-малко един път дневно, за предпочитане всеки ден по едно и също време, като се вземе под внимание периодът след третирането, когато се очаква появата на най-силно изразени ефекти. Състоянието на животните трябва да се описва, като се отразяват смъртността, наличието на животни в терминално състояние, промените в поведението и всички прояви на ясно изразено токсично действие.

#### **1.6.7. Телесна маса и консумация на храна**

Животните трябва да се претеглят в ден 0 от гестационния период (в случаите когато осеменените животни са доставени от външен снабдител - не по-късно от ден 3 от гестацията), както и в деня, когато започва третирането, най-малко на всеки 3 дни по време на експозицията и в деня, за който е насрочено убиването.

Количеството на консумираната храна трябва да се отчита и записва на всеки три дни, в същите дни, когато се измерва телесната маса.

#### **1.6.8. Макроскопски оглед при аутопсиране**

Женските животни трябва да се убият един ден преди очакваната дата на раждането. Женските животни, показващи признаци на аборт или преждевременно раждане преди деня, за който е насрочено убиването, трябва да бъдат убити и подложени на цялостен макроскопски оглед.

В момента на убиването или при настъпването на смърт по време на изпитването трябва да се извърши макроскопски оглед на женските животни, за да се установи наличието на структурни аномалии или други патологични промени. Препоръчва се огледът на бременните животни по време на Цезаровото сечение и огледът на фетусите да се извършат, без да се знае към коя група се отнасят майките и фетусите, за да не се отрази това върху наблюденията и оценките.

#### **1.6.9. Оглед на съдържанието на матката**

Веднага след убиването или възможно най-скоро след настъпване на смъртта, матките трябва да бъдат отпрепарирани и да се потвърди наличието на бременност.

Когато видът на матката показва отсъствие на бременност, тя трябва да се изследва по-подробно (напр. чрез оцветяване с амониев сулфид при гризачи и оцветяване по Salewski или друг подходящ метод при зайци), за да се потвърди, че животното не е бременно (5).

Матките на бременните животни, включително цервикса, трябва да бъдат претеглени. Не е необходимо да се измерва масата на матките на бременни животни, умрели по време на проучването.

За всяко бременно животно трябва да се определи броят на жълтите тела.

Съдържанието на матката трябва да се прегледа, за да се установи броят на мъртвите ембриони/ фетуси и на живите фетуси. Трябва да се опише степента на резорбция, за да се установи приблизителното време на смъртта на умрелите ембриони/ фетуси (виж точка 1.2).

### **1.6.10. Оглед на фетусите**

При огледа на всеки фетус трябва да се определи полът и да се измери телесната маса.

Всеки фетус трябва да се прегледа за наличие на външни аномалии (6).

Фетусите трябва да се огледат за наличие на изменения в скелета и меките тъкани (напр. вариации и малформации или аномалии) (7) (8) (9) (10) (11) (12 ) (13) (14) (15) (16) (17) (18) (19) (20) (21) (22) (23) (24). Препоръчва се да се извърши категоризиране на наблюдаваните изменения, но това не се изисква задължително. Когато се извършва категоризиране, трябва ясно да се посочат критериите, отнасящи се за всяка категория. Особено внимание при огледа трябва да се обърне на състоянието на половата система и да се търсят признаци за нарушение в развитието ѝ.

Когато изпитването се извършва върху гризачи, приблизително половината от фетусите във всяко котило трябва да бъдат обработени и изследвани за наличие на скелетни аномалии. Останалите фетуси трябва да се обработят и изследват за наличие на изменения в меките тъкани посредством утвърдени или подходящи методи за серийно сециране или прецизни секционни техники за макроскопски оглед.

Когато изпитването се извършва върху животни, които не са гризачи, например върху зайци, всички фетуси трябва да се прегледат за наличие на изменения, както в меките тъкани, така и в скелета. Огледът на тези фетуси се извършва чрез внимателна дисекция, при която се търсят изменения в меките тъкани. Дисекцията може да включва и процедури, чрез които се изследва по-подробно устройството на сърцето (25). При огледа главите на половината от фетусите трябва да се отделят, обработят и изследват за наличие на изменения в меките тъкани (включително очи, мозък, носни кухини и език) посредством стандартни методи за серийно сециране (26) или други методи с подобна чувствителност. Телата на всички фетуси трябва да се обработят и огледат за наличие на скелетни аномалии посредством същите методи, както тези, които се прилагат при гризачите.

## **2. ДАННИ**

### **2.1. ПРЕДСТАВЯНЕ И ОБРАБОТКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ**

Данните трябва да се представят индивидуално, както за бременните животни, така и за тяхното поколение, и да се обобщят в табличен вид, като за всяка опитна група и за всяко поколение се посочи броят на животните в началото на изпитването, броят на животните, умрели по време на изпитването или умъртвени по хуманни съображения и времето на настъпване на смъртта или на умъртвяването, броят на бременните женски животни, броят на животните със симптоми на токсично действие, характеристиката на наблюдаваните симптоми, включително време на поява, продължителност и степен на изразеност, наблюдения върху ембрионите и фетусите, както и всички необходими данни за котилата.

Количествените резултатите трябва да се оценят чрез подходящи статистически методи, като котилото се използва като единица за наблюдение при анализа на данните. Трябва да се приложат общоприети статистически методи. Подборът на статистическите методи трябва да се направи в зависимост от дизайна на проучването и да се обоснове. Данните за животни,



които не са преживели до датата на убиването, също трябва да се представят в отчета за изпитването. Тези данни могат да се включат при изчислението на средногруповите стойности на изследваните показатели, когато това е възможно. Информативността на данните за тези животни и съответно включването или изключването им при изчислението на средногрупови стойности трябва да се прецени за всеки отделен случай и да се обоснове.

## 2.2. ОЦЕНКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Оценката на резултатите от проучването на пренаталната токсичност за развитието се извършва въз основа на наблюдаваните ефекти. Оценката включва следните данни:

- резултати от изпитването по отношение на майките и ембрионите/ фетусите, включително оценка на зависимостта (или отсъствието на такава) между експозицията на изпитваното вещество и честотата и тежестта на всяка от наблюдаваните промени;
- критерии за категоризиране на измененията във външния вид, скелета и меките тъкани на фетусите, в случаите, когато е извършено категоризиране;
- когато е необходимо, трябва да се представят данни за контролни групи от предишни изпитвания (историческа контрола), за да се подпомогне интерпретацията на резултатите от настоящото изпитване;
- стойностите, използвани при изчислението на индекси или на относителни дялове (в проценти);
- адекватен статистически анализ на резултатите от изпитването, където това е необходимо; трябва да се даде достатъчно информация за използваните методи, така че анализът да може да се възпроизведе и оцени от независим рецензент/ статистик;

Във всяко проучване, при което се установява отсъствие на каквито и да е токсични ефекти, е необходимо да се прецени необходимостта от допълнителни изследвания за определяне степента на резорбция и съдържанието на изпитваното вещество в организма на третираните животни.

## 2.3. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Изпитването за оценка на пренаталната токсичност за развитието трябва да даде информация за ефектите върху бременните животни и върху вътреутробното развитие на тяхното потомство при многократно постъпване на дадено химично вещество по време на бременността. Резултатите от него трябва да се интерпретират във връзка с данните от изпитванията за оценка на субхроничната токсичност, репродуктивната токсичност, токсикокинетиката и др. Тъй като при изпитването се оценява, както системната токсичност за майката, така и токсичността за развиващия се организъм, резултатите позволяват до известна степен да се разграничат ефектите върху развиващия се организъм, които се явяват при отсъствие на прояви на системна токсичност, от ефектите, които се предизвикват само при нива, токсични и за майката (27).

## 3. ДОКЛАДВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

### 3.1. ОТЧЕТ ЗА ИЗПИТВАНЕТО

Отчетът за изпитването трябва да включва следната информация:

#### Изпитвано вещество:

- физична природа и, където е необходимо, физикохимични свойства;
- данни за идентифициране на химичното вещество, включително CAS номер, ако такъв е известен/ определен;
- Степен на чистота на веществото;

#### Носител (когато се използва такъв):

- обосновка за използването на носител, когато носителят не е вода;

#### Опитни животни:

- вид и порода на използваните опитните животни;
- брой и възраст на опитните животни;
- източник за доставка на животните, условия на отглеждане, диета и т.н.
- телесна маса на всяко животно в началото на изпитването;

#### Условия на провеждане на изпитването:

- обосновка за избора на дозите;
- описание на подготовката на изпитваното вещество за въвеждане (приготвяне на формулация или включване в диетата), използвани концентрации, стабилност и хомогенност на формулацията;
- описание на въвеждането на изпитваното вещество;
- преизчисляване на концентрациите на изпитваното вещество в диетата/ питейната вода (ppm) в дневни дози (mg/kg т.м.), където това е приложимо;
- условия на средата, в която се провежда изпитването;
- Критерии за качество, на които отговарят храната и водата за пиене;

#### Резултати:

Данни за отговора във връзка с токсичността за майката в зависимост от приложената доза – данните включват, но не се ограничават само до:

- брой на животните в началото на изпитването, брой на животните, преживели до края на изпитването, брой на бременните животни, брой на животните с аборт и преждевременно раждане;
- за всяко животно се отбелязва дали е преживяло до деня на убиването; за тези, които не са преживели, се отбелязва денят на смъртта;

- данните за животните, които не са преживели до деня на планираното убиване, трябва да се представят, но не трябва да се използват при статистическия анализ за сравнение между групите;
- дата на появата на всеки клиничен симптом; проследяване на по-нататъшното му развитие;
- телесна маса, прираст на телесната маса и маса на бременната матка, включително по желание коригиране на прираста на телесната маса спрямо масата на бременната матка;
- данни за консумацията на храна; представят се и данните за консумацията на вода, ако тя е измерена;
- данни от аутопсията, включително маса на матката;
- трябва да се посочат стойностите на NOAEL за ефектите върху майката и развиващия се организъм;

Ефекти върху развиващия се организъм при всяка доза за котилата, при които се установява наличие на имплантации, включително:

- брой на жълтите тела;
- брой на имплантациите, брой и относителен дял (като %) на живите и мъртви фетуси и на резорбциите;
- брой и относителен дял на пред- и постимплантационните загуби;

Ефектите върху развиващия се организъм при всяка доза за котилата с живи фетуси, включително:

- брой и относителен дял на живите новородени
- съотношение между броя на фетусите от всеки пол;
- фетална телесна маса, за предпочитане, както поотделно за всеки пол, така и общо за двата пола;
- малформации, засягащи външния вид, скелета и меките тъкани, и други изменения;
- критерии за категоризиране, когато това е необходимо;
- общ брой и относителен дял на фетусите и котилата с видими външни аномалии и аномалии на скелета и меките тъкани; характеристика на наблюдаваните аномалии и други изменения по вид и честота.

Обсъждане на резултатите.

Изводи.

#### 4. ЛИТЕРАТУРА

- (1) Kavlock R.J. et al. (1996) A Simulation Study of the Influence of Study Design on the Estimation of Benchmark Doses for Developmental Toxicity. *Risk Analysis* 16; 399-410.
- (2) Kimmel, C.A. and Francis, E.Z. (1990) Proceedings of the Workshop on the Acceptability and Interpretation of Dermal Developmental Toxicity Studies. *Fundamental and Applied Toxicology* 14; 386-398.
- (3) Wong, B.A., et al. (1997) Developing Specialized Inhalation Exposure Systems to Address Toxicological Problems. *CIIT Activities* 17; 1-8.
- (4) US Environmental Protection Agency (1985) Subpart E-Specific Organ/Tissue Toxicity, 40 CFR 798.4350: Inhalation Developmental Toxicity Study.
- (5) Salewski, E. (1964) Faerbermethode zum Makroskopischen Nachweis von Implantations Stellen am Uterus der Ratte. *Naunyn-Schmeidebergs Archiv für Pharmakologie und Experimentelle Pathologie* 247:367.
- (6) Edwards, J.A. (1968) The external Development of the Rabbit and Rat Embryo. In *Advances in Teratology*. D.H.M. Woolam (ed.) Vol. 3. Academic Press, NY.
- (7) Inouye, M. (1976) Differential Staining of Cartilage and Bone in Fetal Mouse Skeleton by Alcian Blue and Alizarin Red S. *Congenital Anomalies* 16; 171-173.
- (8) Igarashi, E. et al. (1992) Frequency Of Spontaneous Axial Skeletal Variations Detected by the Double Staining Technique for Ossified and Cartilaginous Skeleton in Rat Foetuses. *Congenital Anomalies* 32; 381-391.
- (9) Kimmel, C.A. et al. (1993) Skeletal Development Following Heat Exposure in the Rat. *Teratology* 47:229-242.
- (10) Marr, M.C. et al. (1988) Comparison of Single and Double Staining for Evaluation of Skeletal Development: The Effects of Ethylene Glycol (EG) in CD Rats. *Teratology* 37; 476.
- (11) Barrow, M.V. and Taylor, W.J. (1969) A Rapid Method for Detecting Malformations in Rat Foetuses. *Journal of Morphology* 127:291-306.
- (12) Fritz, H. (1974) Prenatal Ossification in Rabbits as Indicative of Foetal Maturity. *Teratology* 11; 313-320.
- (13) Gibson, J.P. et al. (1966) Use of the Rabbit in Teratogenicity Studies. *Toxicology and Applied Pharmacology* 9; 398-408.
- (14) Kimmel, C.A. and Wilson, J.G. (1973) Skeletal Deviation in Rats: Malformations or Variations? *Teratology* 8; 309-316.
- (15) Marr, M.C. et al. (1992) Developmental Stages of the CD (Sprague-Dawley) Rat Skeleton after Maternal Exposure to Ethylene Glycol. *Teratology* 46; 169-181.

- (16) Monie, I.W. et al. (1965) Dissection Procedures for Rat Foetuses Permitting Alizarin Red Staining of Skeleton and Histological Study of Viscera. *Supplement to Teratology Workshop Manual*, pp. 163-173.
- (17) Spark, C. and Dawson, A.B. (1928) The Order and Time of appearance of Centers of Ossification in the Fore and Hind Limbs of the Albino Rat, with Special Reference to the Possible Influence of the Sex Factor. *American Journal of Anatomy* 41; 411-445.
- (18) Staples, R.E. and Schnell, V.L. (1964) Refinements in Rapid Clearing Technique in the KOH-Alizarin Red S Method for Fetal Bone. *Stain Technology* 39; 61-63.
- (19) Strong, R.M. (1928) The Order Time and Rate of Ossification of the Albino Rat (*Mus Norvegicus Albinus*) Skeleton. *American Journal of Anatomy* 36; 313-355.
- (20) Stuckhardt, J.L. and Poppe, S.M. (1984) Fresh Visceral Examination of Rat and Rabbit Foetuses Used in Teratogenicity Testing. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis* 4; 181-188.
- (21) Walker, D.G. and Wirtschafter, Z.T. (1957) *The Genesis of the Rat Skeleton*. Thomas, Springfield, IL. L 216/234 EN Official Journal of the European Union 16.6.2004
- (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. 16.6.2004 EN Official Journal of the European Union L 216/235

## В.35. ИЗПИТВАНЕ ЗА РЕПРОДУКТИВНА ТОКСИЧНОСТ В ДВЕ ПОКОЛЕНИЯ

### 1. МЕТОД

Този метод е еквивалентен на метод OECD TG 416 (2001).

#### 1.1. ВЪВЕДЕНИЕ

Този метод за оценка на репродуктивната токсичност в две поколения е разработен с цел да се проучат ефектите на изпитваното вещество върху състоянието и функцията на женската и мъжката полова система, включително функцията на гонадите, естралния цикъл, поведението при чифтосване, зачеването, бременността, раждането, лактацията и отбиването, както и върху растежа и развитието на потомството. Също така чрез това изпитване се получава информация за ефектите на изпитваното вещество върху неонаталната болестност и смъртност, както и предварителни данни за пренаталната и постнаталната токсичност за развитието. Данните, получени от това изпитване, дават насока за провеждането на по-нататъшни изпитвания. Освен растежа и развитието на поколение F1 посредством този метод се оценяват състоянието и функцията на женската и мъжката полова система, както и растежът и развитието на поколение F2. По-нататъшна информация за токсичността за развитието и функционалните нарушения може да се получи, като към протокола на този метод се включат допълнителни процедури, взимани от методите за оценка на токсичността за развитието и/или невротоксичността за развитието, когато това е необходимо. Тези ефекти могат да се изследват и в отделни проучвания, като се приложат съответните методи.

#### 1.2. ПРИНЦИП НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

Изпитваното вещество се въвежда в различни дози на няколко групи мъжки и женски животни. Мъжките животни от родителското поколение (поколение P) трябва да се третират по време на растежа и в продължение на най-малко един пълен цикъл на сперматогенеза (приблизително 56 дни при мишки и 70 дни при плъхове), за да се установят неблагоприятните ефекти върху сперматогенезата. Ефектите върху сперматозоидите се откриват чрез изследване на редица параметри (напр. морфология и подвижност на сперматозоидите), както и чрез подробно хистопатологично изследване на тъканни препарати. Ефектите върху мъжките животни от поколение P не е необходимо да се оценяват, когато съществуват данни за сперматогенезата от предишни проучвания при многократно постъпване на изпитваното вещество за достатъчно продължителен период, например данни от 90-дневно изпитване. Въпреки това се препоръчва да се съхранят проби от сперматозоидите от поколение P или техните дигитални образи, за да може по-късно да се извърши оценка, ако е необходимо. Женските животни от поколение P трябва да се третират по време на растежа, както и в продължение на няколко пълни естрални цикъла, за да се установят неблагоприятните ефекти на изпитваното вещество върху нормалното протичане на естралния цикъл. Изпитваното вещество се въвежда на животните от родителското (P) поколение по време на чифтосването и настъпилата в резултат от това бременност, както и след раждането до отбиването на потомството им (поколение F1). След отбиването веществото започва да се въвежда на животните от поколение F1 по време на техния растеж до достигане на полова зрялост, чифтосването и възпроизводството им до отбиването на потомството им (поколение F2).

При всички животни се провежда клинично наблюдение и патологоанатомично изследване за установяване на токсични ефекти, като особено внимание се обръща върху състоянието и функцията на мъжката и женска полова система и върху растежа и развитието на потомството.

### 1.3. ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

#### 1.3.1. Избор на вида опитни животни

Предпочитаният вид опитни животни е плъх. Използването на други животински видове трябва да се обоснове. В тези случаи се налага да се внесат съответни модификации в метода за изпитване. Не трябва да се използват породи с ниска плодовитост или породи, за които е характерна висока честота на вродените аномалии. Различията в индивидуалните стойности на телесната маса на животните в началото на проучването трябва да бъдат минимални и да не превишават 20% от средната телесната маса за всяка група по пол.

#### 1.3.2. Условия на отглеждане и хранене

Температурата във вивариума трябва да бъде 22°C ( $\pm 3^\circ$ ). Стойностите на относителната влажност не трябва да бъдат по-ниски от 30% и е желателно да не превишават 70% освен при почистване на помещението. Целта трябва да бъде относителната влажност да се поддържа в интервала 50-60%. Осветлението трябва да бъде изкуствено, като се редуват 12 часа светлина и 12 часа тъмнина. За храненето се използват обичайните лабораторни диети при неограничен достъп до вода за пиене. В определени случаи изборът на диетата може да зависи от това, че е необходимо веществото да се смеси по подходящ начин и да се въведе с храната.

Животните могат да се поставят в индивидуални клетки или да се разпределят на малки групи от един и същи пол в общи клетки. Чифтосването трябва да се извърши в клетки, подходящи за тази цел. След като се открият признаците на копулация, чифтосаните женски животни трябва да се поставят в индивидуални клетки, подходящи за раждане или отглеждане на малките. Друга възможност е чифтосаните плъхове да се разпределят в малки групи и да се отделят в самостоятелни клетки един или два дни преди раждането. Когато наближи раждането, в клетките на бременните животни трябва да бъдат поставени подходящи материали за гнездо.

#### 1.3.3 Подготовка на опитните животни

Трябва да се използват здрави млади животни, които предварително са се аклиматизирали към лабораторните условия в продължение най-малко на 5 дни и не са подлагани на други изпитвания. Опитните животни трябва да се опишат по отношение на вид, порода, източник за доставка, пол, телесна маса и/или възраст. Трябва да се знае кои животни са от едно и също котило, за да се избегне чифтосването между тях. Животните трябва да бъдат разпределени на принципа на случайния подбор към контролната или експонираните групи (препоръчва се да се извърши стратифициране по телесна маса). Клетките трябва да бъдат подредени по такъв начин, че да се намалят до минимум ефектите, които биха могли да възникнат в резултат от разположението им. Всяко животно трябва да бъде обозначено с индивидуален идентификационен номер. Животните от поколение P се номерират, преди да започне третирането с изпитваното вещество. Животните от поколение F1, които са избрани за чифтосване, се номерират при отбиването им. В документацията на изпитването трябва да се обозначи от кое котило произлиза всяко от избраните за чифтосване F1 животни. Освен това във връзка с измерването на индивидуалната телесна маса или провеждането на

функционални изследвания се препоръчва новородените да получат индивидуална идентификация възможно най-скоро след раждането.

Животните от родителското (P) поколение трябва да бъдат на възраст 5-9 седмици в началото на третирането. Стойностите на телесната маса и възрастта на всички животните в опитните групи трябва да бъдат възможно най-близки.

#### 1.4. ПРОЦЕДУРА

##### 1.4.1. Брой и пол на животните

Контролната група и всички експонирани групи трябва да включват достатъчно голям брой животни, тъй като е желателно по време на раждането или близо до термина броят на бременните животни във всяка група да бъде не по-малко от 20. За вещества, които предизвикват нежелани ефекти (например стерилитет, изразена токсичност при най-високата доза), това може да не бъде възможно. Целта е да се предизвикат достатъчно на брой бременности, за да може да се извърши адекватна оценка на потенциала на веществото да въздейства върху фертилитета, бременността, поведението на майките, кърменето, растежа и развитието на животните от поколение F1 от зачеването до достигането на полова зрялост, и развитието на тяхното потомство (F2) до отбиването му. Затова когато не се достигне желаният брой на бременните животни (т.е. 20), не във всички случаи проучването се приема за невалидно. Преценката трябва да се направи за всяко проучване поотделно в зависимост от конкретния случай.

##### 1.4.2. Подготовка на дозите

Препоръчва се изпитваното вещество да се въвежда по орален път (с диетата, водата за пиене или чрез гаваж), освен когато се прецени, че е по-подходящо да се използва друг път на въвеждане (напр. дермален или инхалаторен). Когато е необходимо, изпитваното вещество се разтваря или суспендира в подходящ носител. Препоръчва се първо да се прецени дали може се използва воден разтвор или суспензия. Когато това не е приложимо, като втора възможност трябва да се обсъди използването на разтвор или емулсия в олио (напр. царевично олио) и след това използването на други носители. Когато се използват други носители освен водата, трябва да се познават токсикологичните свойства на носителя. Трябва да бъде определена стабилността на изпитваното вещество в носителя.

##### 1.4.3. Дози

Трябва да се приложат най-малко три дози. Успоредно с експонираните групи трябва да се наблюдава и нетретирана контролна група. С изключение на случаите, когато се налагат ограничения във връзка с физичните, химичните или биологичните свойства на изпитваното вещество, най-високата доза трябва да бъде подбрана, така че да предизвиква прояви на токсичност, но не и смърт или тежко страдание. Когато въпреки очакванията настъпят смъртни случаи, приблизителната граница, под която смъртността в родителското поколение (P) се приема за допустима, е 10%. Дозите трябва да се подберат в намаляваща последователност по такъв начин, че да се проявят всички ефекти, свързани с прилагането на изпитваното вещество, и да се установят нива, при които не се наблюдава неблагоприятен ефект (NOAEL). За определяне на последователно намаляващите дози в повечето случаи е най-подходящо всяка доза да намалява два до четири пъти спрямо най-близката по-висока доза. Включването на допълнителна четвърта експонирана група често е за предпочитане пред използването на твърде големи интервали между дозите (напр. намаление повече от 10 пъти). За проучвания, при които веществото се въвежда с диетата, намалението спрямо най-



близката доза не трябва да бъде повече от 3 пъти. Дозите трябва да се избера след преценка на всички съществуващи данни за токсичността, особено на резултатите от изпитвания при многократно постъпване. Всички налични данни за метаболизма и кинетиката на изпитваното химично съединение или подобни химични вещества също трябва да се вземат под внимание. В допълнение тази информация се използва също и при обосновката на схемата за третиране.

Контролната група не се третира или се третира с носител, в случаите когато при въвеждането на изпитваното вещество се използва носител. С изключение на третирането с изпитваното вещество животните в контролната група трябва да се поставят при същите условия и да се подлагат на същите манипулации, както животните от експонираните групи. Когато се използва носител, той се въвежда на животните от контролната група в най-голямото количество, което се въвежда на експонираните животни. Когато изпитваното вещество се въвежда с диетата и предизвиква намален прием на храна или понижено усвояване на храната, може да се прецени като необходимо използването на контролна група от животни, които да приемат същото количество храна, както експонираните животни. Друг възможен подход вместо включването на такава контролна група е използването на данни от контролирани проучвания на ефекта от понижената консумация на храна върху параметрите на репродукцията.

Трябва да се отчетат следните характеристики на носителя или други добавки, ако се прилагат такива: ефекти върху резорбцията, разпределението, метаболизма или ретенцията на изпитваното вещество в организма; ефекти върху химичните свойства на изпитваното вещество, които могат да повлияят върху токсикологичните му характеристики; ефекти върху консумацията на храна или вода или върху хранителния статус на животните.

#### **1.4.4. Лимитиращо изпитване**

Може да се прецени, че извършването на изпитването в пълен обем с няколко дози не е необходимо, когато при орално изпитване по описаната в този метод процедура с едно ниво на експозиция (орална дневна доза равна или по-висока от 1000 mg/kg т.м. или еквивалентно процентно съдържание в диетата или питейната вода) не се наблюдават токсични ефекти при родителските животни или потомството им и когато не се очакват прояви на токсичност въз основа на данните за вещества с подобна химична структура и/или метаболизъм. При лимитиращото изпитване може да се приложи и по-висока орална доза, когато това се налага във връзка с нивото на експозиция за населението. При другите пътища на въвеждане - инхалаторен или дермален, физикохимичните свойства на изпитваното вещество, като например разтворимостта, често могат да повлияят и да ограничат максимално достижимото ниво на експозиция.

#### **1.4.5. Въвеждане на дозите**

Третирането на животните с изпитваното вещество трябва да се извършва всеки ден (7 дни в седмицата). Желателно е въвеждането да става по орален път (чрез диетата, питейната вода или гаваж). Когато се използва друг път на въвеждане, изборът трябва да се обоснове. В този случай може да се наложи въвеждането на модификации в представения метод. Въвеждането трябва да се извършва по един и същи начин на всички животни през посочения в метода период на изпитването. Когато изпитваното вещество се въвежда чрез гаваж, гаважът трябва да се извърши посредством стомашна сонда. Максималният обем на течностите, който може да се въведе еднократно, е 1 ml/100 g т.м. (0,4 ml/100 g т.м. при носител царевично олио), освен в случаите, когато се прилагат водни разтвори. Тогава обемът може да достигне 2 ml/100 g т.м. Целта е веществото да се въвежда в постоянен обем при всички използвани дози. Промените в обема трябва да бъдат сведени до минимум, като вместо него се променят концентрациите. Това правило не се прилага само при дразнещи и корозивни вещества, тъй

ефектът им се засилва при по-високи концентрации. При изпитвания чрез гаваж новородените обикновено са експонирани индиректно чрез майчиното мляко до отбиването им, когато започва директното въвеждане на веществото. При въвеждане чрез храната или питейната вода малките получават изпитваното вещество и директно, когато започнат да се хранят самостоятелно през последната седмица от периода на лактация.

Когато веществото се въвежда чрез храната или питейната вода, то трябва да се прилага в дози, които не влияят върху нормалното хранене и водния баланс. Когато изпитваното вещество се прилага с диетата, нивото на експозиция за дадена група може да се изрази като определена фиксирана концентрация в храната (ppm) или като фиксирана дневна доза спрямо телесната маса на животното. Трябва да се посочи кой от двата начина е приложен. Въвеждането чрез гаваж се извършва всеки ден приблизително по едно и също време, като количеството от веществото, което се въвежда на всяко животно, се определя поне веднъж седмично спрямо телесната му маса, за да се поддържа постоянно нивото на експозиция, съответстващо на избраната доза. При определяне на количеството, което се въвежда чрез гаваж, спрямо телесната маса, трябва да се вземат под внимание и данните за влиянието на плацентата върху разпределението на веществото.

#### **1.4.6. Експериментални схеми**

Мъжките и женските животни от родителското (P) поколение трябва да започнат да се третира всеки ден на възраст между 5 и 9 седмици. Ежедневното третиране на мъжките и женските животни от поколение F1 започва при отбиването им. Когато изпитваното вещество се прилага чрез храната или питейната вода, трябва да се има предвид, че животните от поколение F1 може да са били експонирани директно още през периода на лактация. За P и F1 животните от двата пола третирането трябва да продължи най-малко 10 седмици преди периода на чифтосване. Третирането продължава и при двата пола по време на двуседмичния период на чифтосване. Мъжките животни трябва да бъдат убити по хуманен начин и аутопсирани, когато се прецени, че с оглед оценката на репродуктивните ефекти не е необходимо изпитването върху тях да продължава по-дълго. За женските животни от родителското (P) поколение третирането продължава по време на бременността и се прекратява при отбиването на потомството F1. Въз основа на наличната информация за изпитваното вещество, включително съществуващите данни за токсичността, метаболизма или биологичната кумулация, се преценява дали са необходими промени в схемата на третиране. Дозата за всяко животно се определя най-често въз основа на последното измерване на индивидуалната телесна маса. Въпреки това трябва да се подхожда предпазливо, когато се определят дозите през последната третина от бременността.

Третирането на мъжките и женски животни от поколение P и F1 трябва да продължи до убиването им. Всички полово зрели мъжки и женски P and F1 животни трябва да бъдат умъртвени по хуманен начин, когато се прецени, че с оглед оценката на репродуктивните ефекти не е необходимо изпитването върху тях да продължава по-дълго. Животните от поколение F1, които не са избрани за чифтосване, и всички животни от поколение F2 трябва да бъдат умъртвени по хуманен начин след отбиването им.

#### **1.4.7. Процедура на чифтосването**

##### *1.4.7.1. Чифтосване на животните от родителското (P) поколение*

Всяко женско животно, определено за чифтосване, се поставя заедно с едно мъжко животно, третирано със същата доза (чифтосване 1:1), докато се осъществи копулация или до изтичането на 2 седмици. Всеки ден женските животни трябва да се преглеждат за наличие

на сперма или вагинална запушалка. Денят, в който се установи наличие на сперматозоиди или вагинална запушалка, се определя като ден 0 от бременността. Когато чифтосването е неуспешно, може да се извърши повторно чифтосване на женските животни с мъжки животни с доказан фертилитет от същата опитна група. Животните от всяка двойка, определена за чифтосване, трябва да бъдат ясно идентифицирани в данните от изпитването. Чифтосването между животни от едно и също котило трябва да се избягва.

#### *1.4.7.2. Чифтосване на животните от поколение F1*

За чифтосването на F1 животните и получаването на поколение F2 веднага след отбиването се избират най-малко по едно мъжко и едно женско животно от всяко котило, които ще се чифтосат с по едно животно от друго котило, третирано със същата доза. Когато не се откриват значителни различия в телесната маса или вида между животните от дадено котило, животните за чифтосването трябва да се определят на принципа на случайния подбор. Когато се наблюдават такива различия, се подбират представителите от всяко котило, които са в най-добро състояние. На практика се препоръчва този подбор се извърши въз основа на стойностите на телесната маса, но в някои случаи може да бъде по-подходящо животните да се изберат според външния им вид. F1 животните не трябва да се чифтосват, преди да достигнат напълно полова зрялост.

Двойките, при които не е настъпило оплождане и бременност, трябва да се изследват, за да се определи възможната причина за безплодието. Оценката на състоянието им може да включва процедури като повторно чифтосване с други мъжки или женски животни с доказан фертилитет, микроскопско изследване на репродуктивните органи и изследване на естралния цикъл или сперматогенезата.

#### *1.4.7.3. Второ чифтосване*

В някои случаи, като например при промени в броя на животните в котилото, свързани с експозицията на изпитваното вещество, или при появата на недостатъчно ясно изразени ефекти при първото чифтосване, се препоръчва двойките полови зрели животни от поколение P или F1 да се чифтосат повторно, за да заченат второ котило. Препоръчва се женските или мъжки животни, които не са дали потомство, да се чифтосат повторно с животни от противоположния пол с доказан фертилитет. Когато се прецени, че е необходимо да се получи второ котило от P и/или F1 животните, повторното чифтосване се извършва приблизително една седмица след отбиването на последното котило.

#### *1.4.7.4. Брой на животните в котилото*

На животните трябва да се даде възможност да родят нормално и да отгледат потомството си до отбиването. Може да се извърши стандартизиране на броя на животните във всяко котило, но това не е задължителна процедура. Когато се извършва стандартизиране, използваният метод за това трябва да се опише подробно.

## 1.5. НАБЛЮДЕНИЯ

### 1.5.1. Клинични наблюдения

Клиничното наблюдение на животните се извършва всеки ден. Когато въвеждането става чрез гаваж, при наблюдението трябва да се обърне особено внимание на периода след третирането, през който се очаква появата на най-силно изразени ефекти. Трябва да се опишат промените в поведението, признаците на трудно или удължено раждане, както и

всички симптоми на токсично действие. Освен това най-малко веднъж седмично трябва да се извърши по-подробен преглед на всяко животно. Подходящо е прегледът да се провежда, когато животните се претеглят. Огледът на всички животни за наличие на патологични клинични симптоми и смъртни случаи се провежда два пъти дневно, а през двата неработни дни в края на седмицата - веднъж дневно, когато се прецени, че това е достатъчно.

### **1.5.2. Родителски животни - телесна маса и консумация на храна/вода**

Р животните и F1 животните, определени за чифтосване, трябва да се претеглят на първия ден от началото на третирането, а след това най-малко веднъж седмично. Женските Р животни и женските F1 животни, определени за чифтосване, трябва да се претеглят като минимум в ден 0, 7, 14, и 20 или 21 от гестацията, по време на лактацията в същите дни, когато се претеглят котилата, както и в дните, когато животните се убиват. Тези наблюдения трябва да се описват индивидуално за всяко полово зряло животно. По време на периода преди чифтосването и на бременността количеството на консумираната храна трябва да се измерва най-малко веднъж седмично. Консумацията на вода трябва да се измерва най-малко веднъж седмично, когато изпитваното вещество се въвежда чрез питейната вода.

### **1.5.3. Естрален цикъл**

Продължителността и протичането на естралния цикъл се оценяват при женските животни от поколение Р и F1 чрез изследване на вагинални цитонамазки преди чифтосването и по желание през периода на чифтосването до момента, когато се установят признаците за извършено чифтосване. Материалът за цитонамазката се взема внимателно от вагината/цервикса, за да не се допусне увреждане на лигавицата и последващо индуциране на псевдобременност (1).

### **1.5.4. Параметри за оценка на състоянието на сперматозоидите**

След убиването масата на тестисите и епидидимите на всички мъжки Р и F1 животни се измерва и записва. Единият тестис и епидидим от всяко животно се запазват за хистопатологично изследване (виж точки 1.5.7 и 1.5.8.1). Вторият тестис и епидидим на най-малко 10 мъжки животни от всяка опитна група от поколение Р and F1 се използват за изброяване съответно на сперматидите, резистентни на хомогенизация, и на сперматозоидите в опашката на епидидима. От същите животни се вземат сперматозоиди от опашката на епидидима или vas deferens и се изследват подвижността и морфологията им. Когато се наблюдават ефекти, свързани с третирането, или когато са налице данни от други проучвания за възможни ефекти върху сперматогенезата, оценката на състоянието на сперматозоидите трябва да се извърши при всички мъжки животни от всяка експонирана група. Когато липсват такива наблюдения или данни, може да се изследват проби само от мъжките Р и F1 животни от контролната група и най-силно експонираната група.

Трябва да се определи общият брой на тестикуларните сперматиди, резистентни на хомогенизиране, и на сперматозоидите в опашката на епидидима (2)(3). Броят на сперматозоидите в опашката на епидидима може да се изчисли въз основа на концентрацията и обема на сперматозоидите в суспензията, използвана за извършване на качествените наблюдения, както и на броя на сперматозоидите, отделени чрез раздробяване и/или хомогенизиране на останалите тъкани от опашката на епидидима. Изброяването на сперматозоидите в пробите от избраните мъжки животни от всички опитни групи се извършва веднага след убиването им. Това не е необходимо, когато пробите се заснемат на видеозапис или дигитално, или когато се замразяват и анализират по-късно. Когато пробите са съхранени или заснети, анализът им може да започне с контролната група и най-силно

експонираната група. Ако не се установяват ефекти, свързани с третирането (например ефекти върху броя, подвижността или морфологията на сперматозоидите), не е необходимо да се анализират пробите от останалите експонирани групи. Когато при най-силно експонираната група се откриват ефекти, свързани с третирането, се анализират и пробите от групите с по-ниски дози.

Веднага след убиването на животните подвижността на сперматозоидите от епидидима (или ductus deferens) трябва да се оцени или да се направи видеозапис на пробата. Сперматозоидите трябва да се отделят с минимални увреждания и пробата да се разрежи за анализ на подвижността, който се извършва чрез подходящи методи (4). Относителният дял (в проценти) на прогресивно подвижните сперматозоиди трябва да се определи субективно или обективно. Когато се извършва компютърен анализ на движението на сперматозоидите (5)(6)(7)(8)(9)(10), изчислението на прогресивната подвижност зависи от определените от потребителя прагове за скорост по средния път и праволинейност на движението или линеен индекс. По време на аутопсията пробите могат да бъдат заснети на видеозапис (11) или по друг начин. По-късно те се анализират, като първоначално се изследват само контролните групи и групите с най-високата доза от P и F1 поколение. При наличие на ефекти, свързани с третирането, се изследват и групите, експонирани на по-ниски дози. Когато не са заснети на видеозапис или дигитално, всички проби от всички опитни групи се анализират по време на аутопсията.

Извършва се морфологично изследване на сперматозоиди от епидидима (или vas deferens). Сперматозоидите (най-малко 200 в една проба) се изследват във фиксирани влажни препарати (12) и се класифицират като нормални или абнормни. Примери за морфологични отклонения са: слепване, наличие на глави, отделени от тялото и опашката, промени във формата на главите и/или опашките. Оценката на пробите от избраните мъжки животни от всички експонирани групи трябва да се извърши веднага след убиване на животните, или по-късно чрез използването на видео- или дигитални записи. Намазките също могат да се анализират по-късно, след като се фиксират. В тези случаи първо може да се извърши оценка на пробите от контролната група и най-силно експонираната група. Когато не се откриват ефекти, свързани с третирането (например ефекти върху морфологията на сперматозоидите), не е необходимо да се изследват останалите групи. Когато при най-високата доза се откриват ефекти, свързани с третирането, пробите от групите, третирани с по-ниски дози, също се анализират.

Когато някои от посочените по-горе параметри за оценка на състоянието на сперматозоидите вече са били изследвани по време на проучване на системната токсичност с продължителност най-малко 90 дни, не е задължително те да се изследват повторно в проучването в две поколения. Препоръчва се, обаче, пробите от сперматозоидите на P мъжките животни или дигиталните им образи да бъдат съхранени, за да може по-нататък да се извърши оценка, ако това е необходимо.

### **1.5.5. Потомство**

Всяко котило трябва да бъде прегледано възможно най-скоро след раждането (ден 0 от периода на лактация), за да се установи броят и полът на новородените, броят на мъртвородените и на живите, както и наличието на външни аномалии. Когато в ден 0 сред новородените има мъртви животни и труповете им не са мацерирани, желателно е те да се прегледат за установяване причината за смъртта и за наличие на дефекти и да се запазят. Живите новородени трябва да се преброят и всяко от тях да се претегли в деня на раждането (ден 0 от периода на лактация) или в ден 1. По-нататък телесната им маса трябва да се измерва редовно в определени дни, например в ден 4, 7, 14, и 21 от периода на лактация.

Физическите аномалии или отклоненията в поведението, установени при майките или в потомството, трябва да се опишат.

Основният показател за физическото развитие на потомството, който се проследява и регистрира, е прирастът на телесната маса. Други параметри на физическото развитие (например отлепване на ушната мида, отваряне на очите, пробиване на зъбите, израстване на козина) могат да дадат допълнителна информация, но е желателно тези данни да се оценяват в контекста на данните за половото съзряване (например възраст и телесна маса при отварянето на вагината или отделянето на препуциума) (13). Препоръчва се извършването на функционални изследвания (например за моторна активност, сензорна функция, рефлексна дейност) върху поколение F1 преди и/или след отбиването, по-специално на изследвания, свързани с половото съзряване, когато такива изследвания не са включени в отделни проучвания. Възрастта, при която настъпва отварянето на вагината или отделянето на препуциума, трябва да се определи за F1 животните, избрани за чифтосване. Когато са установени данни за промяна в съотношението между двата пола или във времето за настъпване на полова зрялост при животните от поколение F1, на постнатален ден 0 трябва да се измери разстоянието между ануса и половите органи при новородените от поколение F2.

Функционалните изследвания могат да не се извършват в групите, при които се откриват ясно изразени признаци на неблагоприятни ефекти (например значително понижение в телесната маса и т.н.). Когато се провеждат функционални изследвания, те не трябва да се извършват върху малките, избрани за чифтосване.

#### **1.5.6. Макроскопски оглед при аутопсиране**

При убиването или смъртта по време на изпитването се извършва макроскопски оглед за наличие на структурни аномалии или патологични промени, като се обхващат всички родителски животни (P и F1), всички малки с външни аномалии или клинични симптоми, както и по едно случайно подбрано малко от всеки пол и всяко котило на поколение F1 и F2. Особено внимание при огледа трябва да се обърне на органите на половата система. Малките от поколение F1 и F2, които са били в терминално състояние и са убити по хуманен начин, или са умрели, но трупове им не са мацерирани, трябва да се изследват за възможни дефекти и/или причини за смъртта. Труповете им трябва да се запазят.

Матките на всички женски животни, родили за първи път, трябва да се изследват за наличие и брой на места на имплантация. Изследването трябва да се проведе, така че да не се попречи на извършването на хистопатологично изследване.

#### **1.5.7. Органна маса**

При всички родителски P и F1 животни в момента на убиването трябва да се измери телесната маса и масата на следните органи (всеки от чифтните органи трябва да се претегли отделно):

- матка, яйчници;
- тестиси, епидидими (целият епидидим и отделно опашката на епидидима);
- простатна жлеза;

- семенни мехурчета с коагулиращите жлези, течното им съдържимо и простатната жлеза (измерват се заедно);

- мозък, черен дроб, бъбреци, слезка, хипофизна, щитовидна и надбъбречни жлези, познати критични органи.

Телесната маса при настъпване на смъртта трябва да бъде измерена за малките от поколение F1 и F2, които са избрани за аутопсиране. Трябва да бъдат претеглени следните органи от едно случайно избрано малко от всеки пол и от всяко котило (виж точка 1.5.6): мозък, слезка и тимус.

Резултатите от макроскопския оглед и измерването на органната маса трябва да се оценяват в контекста на наблюденията, проведени по време на други изпитвания при многократно постъпване на веществото, когато това е възможно.

### **1.5.8. Хистопатологично изследване**

#### *1.5.8.1. Родителски животни*

Следните органи и тъкани от родителските Р и F1 животни или репрезентативни проби от тях трябва да се фиксират и съхранят в подходяща среда за провеждане на хистопатологично изследване:

- Вагина, матка (заедно с цервикса) и яйчници (съхранени в подходящ фиксатор);

- един тестис (съхранен във фиксатор на Bouin или друг подобен фиксатор), един епидидим, семенни мехурчета, простатна и коагулираща жлеза.

- критичен орган/органи, установени при предишни проучвания, от всички Р и F1 животни, избрани за чифтосване.

Пълно хистопатологично изследване на съхранените органи и тъкани, изброени по-горе, трябва да бъде направено за всички Р и F1 животни от контролната и най-силно експонираната група, избрани за чифтосване. По желание може да се извърши изследване на яйчниците на животните от Р поколение. Органите, при които се установяват промени, свързани с третирането, трябва да бъдат изследвани също така и при животните от групите с най-ниската и междинната доза/доза, за да може да се установи NOAEL. Освен това на хистопатологично изследване трябва да бъдат подложени репродуктивните органи на животните от групите с най-ниската доза и междинната доза/доза, при които има съмнение за понижен фертилитет, например тези, при които чифтосването, оплождането или зачеването са били неуспешни, тези, които не са родили здраво потомство, както и тези, при които е нарушен естралният цикъл или се установяват промени в броя, подвижността или морфологията на сперматозоидите. Всички макроскопски лезии, като например атрофия или тумори, трябва да се изследват и хистопатологично.

Трябва да се извърши подробно хистопатологично изследване на тестисите (напр. чрез използване на фиксатора на Bouin, заливане с течен парафин и изготвяне на напречни срезове с дебелина 4-5  $\mu\text{m}$ ), за да се открият ефекти, свързани с третирането, например наличие на мултинуклеарни гигантски клетки, задържани сперматиди, излюшване на сперматогенни клетки в лумена на извитите семенни каналчета или липсващи слоеве или видове герминативни клетки (14). Пълното изследване на епидидима трябва да обхваща главата, тялото и опашката, което може да се извърши, като се използва надлъжен срез.

Епидидимът трябва да се изследва за наличие на левкоцитна инфилтрация, промени в броя на отделните видове клетки, аберантни видове клетки и фагоцитоза на сперматозоидите. При изследването на мъжките полови органи може да се използва оцветяване с хематоксилин и ПАС-реакция.

След прекратяване на лактацията яйчникът трябва да съдържа примордиални и зреещи фоликули, както и големи жълти тела. Чрез хистопатологичното изследване може качествено да се установи намаляване в броя на примордиалните фоликули. Количествената оценка на популацията от примордиални фоликули се извършва при женските животни от поколение F1. Броят на животните, изборът на срезове и броят на срезовете, включени в изследваната извадка, трябва да бъдат обосновани от статистическа гледна точка във връзка с използваната процедура за количествена оценка. Изследването включва определяне на броя на примордиалните фоликули, които могат да се изброят заедно с малките зреещи фоликули. След това броят на фоликулите се сравнява между контролните и експонираните животни (15) (16) (17) (18) (19).

#### *1.5.8.2. Животни след отбиването*

Тъкани с видими аномалии и критични органи от всички малки с външни аномалии или клинични симптоми, както и от едно случайно подбрано малко от всяко котило и пол в поколение F1 и F2, което не е било избрано за чифтосване, трябва да бъдат фиксирани и съхранени в подходяща среда за хистопатологично изследване. Трябва да се извърши пълно хистопатологично изследване на съхранените тъкани, като специално внимание се обърне на органите на половата система.

## **2. ДАННИ**

### **2.1. ПРЕДСТАВЯНЕ И ОБРАБОТКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ**

Данните трябва да се представят, както индивидуално за всяко животно, така и обобщено в табличен вид, като за всяка опитна група и поколение се посочи броят на животните в началото на изпитването, броят на животните, умрели по време на изпитването или умъртвени по хуманни съображения, времето на настъпване на смъртта или умъртвяването по хуманни съображения, броят на фертилните животни, броят на бременните женски животни, броят на животните със симптоми на токсично действие, характеристиката на наблюдаваните симптоми, включително време на поява, продължителност и степен на изразеност, наблюденията при родителските животни и при потомството, хистопатологичните промени, както и всички необходими данни за котилата.

Резултатите, изразени количествено, трябва да се оценят чрез подходящи общоприети статистически методи. Статистическите методи трябва да се определят във връзка с дизайна на проучването и да се обосноват. При анализа на данните могат да се използват статистически модели на връзката “доза-отговор”. Отчетът трябва да включва достатъчно информация за използваните методи и компютърните програми, с които е извършен анализът, така че той да може да се възпроизведе и оцени от независим рецензент/ статистик.

### **2.2. ОЦЕНКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ**

Оценката на резултатите от изпитването за репродуктивна токсичност в две поколения се извършва въз основа на наблюдаваните ефекти, включително данните от макроскопския оглед и хистопатологичното изследване. Оценката включва характеристика на връзката или установяване на отсъствие на връзка между дозата на изпитваното вещество и наличието или



отсъствието, честотата и степента на изразеност на наблюдаваните промени, включително макроскопски лезии, ефекти върху критични органи, нарушения във фертилитета, клинични симптоми, нарушения в протичането на бременността, раждането и състоянието на потомството, промени в телесната маса, ефекти върху смъртността и всички други токсични ефекти. Физикохимичните свойства на изпитваното вещество и токсикокинетичните данни, когато такива са налице, трябва да се вземат под внимание при оценката на резултатите от изпитването.

При правилно провеждане на изпитването за репродуктивна токсичност трябва достатъчно обосновано да се определи недействащо ниво и да се характеризират неблагоприятните ефекти върху възпроизводството, раждането, лактацията, постнаталното развитие, включително растежа и половото развитие.

### 2.3. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Чрез изпитването за оценка на репродуктивната токсичност в две поколения се осигурява информация за ефектите на изпитваното вещество при многократно постъпване през всички фази на репродуктивния цикъл. По-специално изпитването дава информация за параметрите на възпроизводителната функция, както и на развитието, растежа, съзряването и преживяемостта на потомството. Резултатите от изпитването трябва да бъдат интерпретирани във връзка с наблюденията от проучванията на субхроничната токсичност, пренаталната токсичност за развитието, токсикокинетиката и други достъпни проучвания. Резултатите от това изпитване трябва да бъдат използвани при оценката на необходимостта от по-нататъшно изследване на химичното вещество. Екстраполацията на резултатите от това изпитване за хора е валидна в ограничена степен. Най-голямо приложение намират резултатите, получени за недействащите нива, които се използват при определяне на допустимите нива на експозиция за хора (20) (21) (22) (23).

## 3. ДОКЛАДВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

### 3.1. ОТЧЕТ ЗА ИЗПИТВАНЕТО

Отчетът за изпитването трябва да включва следната информация:

Изпитвано вещество:

- физична природа и, където е необходимо, физикохимични свойства;
- данни за идентифициране на химичното вещество;
- степен на чистота на веществото.

Носител (когато се използва такъв):

- обосновка за избора на носителя, когато той е различен от водата.

Опитни животни:

- използван вид/ порода;
- брой, възраст и пол на животните;

- източник за доставка на животните, условия на отглеждане във вивариума, диета, материали за приготвяне на гнездо и др.;
- индивидуална телесна маса на животните в началото на изпитването.

#### Условия на провеждане на изпитването:

- обосновка за избора на дозите;
- описание на подготовката на изпитваното вещество за въвеждане (приготвяне на формулация / включване в храната), използвани концентрации;
- стабилност и хомогенност на формулацията;
- описание на въвеждането на изпитваното вещество;
- изчисляване на достигнатите дневни дози (mg/kg т.м.) въз основа на концентрациите на изпитваното вещество в диетата/питейната вода (ppm), когато това е приложимо;
- Критерии за качество, на които отговарят храната и водата за пиене;

#### Резултати:

- данни за консумацията на храна; данни за консумацията на вода, когато такива са налице; усвояване на храната (прираст на телесната маса на грам консумирана храна); прием на изпитваното вещество от Р и F1 животни с изключение на времето, през което женските и мъжките животни са съжителствали заедно, както и на периода на лактация (като минимум последната третина от този период);
- данни за резорбцията на веществото (когато такива са налице);
- данни за телесната маса на Р и F1 животните, избрани за чифтосване;
- данни за телесната маса на малките (индивидуално и за всяко котило);
- телесна маса в деня на убиването и абсолютна и относителна органна маса за родителските животните;
- природа, степен на изразеност, продължителност и обратимост на клиничните симптоми;
- време на настъпване на смъртта по време на проучването, като се отбелязва кои животни са преживели до деня на убиването;
- данни за токсичния отговор в групите по пол и ниво на експозиция, включително индекси на чифтосване, фертилитет, гестация, раждане, преживяемост и лактация; в отчета трябва да се посочат конкретните стойности, въз основа на които са изчислени тези индекси;
- токсични или други ефекти върху възпроизводството, потомството, постнаталния растеж и т.н.

- наблюдения при макроскопския оглед;
- подробно описание на всички хистопатологични промени;
- брой на женските животни от поколение P и F1 с нормален естрален цикъл; продължителност на цикъла;
- общ брой на сперматозоидите в опашката на епидидима, процент на прогресивно подвижните сперматозоиди, процент на сперматозоидите с нормална морфология; процент на сперматозоидите с всеки вид аномалия, който е установен.
- време до чифтосването (брой на дните до извършване на чифтосването);
- продължителност на бременността;
- брой на имплантациите и жълтите тела; брой на животните във всяко котило;
- брой на живородените и постимплантационните загуби;
- брой на малките, родени с видими външни аномалии; когато е определен броят на животните с ниска телесна маса при раждането, той трябва да се посочи;
- данни за характерните физически особености на потомството и други данни за постнаталното развитие; трябва да се обоснове подборът на разгледаните характерни физически особености;
- данни за функционалните наблюдения при малките и при полово зрелите животни, когато това е приложимо;
- статистическа обработка на резултатите, когато това е необходимо.

Обсъждане на резултатите.

Заключения, включително стойности на NOAEL за ефектите върху майките и потомството.

#### 4. ЛИТЕРАТУРА

- (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 DoseResponse Analysis of MethoxychlorInduced 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 Dimethane sulphonate 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 HamiltonThorn Motility Analyzer. In: *Methods in Toxicology*, Part A., Academic, Orlando, Florida. pp. 319-333.
- (10) Toth, G.P. et al. (1989). The Automated Analysis of Rat Sperm Motility Following Subchronic Epichlorhydrin Administration: Methodologic and Statistical Considerations. *Journal of Andrology* 10: 401-415.
- (11) Working, P.K. and M. Hurtt, (1987). Computerized Videomicrographic Analysis of Rat Sperm Motility. *Journal of Andrology* 8:330-337.
- (12) Linder, R.E. et al., (1992). Endpoints of Spermatotoxicity in the Rat After Short Duration Exposures to Fourteen Reproductive Toxicants. *Reproductive Toxicology* 6:491-505.
- (13) Korenbrot, C.C. et al., (1977). Preputial Separation as an External Sign of Pubertal Development in the Male Rat. *Biological Reproduction* 17:298-303.
- (14) Russell, L.D. et al., (1990). *Histological and Histopathological Evaluation of the Testis*, Cache River Press, Clearwater, Florida.
- (15) Heindel, J.J. and R.E. Chapin, (eds.) (1993). Part B. Female Reproductive Systems, *Methods in Toxicology*, Academic, Orlando, Florida.
- (16) Heindel, J.J. et al., (1989) Histological Assessment of Ovarian Follicle Number in Mice As a Screen of Ovarian Toxicity. In: *Growth Factors and the Ovary*, A.N. Hirshfield (ed.), Plenum, New York, pp. 421-426.
- (17) Manson, J.M. and Y.J. Kang, (1989). Test Methods for Assessing Female Reproductive and Developmental Toxicology. In: *Principles and Methods of Toxicology*, A.W. Hayes (ed.), Raven, New York.
- (18) Smith, B.J. et al., (1991). Comparison of Random and Serial Sections in Assessment of Ovarian Toxicity. *Reproductive Toxicology* 5:379-383.
- (19) Heindel, J.J. (1999). Oocyte Quantitation and Ovarian Histology. In: *An Evaluation and Interpretation of Reproductive Endpoints for Human Health Risk Assessment*, G. Daston, and C.A. Kimmel, (eds.), ILSI Press, Washington, DC.
- (20) Thomas, J. A. (1991). Toxic Responses of the Reproductive System. In: *Casarett and Doull's Toxicology*, M.O. Amdur, J. Doull, and C.D. Klaassen (eds.), Pergamon, New York.
- (21) Zenick, H. and E.D. Clegg, (1989). Assessment of Male Reproductive Toxicity: A Risk Assessment Approach. In: *Principles and Methods of Toxicology*, A.W. Hayes (ed.), Raven Press, New York.

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

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

## В.42. КОЖНА СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ: ИЗСЛЕДВАНЕ НА ЛОКАЛНИТЕ ЛИМФНИ ВЪЗЛИ

### 1. МЕТОД

Този метод е еквивалентен на OECD TG 429 (2002).

#### 1.1. ВЪВЕДЕНИЕ

Изследването на локалните лимфни възли (LLNA) е подходящо валидиран и приет, за да се обсъди неговото одобрение като нов метод (1)(2)(3). Той е вторият метод за оценка на потенциалната кожна сенсibiliзация от химикалите при животни. Другият метод (В.6) използва изследвания върху морско свинче, особено максимизираното изследване с морско свинче и изследването на Buehler (4). LLNA осигурява алтернативен метод за определяне на кожната сенсibiliзация от химикалите и се прилага за потвърждение при неспособност (когато липсва значителна възможност) химикала да причини кожната сенсibiliзация. Това не значи непременно, че при всички случаи трябва да бъде прилагано LLNA с морски свинчета, а по-скоро изпитването е равностойно и може да бъде приложено като алтернатива, при която обикновено не е необходим дълъг период от време за потвърждаване на позитивните и негативните резултати. LLNA поставя някои предизвикателства едновременно пред научния прогрес и благополучието на животните. То проучва фазата на въвеждане (индукция) при кожна сенсibiliзация и осигурява количествени данни, подходящи за оценяване на зависимостта доза-отговор. Описват се подробностите за валидирането на LLNA и се прави преглед на свързаната с него работа (5)(6)(7)(8). В допълнение, трябва да бъде отбелязано, че леките/средните сенсibiliзатори, които се препоръчват като подходящи вещества за контрол при методите за изследване на морско свинче, също са подходящи за употреба при LLNA (6)(8)(9). LLNA е *in vivo* метод и в следствие на това, използването на животни при оценяването на контактната сенсibiliзираща активност не може да се преустанови. Въпреки това, има възможност да се редуцира броя на животните, изисквани за тази цел. Освен това, LLNA предлага съществено усъвършенстване (подобряване) на начина, по който животните се използват за изпитване на контактната сенсibiliзация. LLNA се основава на разбирането за имунологичните ефекти, стимулирани от химикала по време на индукционната фаза на сенсibiliзирането. За разлика от изследванията с морско свинче, при LLNA не изисква да бъдат провеждани реакции, предизвикващи след индукция дермална хиперчувствителност. Освен това, LLNA не изисква употребата на адювант, както в случаите на максимизираното изследване с морско свинче. По такъв начин LLNA намалява страданието на животните. Освен това трябва да се признае, че сред предимствата на LLNA пред традиционните изследвания с морско свинче, са наличието на определени ограничения, които могат да направят належаща употребата на традиционните изследвания с морски свинчена (напр., неверни отрицателни заключения при LLNA с определени метали, неверни положителни заключения при определени кожни дразнители)(10). Виж също Въведението на част В.

#### 1.2 ПРИНЦИП НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

Основният принцип, залегнал в LLNA е, че сенсibiliзаторите предизвикват първоначална пролиферация на лимфните възли, дренираща мястото на прилагане на химикала. Тази пролиферация е пропорционална на приложената доза (и на потенциала за възникване на алергия) и осигурява лесен начин за получаване на количествено измерване на сенсibiliзацията. LLNA оценява тази пролиферация като зависимост доза-отговор, в която се сравнява пролиферацията на изпитваните групи с тази, на третираните с разтворител, контроли. Съотношението на пролиферацията в третираните групи спрямо тази в контролите на разтворителя, наречена Стимулационен Индекс (SI), е определена и трябва да бъде поне

три, за да може едно изпитвано вещество да бъде по-нататък оценено като потенциален кожен сенсibiliзатор. Тук описаните методи се основават на използването на радиоактивно маркиране за измерване на клетъчната пролиферация. Въпреки това, обаче за оценка на пролиферацията могат да бъдат приложени други подходи, които се обосновават и имат подходящата научна подкрепа, включително пълно цитиране и описание на методологията.

### 1.3 ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

#### 1.3.1 Подготовка

##### 1.3.1.1 Условия за отглеждане и хранене

Животните трябва да бъдат индивидуално настанени. Температурата в стаята на опитните животни трябва да бъде 22°C ( $\pm$  3°C). Въпреки че относителната влажност трябва да бъде поне 30% и е препоръчително тя да не надвишава 70% в друг момент, освен при почистване на стаята, трябва да се цели да се постигне 50-60% относителна влажност. Светлината трябва да бъде изкуствена, с последващи 12 часа светъл период, 12 часа тъмен период. За хранене могат да бъдат използвани конвенционалните лабораторни диети с неограничен достъп до питейна вода.

##### 1.3.1.2 Подготовка на животните

Животните са произволно избрани, маркирани, за да е възможно индивидуалното им идентифициране (но не и чрез маркиране на ушите им) и оставени в клетките си поне 5 дни преди започване на дозирането, за да се аклиматизират към лабораторните условия. Преди да започне третирането, всички животни се изследват, за да се потвърди отсъствието на видими кожни увреждания.

#### 1.3.2 Условия на изследването

##### 1.3.2.1 Експериментални животни

Видът животни, избрани за това изследване, е мишка. Използват се млади възрастни мишки от женски пол от порода СВА/Са или СВА/Ј, които не са раждали и не са бременни. В началото на изследването, животните трябва да бъдат на възраст между 8-12 седмици и отклоненията в теглото им трябва да бъдат минимални и да не превишават 20% от средното тегло. Животни от друг пол и други породи могат да бъдат използвани, когато има събрани достатъчно данни, които показват, че не съществува отговор при LLNA, който да показва съществени различия, обусловени от пола или породата.

##### 1.3.2.2 Проверка за достоверност

Положителни контроли се използват за демонстриране на подходящо провеждане на експеримента и на компетентността на лабораторията относно успешното провеждане на експеримента. Положителната контрола трябва да предизвика положителен LLNA отговор, при ниво на експозиция, при което се очаква нарастване на стимулационния индекс (SI) >3 спрямо отрицателната контролна група. Дозата за положителните контроли трябва да бъде избрана, така че да може свободно, но не окончателно (крайно) да предизвика отговор. Предпочитани вещества са хексилканелен алдехид (CAS № 101-86-0, EINECS № 202-983-3) и меркаптобензотиазол (CAS № 149-30-4, EINECS № 205-736-8). Може да има обстоятелства, при които след направено подходящо обосноваване, могат да бъдат използвани други контролни вещества, отговарящи на горепосочените критерии. Докато (обикновено) при всеки експеримент може да бъде изискана положителна контролна група, може да има ситуации, при които изпитвателните лаборатории да разполагат с налични исторически данни за позитивен контрол, които показват последователни задоволителни отговори в шест-месечен или по-широк период от време. При тези ситуации, може да бъде подходящо изследване с положителни контроли да бъде провеждано по-рядко, на интервали, не по-големи от 6 месеца. Въпреки че положителното контролно вещество трябва да бъде изпитвано в разтворител, за когото е известно, че при прилагането му се получава

окончателен отговор (напр. ацетон: зехтин), може да има определени регулаторни (установени) ситуации, при които ще бъде необходимо също провеждането на изпитване с нестандартен разтворител (клинично/ химично отговаряща формулация). При такава ситуация, трябва да бъде изследвано възможното взаимодействие на положителната контрола с този нетрадиционно използван разтворител.

### 1.3.2.3 Брой на животните, нива на дозата и избор на разтворител.

Използува се група от максимум четири животни за доза, при минимум три концентрации на изпитваното вещество, плюс отрицателна контролна група, третирана само с разтворителя на изпитваното вещество, и, където е подходящо, положителен контрол. В случаите, при които трябва да бъдат събрани индивидуални данни за всяко животно, се използват групи от минимум пет животни за доза. Освен че липсва третиране с изпитваното вещество, животните от контролните групи трябва да бъдат отглеждани и третирани по начин, идентичен с този, на животните от третираните групи. Изборът на доза и разтворител трябва да бъде основан на препоръките, посочени в препратка (1). Дозите се избират от концентрационните серии 100%, 50%, 25%, 10%, 5%, 2,5%, 1%, 0,5% и др. При избора на трите последователни концентрации, трябва да бъдат отчетени съществуващата остра токсичност и кожно дразнене, където е удачно, така че най-високата концентрация да увеличава в максимална степен експозицията, така че да се избегне систематичната токсичност и крайното локално кожно дразнене (2)(11). Разтворителят трябва да бъде избран въз основа на максимално повишените концентрации за изпитване и разтворимостта, при които се приготвя подходящ разтвор/ суспензия за прилагане на изпитваното вещество. За предпочитане е да се използват следните препоръчавани разтворители: ацетон/ зехтин (4:1 об/об), диметилформаид, метилетилкетон, пропилен гликол и диметилсулфоксид (2)(10), но могат да бъдат използвани и други, при условие, че те са достатъчно добре научно подкрепени. При определени ситуации, може да бъде необходимо да се използват клинично обусловени разтворители или търговска формулация, в която изпитваното вещество се маркира като допълнителна контрола. Особено внимание трябва да бъде обърнато за уверение, че хидрофилните материали се инкорпорират в система от разтворители, която навлажнява кожата и не се разпада веднага. Ето защо, разтворители на изцяло водна основа трябва да бъдат избягвани.

## 1.3.3 Процедура на изследване

### 1.3.3.1 Експериментален график

Експерименталният график на опита е, както следва:

- *Ден 1:*

Индивидуално идентифициране и записване на теглото на всяко животно. Пряко апликиране на 25 µl от разтвор на изпитваното вещество с подходяща концентрация, самостоятелно на разтворителя или положителната контрола (както е подходящо), в горната част на всяко ухо.

- *Ден 2 и 3:*

Повтаряне на апликационната процедура, проведена през ден 1.

- *Ден 4 и 5*

Няма третиране.

- *Ден 6*

Записва се теглото на всяко животно. Инжектира се 250 µl phosphate-buffered saline (PBS), съдържащ 20 µCi (7,4e + 8 Bq) 3H-метил тимитидин на всичките изследвани и контролни мишки през опашната вена. Алтернативно, се инжектира 250 µL PBS, съдържащ 2 µCi (7,4e + 7 Bq) 125I-йододеоксиуридин и 10<sup>-5</sup> M флуородеоксиуридин на всички мишки през



опашната вена. Четири часа по-късно, животните се убиват. Дренираните аурикуларни (ушни) лимфни възли от всяко ухо се отрязват и събират в PBS при всяка експериментална група (обединен подход за третиранена групата); алтернативно, двойките лимфни възли от отделните животни могат да бъдат отрязани и събирани в PBS при всяко животно (индивидуален подход към животните). Подробности и диаграми за идентифицирането и дисекцията на възлите могат да бъдат намерени в приложение I на препратка 10.

#### 1.3.3.2 *Подготовка на клетъчни суспензии*

Приготвя се еднократна клетъчна суспензия от клетки от лимфни възли (LNC) от всяка от общо третираните групи или двустранно от животинските индивиди чрез леко механично разпръскване през 200  $\mu$ m-вите отвори на мрежа от неръждаема стомана. Клетките от лимфните възли се измиват двукратно с голямо количество PBS и преципитират с 5% трихлороцетна киселина (TCA) при 4 °C в продължение на 18h (2). Малките сферични топчета или повторно се суспендират в 1 ml TCA и се пренасят до сцинтилационните стъкленици, съдържащи 10 ml сцинтилационна течност за 3H-брояч, или се пренасят директно към гамма броящите епруветки за 125I-датчика.

#### 1.3.3.3 *Определяне на клетъчната пролиферация (инкорпорирана радиоактивност)*

Инкорпорирането на 3H-метил тимидин се измерва чрез  $\beta$ -сцинтилационен датчик като разпадане (дезинтегриране) за минута (DPM). Инкорпорирането на 125I-йододеоксиуридин се измерва чрез 125I-брояч и също се изразява като DPM. В зависимост от използвания подход, инкорпорирането ще бъде изразено като DPM/ третирана група (обединен подход) или DPM/ животно (индивидуален подход).

#### 1.3.3.4 *Наблюдения*

##### 1.3.3.4.1 *Клинични наблюдения*

Животните трябва внимателно да бъдат наблюдавани веднъж дневно за някакви клинични белези, за локално дразнене около мястото на въвеждане или за систематична токсичност. Всички наблюдения систематично се записват с индивидуални архиви, които се поддържат за всяко животно.

##### 1.3.3.4.2 *Телесни тегла*

Както и посочено в точка 1.3.3.1, индивидуалните телесни тегла на животните трябва да бъдат измерени в началото на изследването и при планираното убиване на животните.

#### 1.3.4 **Изчисляване на резултатите**

Резултатите се изразяват като стимулационен индекс (SI). Когато се използва обединеният подход, SI се получава чрез разделяне на общото радиоактивно смесване (инкорпориране) при всяка третирана група на инкорпорирането на обединената с разтворителя контролна група. Така се получава средният SI. Когато се използва индивидуалният подход, SI се получава чрез разделяне на средната DPM/ животно от всяка група, изследвана с изпитваното вещество и от положителната контролна група, на средната DPM/ животно от контролната група с разтворителя/ носителя. Средната стойност на SI за контролите, третирани с разтворител/ носител, тогава е 1. Използването на индивидуален подход за изчисляване на SI ще позволи извършването на статистически анализ на данните. При избора на подходящ метод за статистически анализ, изследователят трябва да обърне внимание на възможни различия или променливост (вариране) и други, свързани с тях проблеми, които могат да наложат трансформация на данните или провеждане на статистически анализ без параметри. Подходящ подход за интерпретиране на данните, е оценяването на всички индивидуални данни от третирането и контролите с разтворителя, и получаване от тях на най-добрата свързваща крива доза-отговор, съобразена с доверителния интервал (8)(12)(13). Въпреки това, изследователят трябва да внимава за възможни рязко отличаващи се от

останалите отговори при животинските индивиди в група, което може да доведе до необходимост от използване на алтернативно оценяване на отговора (напр., по- скоро относителен, отколкото среден) или елиминиране на рязко отличаващите се отговори. Процесът за вземане на решение, свързан с положителен отговор, включва стимулационен индекс  $\geq 3$ , както и взема под внимание зависимостта доза- отговор и, където е подходящо, статистическата значимост (3)(6)(8)(12)(14). Ако е необходимо за изясняване на получените резултати, трябва да бъде обърнато внимание на различните свойства на изпитваното вещество, включително на това, дали то има структурна връзка с познати кожни сенсibiliзатори, дали то причинява изключително кожно дразнене и дали е ясна природата на зависимостта доза- отговор. Тези и други съображения подробно се обсъждат на друго място (7).

## 2. ДАННИ

Данните трябва да бъдат резюмирани в таблична форма, показваща средните и индивидуалните стойности на DPM и стимулационните индекси за всяка група от дози (включително контрол върху разтворителя/ носителя).

## 3. ОТЧИТАНЕ

### 3.1 Протокол от изпитването

Протоколът от изпитването трябва да включва следната информация:

Изпитвано вещество:

- данни за идентичността (напр. CAS номер, ако има, произход, чистота, известните примеси, пореден (lot) номер)
- физична форма и физико-химични свойства (напр. летливост, стабилност, разтворимост);
- ако е смес, състав и относително съотношение (в%) на компонентите;

Разтворител/ носител:

- данни за идентичността (чистота, концентрация (където е подходящо), използван обем);
- обосноваване на избора на разтворител.

Изследвани животни:

- вид на използваните мишки;
- микробиологично състояние на животните, когато е известно;
- произход на животните, условия за отглеждане, диета и т.н.;
- брой, възраст и пол на животните.

Условия на експеримента:

- подробности за формулирането на изпитваното вещество и за прилагането му;
- обосноваване на избора на доза, включително резултати от изследване на обхвата на откриване, ако е проведено; използвани концентрации на изпитваното вещество и разтворителя и общо количество на приложеното вещество
- подробности във връзка с качеството на храната и водата (включително вид/ източник на диетата, водоизточник);

Проверка на достоверността/надеждността:

- резюме на резултатите от най-последната достоверна проверка, включително информация за веществото, концентрация и използван разтворител/ носител.
- съвпадащи и/ или исторически позитивни и негативни контролни данни за лабораторията, провеждаща изследването.

Резултати:

- индивидуални тегла на животните в началото на дозирането и в планираното им (по график) убиване;
- таблица на средните (обединен подход) и индивидуалните (индивидуален подход) стойности на DPM, както и обхватът от стойности при двата подхода и стимулирането, индексирани за всяка група от дози (включително контрол върху разтворителя/ носителя).
- статистически анализи, където е подходящо;

— време на поява на признаци на токсичност, включително кожно дразнене около мястото на администриране, ако има, за всяко животно.

Обсъждане на резултатите:

— Кратък коментар на резултатите, анализ доза-отговор и статистически анализ, където е подходящо, със заключение, дали веществото трябва да бъде разглеждано като кожен сенсibiliзатор.

#### 4. ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА

(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.

16.6.2004 EN Official Journal of the European Union L 216/251

(3) Kimber, I., Hilton, J., Dearman, R.J., Gerberick, G.F., Ryan, C.A., Basketter, D.A., Lea, L., House, R.V., Ladies, G.S., Loveless, S.E., Hastings, K.L. (1998). Assessment of the skin sensitisation potential of topical medicaments using the local lymph node assay: An interlaboratory exercise. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 53, 563-79.

(4) Testing Method B.6.

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

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

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

(8) Van Och, F.M.M, Slob, W., De Jong, W.H., Vandebriel, R.J., Van Loveren, H. (2000). A quantitative method for assessing the sensitising potency of low molecular weight chemicals using a local lymph node assay: employment of a regression method that includes determination of uncertainty margins. *Toxicology*, 146, 49-59.

(9) Dearman, R.J., Hilton, J., Evans, P., Harvey, P., Basketter, D.A. and Kimber, I. (1998). Temporal stability of local lymph node assay responses to hexyl cinnamic aldehyde. *Journal of Applied Toxicology*, 18, 281-4.

(10) National Institute of Environmental Health Sciences (1999). The Murine Local Lymph Node Assay: A Test Method for Assessing the Allergic Contact Dermatitis Potential of Chemicals/Compounds: The Results of an Independent Peer Review Evaluation Coordinated by the Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) and the National Toxicology Program Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICETAM). NIH Publication №: 99- 4494, Research Triangle Park, N.C. (<http://iccvam.niehs.nih.gov>).

(11) Testing method B.4.

(12) Basketter, D.A., Selbie, E., Scholes, E.W. Lees, D. Kimber, I. and Botham, P.A. (1993) Results with OECD recommended positive control sensitizers in the maximisation, Buehler and local lymph node assays. *Food and Chemical Toxicology*, 31, 63-67.

(13) Basketter D.A., Lea L.J., Dickens A., Briggs D., Pate I., Dearman R.J., Kimber I. (1999). A comparison of statistical approaches to the derivation of EC3 values from local lymph node assay dose responses. *J. Appl. Toxicology*, 19, 261-266.

(14) Basketter DA, Blaikie L, Derman RJ, Kimber I, 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.

## **V.43. НЕВРОТОКСИКОЛОГИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ ПРИ ГРИЗАЧИ**

### **1. МЕТОД**

Този метод е еквивалентен на OECD TG 424 (1997).

Този метод е предназначен да предостави информацията, необходима за потвърждаване или допълнително охарактеризиране на потенциалната невротоксичност на химикали при възрастни животни. Той може да бъде комбиниран със съществуващи методи за изпитване, чрез токсикологични изследвания с повтаряща се доза или проведен като самостоятелно изследване. Препоръчва се да бъдат направени консултации с Ръководството на OECD със стратегии и методи за изследване на невротоксичността (1), за да се подпомогне определянето на изследванията, основани на този метод. Това е особено важно, когато се разглеждат модификациите на наблюденията и процедурите за изпитване, както се препоръчва при рутинно прилагане на този метод. Ръководството е изготвено, за да подпомогне избора на други процедури за изследване, които се използват при определени обстоятелства. Оценката на развитието на невротоксичността не е обект на този метод.

#### **1.1. ВЪВЕДЕНИЕ**

При извършването на междинна и окончателна оценка на токсикологичните характеристики на химикала, е важно да се разгледа потенциалната възможност за невротоксични ефекти. Методът за систематични изследвания при повтарящи се дози вече включва наблюдения, които прикриват потенциалната невротоксичност. Този метод за изпитване може да се използва за определяне на изследване за получаване на допълнителна информация за или която потвърждава невротоксичните ефекти, наблюдавани при систематичните токсикологичните изследвания с повтаряща се доза. Въпреки това, разглеждането на потенциалната невротоксичност в определени класове химикали може да предложи за подходящо оценяването чрез използването на метод, без предварителни индикации за потенциална невротоксичност от токсикологичните изследвания при повтаряща се доза. Такова разглеждане включва, например:

- наблюдение на неврологичните признаци или невропатологичните увреждания от токсикологични изследвания, различни от систематичните изследвания с повтаряща се доза, или
- структурна връзка или друга информация, която ги свързва с известни невротоксични вещества.

В допълнение, може да има други случаи, при които използването на този метод да е подходящо; за повече подробности виж (1).

Този метод е разработен, така че да може да бъде приспособен да посрещне особените нужди от потвърждаване на специфичната хистопатологична и мотивационна невропатология на химикала, както и да осигури охарактеризиране и окачествяване на невротоксичните отговори.

В миналото, невротоксикологията е била приравнявана с невропатията, включваща невропатологични увреждания или неврологични дисфункции, такива като припадъци, парализи или треперене. Освен това невропатията е важен израз на невротоксикологията. Сега е ясно, че има много други признаци за токсичност на нервната система (напр. загуба на двигателна координация, сензорен дефицит, дисфункции при заучаване и запаметяване), които не биха могли да се отразят на невропатията или други видове изследвания. Този невротоксикологичен метод за изследване е предназначен за откриване на големи (основни) невроповеденчески и невропатологични ефекти при възрастни гризачи. Докато поведенческите ефекти, дори при отсъствие на морфологични изменения, могат да окажат вредно въздействие върху организма, не всички промени в поведението са характерни за нервната система. Поради това, всички наблюдавани изменения трябва да бъдат оценявани

във връзка с корелативните хистопатологични, хематологични или биохимични данни, както и данни от други видове токсичност, засягаща целия организъм. Изследването, за което се говори в този метод, целящ да осигури възможност за охарактеризиране и количествено определяне на невротоксичните отговори, включва специфични хистопатологични и поведенчески процедури, които биха могли допълнително да бъдат подпомогнати чрез електрофизиологични и/или биохимични изследвания (1)(2)(3)(4). Невротоксикантите могат да въздействуват върху броя на елементите в рамките на нервната система и чрез разнообразни механизми. Тъй като невротоксичният потенциал на всички вещества може да бъде оценен чрез провеждането на неголям брой изследвания, може да се наложи да се използват други *in vivo* или *in vitro* изследвания, които се специфични за вида наблюдавана или очаквана невротоксичност. Този метод за изследване може също да бъде използван във връзка с насоката, посочена в Ръководството на OECD за стратегии и методи за изследване на невротоксичността (1) за планиране на изследванията, които се провеждат, за да се охарактеризира в бъдещето или да се повиши чувствителността при последователното количествено определяне доза-отговор, или за по-доброто оценяване на нивото, при което не се наблюдава вреден ефект, или за потвърждаване на известните или допусканите опасни свойства на химикала. Например изследванията може да имат за цел идентифицирането и оценяването на невротоксичния(ите) механизъм(и) или допълването на вече известна данни, получени при използването на основните невроповеденчески и невропатологични процедури за наблюдения. Не е нужно да се повтарят такива изследвания, данните от които могат да бъдат събрани при прилагане на стандартните процедури, препоръчвани в този метод, ако тези данни са вече налични и ако това не се счита за необходимо при интерпретиране на резултатите от изследването.

Това невротоксикологично изследване, когато се използва самостоятелно или в комбинация, осигурява информация, която:

— позволява да се определи, дали нервната система е постоянно или обратимо повлияна от изпитвания химикал;

— допринася за охарактеризирането на измененията в нервната система, свързани с експозицията на химикала и за разбиране на основния механизъм.

— позволява да се определи връзката между дозата, времето и отговора, за да се оцени нивото, при което не се наблюдават вредни ефекти (което може да бъде използвано за установяване на критериите за безопасност за химикала).

При този метод за изследване изпитваното вещество се въвежда перорално. Възможно е други пътища на постъпване (напр. дермален или инхалаторен) да бъдат по-подходящи, и е възможно да бъде изискано модифициране на препоръчваните процедури. Изборът на път на постъпване се съобразява, в зависимост от профила на експозицията на човека и наличната токсикологична или кинетична информация.

## 1.2 ОПРЕДЕЛЕНИЯ

**Вреден ефект:** е всяко свързано с третирането изменение спрямо първоначалното състояние, в резултат на което се повлиява на жизнеспособността на организма, неговата репродуктивност или способността му да се адаптира към условията на околната среда.

**Доза:** е количеството прието изпитвано вещество. Дозата се изразява като маса (g, mg) или като маса на изпитваното вещество за единица тегло на изследваното животно (напр. mg/kg), или като постоянни хранителни концентрации (ppm).

**Дозирание:** е общия период, свързан с дозата, честотата на прием и продължителността на дозиране.

**Невротоксичност:** е вредно изменение в структурата или функционирането на нервната система, в резултат от експозиция с химичен, биологичен или физичен агент.

**Невротоксикант:** е химичен, биологичен или физичен агент, способен да причини невротоксичност.

**NOAEL:** е абривиатурата на ниво, при което не се наблюдава вреден (неблагоприятен) ефект и представлява най-високото ниво на дозата, при която не се наблюдават находки (неблагоприятни промени), свързани с вредно въздействие.

### 1.3 ПРИНЦИП НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

Изпитваният химикал се приема по орален път на постъпване в обхвата на дози, приемани от няколко групи лабораторни гризачи. Нормално се прилагат повтарящи се дози и режима на дозиране може да бъде 28 дни, субхроничен (90 дни) или хроничен (1 година или по-дълъг период). Процедурата, представена в този метод, също може да бъде използвана за изследване на остра невротоксичност. Животните се изследват, за да се открият или да се охарактеризират поведенческите и/или неврологичните аномалии. Обхватът, в който може да бъде предизвикана реакция при въздействие от страна на невротоксикантите, се оценява през всеки един период на наблюдение. В края на експеримента, подгрупа от животните от всеки пол, във всяка група, се перфузират *in situ* и секторите на главния мозък, гръбначния мозък и периферните нерви се подготвят и изпитват. Когато изследването се провежда като самостоятелно изследване за проучване на невротоксичността или за охарактеризиране на невротоксичните ефекти, животните във всяка група, която не се използва за перфузия и последваща хистопатология (виж Таблица 1), могат да бъдат използвани за провеждане на определени невроповеденчески, невропатологични, неврохимични или електрофизиологични процедури, които могат да допълнят данните, получени при стандартните експерименти, чието провеждане се изисква от този метод (1). Тези допълнителни процедури могат да бъдат особено полезни, когато има емпирични наблюдения или се очакват ефекти, индикиращи за специфичен вид или група невротоксичност, предизвикана от химикала. Алтернативно, останалите животни могат да бъдат използвани за други оценки, такива като тези, посочени в методите за изпитване чрез токсикологични изследвания с повтарящи се дози при плъхове. Когато процедурите на този метод за изследване се комбинират с тези на други методи за изследване, е необходимо да има достатъчен брой животни, за да се удовлетворят изискванията за наблюдения и на двете изследвания.

### 1.4 ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА ИЗСЛЕДВАНЕ

#### 1.4.1 Избор на животински видове

Предпочитаният вид от групата на гризачите е плъх, въпреки че след обосноваване, и други видове гризачи могат да бъдат използвани. Обикновено при лабораторните опити се използват млади възрастни здрави животни. Женските индивиди трябва да не са раждали и да не са бременни. Дозирането нормално трябва да започне, колкото е възможно по-скоро след отбиването им, но за предпочитане, не по-късно от периода, когато животните са на шест седмици, и преди животните да станат на възраст девет седмици. Обаче, когато това изследване се комбинира с други изследвания, това възрастово изискване се нуждае от обосноваване. В началото на изследването, вариациите в теглото на използваните животни трябва да не надвишават  $\pm 20\%$  от средното тегло за всеки пол. Когато се провежда, за кратък период от време, изследване с повтаряща се доза като предшествуващо дългосрочно изследване, и при двете изследвания трябва да бъдат използвани животни от една и съща порода и от един и същ вид.

#### 1.4.2 Условия за отглеждане и хранене

Температурата в стаята на опитните животни трябва да бъде 22 °C ( $\pm 3$  °C). Въпреки че относителната влажност трябва да бъде поне 30% и е препоръчително тя да не надвишава 70% в друг момент, освен при почистване на стаята, трябва да се цели да се постигне 50-60% относителна влажност. Светлината трябва да бъде изкуствена, с последващи 12 часа светъл период, 12 часа тъмен период. Като минимум трябва да се не се вдига рязък и силен шум. За хранене могат да бъдат използвани конвенционалните лабораторни диети с неограничен достъп до питейна вода. Изборът на диета може да бъде повлиян от нуждата да се осигури

подходящо смесване на изпитваното вещество, след приемането му по този метод. Животните могат да бъдат настанени в клетките индивидуално или на малки групи от един и същ пол.

#### **1.4.3 Подготовка на животните**

Здрави, млади животни са произволно отделени в контролни групи и групи, на които ще се въздейства. Клетките трябва да бъдат подредени по такъв начин, че възможните ефекти, в резултат на местоположението на клетката, да бъдат сведени до минимум. Животните индивидуално се идентифицират и се оставят в клетките си поне (5) пет дни преди започване на изследването, за да се аклиматизират към лабораторните условия.

#### **1.4.4 Път на администриране и подготовка на дозите**

При този метод за изследване конкретно се използва орален път на постъпване на изпитваното вещество. Оралният прием може да бъде осъществен чрез принудително хранене, посредством диета, чрез питейната вода или чрез капсули. Други пътища на администриране (напр. кожен или инхалаторен път на постъпване) също могат да бъдат използвани, но може да се изиска модифициране на препоръчаните процедури. Изборът на подходящия път на постъпване се съобразява в зависимост от профила на експозицията на човека и наличната токсикологична или кинетична информация. Трябва да се посочат съображенията за избора на съответния път на постъпване, както и резултатите от модификациите на процедурите на този метод за изпитване.

Когато е необходимо, изпитваното вещество може да бъде разтворено в подходящ разтворител. Препоръчва се, да бъде обмислена първо възможността за използване на воден разтвор/ суспензия, после- възможността за използване на разтвор/ суспензия в масло (напр. царевично масло) и едва след това- възможността за използване на разтвор/ суспензия в други разтворители. Трябва да бъдат известни токсичните характеристики на разтворителя. В допълнение, трябва да бъдат дадени следните характеристики на разтворителя: влияние на разтворителя върху абсорбцията, разпределението, метаболизма или задържането на изпитваното вещество, което може да промени токсичните си характеристики; и ефектите върху консумирането на храна или вода, или хранителното/ питателното състояние на животните.

### **1.5 ПРОЦЕДУРИ**

#### **1.5.1 Брой и пол на животните**

Когато изследването се провежда като самостоятелно изследване, трябва да бъдат използвани поне 20 животни (10 от женски пол и 10 от мъжки пол) за всяка доза и контролна група при оценяването на подробните клинични и функционални наблюдения. Най- малко пет животни от мъжки пол и пет животни от женски пол трябва да бъдат подложени на перфузия *in situ* и използвани за снемане на подробна неврохистопатология в края на изследването. В случаите, при които се наблюдава за признаци на невротоксични ефекти само група от ограничен брой животни, при дадена доза, трябва да бъде обърнато внимание на включването на тези животни в онези групи, избрани за перфузия. Когато изследването се провежда в комбинация с изследване за токсичност с повтарящи се дози, трябва да бъдат използвани подходящ брой животни, за да се постигнат целите и на двете изследвания. Минималният брой животни в група при различните комбинации от изследвания са представени в таблица 1. Ако се планира убиване или наблюдение на обратимостта, продължаването или забавеното появяване на токсични ефекти след третирането при възстановяващи се групи или когато се отчитат допълнителни наблюдения, тогава броят на животните трябва да бъде увеличен, за да бъде сигурно, че необходимият брой животни за наблюдения и хистопатология е в наличност.

#### **1.5.2 Третиранни и контролни групи**

Обикновено се използват групи, третирани с най- малко три дози и контролна група, но ако от оценката на други данни се установи, че не трябва да се очакват ефекти при повтаряща се доза от 1 000 mg/ kg телесно тегло/ ден, може да бъде проведено ограничено изследване. Ако няма подходящи налични данни, може да бъде проведено изследване за намиране на обхвата, с което да се подпомогне определянето на дозите, които ще бъдат използвани. С изключение на третиране с изпитваното вещество, животните в контролната група трябва да бъдат отглеждани по идентичен начин на този, при животните от третираната група. Ако се използва разтворител при администриране на изпитваното вещество, контролната група трябва да приеме количество, равняващо се на най- високия използван обем на разтворителя.

### **1.5.3 Проверка за достоверност**

Лабораторията, провеждаща изследването, трябва да представи данни, удостоверяващи способността ѝ да извърши изследването и чувствителността на използваната процедура. Тези данни трябва да осигуряват доказателство за способността за откриване и количествено определяне, където е подходящо, на промените в различните крайни точки, препоръчвани за наблюдение, такива като автономни признаци, сензорни реакции, силно схващане на крайниците и двигателна активност. Информация за химикалите, които причиняват различни видове невротоксични отговори и които могат да бъдат използвани като вещества за позитивен контрол, може да бъде намерена в препратки от 2 до 9. Могат да бъдат използвани исторически данни, ако съществените аспекти на експерименталните процедури остават едни и същи. Препоръчва се периодично актуализиране на историческите данни. Трябва да бъдат получени нови данни, демонстриращи непрекъснатата/ непроменената чувствителност на процедурите, когато някои важни елементи при провеждането на изследването или процедурите, са били променени от изпитващата лаборатория.

### **1.5.4 Избор на доза**

Нивата на дозите трябва да бъдат избрани като се вземат предвид всякакви предварително налични данни за наблюдаваните токсичност и кинетика при изпитваното съединение или свързани с него материали. Нивото на най- високата доза трябва да бъде избрано с цел да се предизвикат невротоксични ефекти или ясни системни токсични ефекти. Следователно, намаляващата поредица от нива на дозите трябва да бъде избрана с оглед на получаване на някакъв, предизвикан от дозата, отговор и липсата на наблюдаван вреден ефект (NOAEL) при най- ниското ниво на дозата. По принцип, нивата на дозите трябва да бъдат определени, така че началните токсични ефекти върху нервната система, да могат да бъдат разграничени от ефектите, свързани със засягащата целия организъм токсичност. Два до три интервала често са достатъчни (оптимум) и добавянето на четвърта група за изпитване често е за предпочитане при използването на много големи интервали (напр. повече от фактор 10) между дозите. Където е възможно, трябва да се има предвид, че трябва да се направи разумна (приемлива) оценка на експозицията върху хората.

### **1.5.5 Ограничено изследване**

Ако изследването при еднократно ниво на доза от най- малко 1 000 mg/ kg телесно тегло/ ден, което използва описаната процедура, не предизвиква видими невротоксични ефекти и ако не би трябвало да се очаква токсичност, въз основа на данни от структурно- свързани (структурно- подобни) съединения, тогава може да не е необходимо провеждането на пълното изследване, използващо три нива на дозите. Очакваната експозиция върху хората може да индикира необходимостта при ограниченото изследване да бъде използвано по- високо ниво на дозиране чрез орален прием. При други пътища на администриране, такива като инхалация или дермално прилагане, често физико-химичните свойства на изпитваното вещество може да наложат максималното достижимо ниво на експозицията. За провеждането



на изследване за остра орална токсичност, дозата за ограничено изследване трябва да бъде поне 2 000 mg/ kg.

### 1.5.6 Прием на дозите

Животните се дозират с изпитваното вещество ежедневно, в продължение на седем дни, всяка седмица, за период най-малко от 28 дни; използването на петдневен режим на дозиране или на по- кратък период на експозиция, е необходимо да бъде обосновано. Когато изпитваното вещество се приема чрез принудително хранене, това трябва да се прави с еднократна доза, посредством стомашна тръба или подходяща интубационна канюла. Максималният обем течност, който може да бъде администриран на един прием, зависи от размера на изследваното животно. Обемът не трябва да надвишава 1 ml/ 100 g телесно тегло. В случай на водни разтвори обаче, може да бъде обмислена евентуалното използване на количество до 2 ml/ 100 g телесно тегло. С изключение на дразнещи или корозивни вещества, които обикновено показват изострени дразнещи ефекти при по- високи концентрации, варирането (променливостта) в изпитвания обем трябва да бъде минимизирано чрез регулиране на концентрацията, за осигуряване на постоянен обем при всички нива на дозите. За вещества, приемани чрез диетата или питейната вода, е важно да се удостовери, че включените в тях количества на изпитваното вещество, не оказват влияние върху нормалното хранене или водния баланс. Когато изпитваното вещество се приема в диетата, могат да бъдат използвани постоянната диетична концентрация (ppm) или постоянно ниво на дозата спрямо телесното тегло на животното; трябва да бъде определена и алтернатива за използване. За вещество, администрирано чрез принудително хранене, дозата трябва да бъде давана по подобни начини ежедневно, и регулирана при необходимост за поддържане или постоянно ниво на дозата спрямо телесното тегло на животното. Когато се използва изследване с повтаряща се доза като предшестващо (предварително) дългосрочно изследване, и при двете изследвания трябва да бъде използвана подобна диета. При изследване за остра токсичност, не е възможно еднократно дозиране, дозата може да бъде давана на малки порции (фракции, части) в продължение на период, който не надвишава 24 часа.

## 1.6 НАБЛЮДЕНИЯ

### 1.6.1 Честота на наблюденията и изследванията

При изследвания с повтарящи се дози, периодът на наблюдения трябва да покрива периода на дозиране. При изследване за остра токсичност, наблюдения трябва да се извършат в 14-дневния период, след третирането. При животни от сателитните (съпътстващите) групи, които не са подложени на експозиция през периода след третирането, наблюденията трябва да покриват същия този период. Наблюденията трябва да бъдат правени достатъчно често, за да се увеличи в максимална степен вероятността за откриване на някакви поведенчески и/или неврологични аномалии. За предпочитане е наблюденията да бъдат правени по едно и също време всеки ден, като се обърне внимание на максималния период за очаквани ефекти след дозирането. Честотата на клиничните наблюдения и функционалните изследвания е резюмирана в таблица 2. Ако кинетични или други данни, събрани от предишни изследвания, показват необходимост от използване на различни времеви моменти за наблюдения, изследвания или периодите след наблюдение, трябва да бъде приет алтернативен график, за да се получи в максимална степен информация. Трябва да се обмисли и обосновка на промените в графика.

#### 1.6.1.1 Наблюдения върху общото здравословно състояние и смъртност/заболеваемост

Всички животни трябва да бъдат внимателно наблюдавани най- малко веднъж на ден, във връзка с тяхното здравословно състояние, както и най- малко два пъти дневно, в случай на заболяване или смърт.

### 1.6.1.2 *Подробни клинични наблюдения*

Подробни клинични наблюдения трябва да бъдат правени върху всички, избрани за тази цел, животни (виж таблица 1), веднъж преди първата експозиция (за да са възможни сравнения в тази връзка) и на различни интервали от време след това, в зависимост от продължителността на изследването (виж Таблица 2). Подробни клинични наблюдения върху сателитни (съпътстващи) възстановяващи се групи трябва да бъдат направени в края на възстановителния период. Подробните клинични наблюдения трябва да бъдат направени извън домашната клетка на стандартна арена. Те трябва внимателно да бъдат записани чрез използване на голям брой системи, които включват критерии или голям брой мащаби за всяко измерване при наблюденията. Използуваните критерии или мащаби трябва да бъдат ясно (категорично) определени от изпитвателната лаборатория. Трябва да бъде направено усилие да се осигури минимално вариране в условията за изследване (несистематично свързани с третирането) и тези наблюдения да се провеждат от обучени наблюдатели, които не са запознати с действителното третиране. Препоръчва се наблюденията да бъдат провеждани по структуриран начин, в който систематично се прилагат добре дефинирани критерии (включително дефиницията на понятието “обхват”) при всяко животно за всяко време на наблюдение. “Нормалният обхват” трябва да бъде адекватно документиран. Всички наблюдавани признаци трябва да бъдат записани. Когато е възможно, големината (размерът) на наблюдаваните признаци също трябва да бъде записана. Клиничните наблюдения трябва да включват, но без да се ограничават до, изменения в кожа, козина, очи, лигавици, поява на секрета и екскрета и автономна дейност (напр. лакримация, пилоерекция, размер на зениците, необичайни респираторни модели и/ или дишане през устата, някакви необичайни признаци на уриниране и дефекация, и обезцветена урина). Всякакви необичайни отговори, свързани с положение на тялото, ниво на активност (напр. понижено или повишено проучване на стандартна арена) и координация на движенията трябва да бъдат отбелязани. Промените в походката (напр., клатушкаща се “патешка” походка, атаксия), позата (напр., претърбване) и реактивността при отглеждане, поведение или други стимули на околната среда, както и наличието на клонични или тонични (ободряващи) движения, конвулсии или тремори, стереотипи (напр. прекомерно чесане, необичайни движения на главата, серийни (стандартни) цикли) или bizarre поведение (напр., хапене или прекомерно облизване, самоосакатяване, вървеж в обратна посока (на заден ход), произнасяне) или агресивност трябва да бъдат записани.

### 1.6.1.3 *Функционални изследвания*

По подобие на подробните клинични наблюдения, функционалните изследвания също трябва да бъдат проведени веднъж преди експозицията и често след това при всички, избрани за тази цел, животни (виж таблица 1). Честотата на функционалното изследване също зависи от продължителността на експеримента (виж таблица 2). В допълнение към периодите на наблюдение, посочени в таблица 2, трябва да бъдат направени функционални наблюдения върху сателитните възстановяващи се групи, колкото е възможно по- близо, до момента на убиването при завършване на изследването. Функционалните изследвания трябва да включват сензорна реактивност към стимули от различен вид (модалност) [напр. слухови, визуални и рецепторни стимули (5)(6)(7)], оценка на силата на схващане на крайниците (8) и оценка на двигателната активност (9). Двигателната активност трябва да бъде измерена с автоматичен уред, способен да улови и пониженията, и повишенията в активността. Ако се използва друга определена система, тя трябва да бъде количествено определена и нейната чувствителност и надеждност трябва да бъде демонстрирана. Всеки уред трябва да бъде проверен, за да се осигури надеждност през време на и при съвместимост между уредите. Повече подробности за процедурите, които трябва да бъдат следвани, са дадени в съответните препратки. Ако няма данни (напр. Структура - активност, епидемиологични данни, други токсикологични изследвания), които да индикират потенциалните

невротоксични ефекти, трябва да бъде обмислено включването на по-специализирани изследвания на сензорната и двигателната функция или научаване и запаметяване, за по-подробно изследване на тези възможни ефекти. Повече информация за по-специализираните изследвания и тяхното използване е представена в (1). По изключение, животните, които проявяват признаци на токсичност в степен, която значително би повлияла на функционалното изследване, могат да бъдат извадени от това изследване. Трябва да бъде представено обяснение (да се обоснове) елиминирането на животните от функционалното изследване.

#### **1.6.2 Телесно тегло и консумация на храна/ вода**

При изследвания с продължителност до 90 дни, всички животни трябва да бъдат претегляни поне веднъж на седмица и трябва да бъдат правени най-малко ежеседмични измервания на консумацията на храна (консумацията на вода, когато изпитваното вещество се администрира чрез такава среда). При дългосрочни изследвания, всички животни трябва да бъдат претегляни поне веднъж седмично, в продължение на първите 13 седмици и най-малко веднъж на всеки четири седмици след това. Трябва да бъдат правени измервания и на консумацията на храна (консумацията на вода, когато изпитваното вещество се администрира чрез такава среда) поне веднъж седмично, в продължение на първите 13 седмици и след това на приблизителни тримесечни интервали, освен ако промени в здравословното състояние или в телесното тегло не налагат нещо друго.

#### **1.6.3 Офталмология**

При изследвания, по-дълги от 28 дни, офталмологичното изследване, използващо офталмоскоп или подходящ еквивалентен инструмент, трябва да бъде проведено преди администрирането на изпитваното вещество и при завършване на изследването, за предпочитане при всички животни, или поне при животните, при които се прилага високата доза и при тези от контролните групи. Ако се открият изменения в очите или ако клинични признаци покажат такава необходимост, всички животни трябва да бъдат изследвани. При дългосрочни (продължителни) изследвания, офталмологичното изследване трябва също да бъде провеждано в продължение на 13 седмици. Не е необходимо провеждането на офталмологични изследвания, ако вече има такива данни от други изследвания с подобна продължителност и при подобни нива на дозите.

#### **1.6.4 Хематология и клинична биохимия**

Когато невротоксичното изследване се провежда в комбинация със систематично токсикологично изследване с повтарящи се дози, трябва да бъдат проведени хематологични изследвания и клиничните биохимични определяния, както е посочено в съответния метод за систематично токсикологично изследване. Изборът на образци трябва да бъде направен по такъв начин, че всякакви потенциални ефекти за неврологичното поведение да са минимизирани.

#### **1.6.5 Хистопатология**

Невропатологичното изследване е предназначено за допълване и разширяване на наблюденията, правени по време на *in vivo* фазата на изследването. Тъкани от поне 5 животни/ пол/ група (виж Таблица 1 и следващия параграф) трябва да бъдат фиксирани *in situ*, чрез използване на общопознати перфузионни и фиксиращи техники (виж препратка 3, глава 5 и препратка 4, глава 50). Всички наблюдавани цялостни промени трябва да бъдат записани.

Когато изследването се провежда като самостоятелно изследване за провеждане на скрининг (наблюдение) за невротоксичност или за охарактеризиране на невротоксичните ефекти, могат останалите части от животните да бъде използвани и за специфични невроповеденчески (10)(11), невропатологични (10)(11)(12)(13), неврохимични

(10)(11)(14)(15) или електрофизиологични (10)(11)(16)(17) процедури, които могат да подпомогнат процедурите и изследванията, описани тук, или да повишат броя на изследваните обекти от хистопатологията. Тези спомагателни процедури са от особено значение, когато емпирични наблюдения или очаквани ефекти индикират за специфичен вид или група невротоксичност (2)(3). Алтернативно, останалите части от животните могат също да бъде използвани за рутинни патологични оценки, както е описано в метода за изследвания с повтаряща се доза. Трябва да бъде изпълнена цялостно оцветяваща процедура, такава като хематоксилин и еозин (H&E), върху всички тъканни екземпляри (проби), поставени в парафин и трябва да бъде проведено микроскопско изследване. Ако се допускат или се наблюдават признаци на периферна невропатия, трябва да бъдат изследвани пластично поставени проби от периферна нервна тъкан. Клиничните признаци също могат да предложат допълнителни места за изследване или използване на специални оцветяващи процедури. Насока за определянето на допълнителни места, които да бъдат изследвани, може да бъде намерена в (3)(4). Специални подходящи оцветители за демонстриране на определени видове патологични промени могат също да бъдат от полза (18). Хистологично трябва да бъдат изследвани представителни сектори (части) от централната и периферната нервна система (виж препратка 3, глава 5 и препратка 4, глава 50). Изследваните зони обикновено включват: предния мозък, центъра на главния мозък, включително сектора през хипокампуса, средния мозък, малкия мозък, продълговатия мозък, окото с оптичния нерв и ретина, лимфния възел при цервикална и лумбарна отоци (подутини), гръбначните коренови ганглии, гръбначните и коремните коренови влакна (нишки), разположения близо до средата на тялото седалищен нерв, разположения близо до средата на тялото тибиален нерв (при коляното) и мускулните разклонения при тибиаляния нерв на прасеца. Секторите от лимфния възел и периферните нерви трябва да включват едновременно кръстосани или напречни и надлъжни сектори. Трябва да бъде обърнато внимание на васкулатурата на нервната система. Проба от скелетен мускул, особено мускула на прасеца, трябва също да бъде изследвана. Специално внимание трябва да бъде отделено на местата с клетъчна и нишковидна структура и известните модели в CNS и PNS, които ще бъдат особено повлияни от невротоксикантите. Насока за невропатологичните алтернативи, които обикновено произтичат от експозиция на токсичен агент, може да бъде намерена в препратки (3)(4). Препоръчва се да се проведе поетапно изследване на тъканни проби, при което сектори от групата, дозирана с висока доза, първо се сравняват с тези от контролната група. Ако не се наблюдават невропатологични изменения в пробите от тези групи, не се изискват следващи анализи. Ако се наблюдават невропатологични изменения в групата с по-висока доза, трябва да бъде взета проба от всяка от потенциално повлияните тъкани от групите със средна и ниска дози, и в следствие да бъдат кодирани и изследвани. Ако бъде открито някакво доказателство за невропатологични изменения при количественото определяне, тогава трябва да бъде проведено второ изследване за всички области от нервната система, показващи такива изменения. Сектори от всички дозирани групи от всяка от потенциално повлияните области, трябва да бъдат кодирани и изследвани произволно без познания (без да е известен) за кода. Честотата и тежестта на всяко поражение трябва да бъдат записани. След като бъдат оценени всички области от всички дозирани групи, кодът може да бъде разкрит и да бъде проведен статистически анализ за оценяване на зависимостта доза - отговор. Трябва да бъдат описани примери за различните степени на тежест при всеко поражение. Невропатологичните находки трябва да бъдат оценени в контекста на наблюденията и измерванията върху поведението, както и от други данни от предишни и паралелни изследвания за токсичността за целия организъм от изпитваното вещество.

## **2. ДАННИ**

### **2.1 ОБРАБОТВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ**

Трябва да бъдат осигурени индивидуални данни. В допълнение, всички данни трябва да бъдат резюмирани в таблична форма, която да показва при всяко изследване или контролна

група, броя на животните в началото на изследването, броя на животните, намерени мъртви по време на изследването или убити по хуманни съображения, брой на появилите се признаци на токсичност, описание на наблюдаваните признаци на токсичност, включително време на появата им, продължителност, вид и тежест на всеки от токсичните ефекти, брой на животните, показващи поражения, включително вид и тежест на поражението(ята).

## 2.2 ОЦЕНКА И ИНТЕРПРЕТИРАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Находките от изследването трябва да бъдат оценени по отношение на разпространение, тежест и корелация на невроповеденчески и невропатологическите ефекти (неврохимични или електрофизиологични ефекти, както и ако са били включени допълнителни изследвания) и на всички други наблюдавани вредни ефекти. Когато е възможно, трябва да се оценят получените числени резултати, чрез използване на подходящ и общоприет статистически метод. Статистическите методи трябва да бъдат избрани при планирането (проектирането) на изследването.

## 3. ОТЧИТАНЕ

### 3.1 Протокол от изпитването

Протоколът от изпитването трябва да включва следната информация:

Изпитвано вещество:

- физична природа (включително изомеризация, чистота и физикохимични свойства);
- данни за идентичността.

Разтворител (ако има такъв):

- обосноваване на избора на разтворител, ако е различен от вода.

Изследвани животни:

- използвани видове/породи;
- брой, възраст и пол на животните;
- водоизточник, условия за отглеждане, аклиматизация, диета и т.н.;
- индивидуално тегло на животното в началото на изследването;

Условия на изследването:

- подробности за формулирането на изпитваното вещество/приготвянето на диетата, постигната концентрация, стабилност и хомогенност на препарата;
- определяне на администрираните дози, включително подробности за разтворителя, обема и физичната форма на приемания материал;
- подробности за администрирането на изпитваното вещество;
- обосноваване на избраните нива на дозата;
- обосноваване на пътя на постъпване и продължителността на експозицията;
- конверсия от диета/питейна вода с концентрация на изпитваното вещество (ppm) към активна доза (mg/kg телесно тегло/ден), ако е приложимо;
- подробности за качеството на храната и водата.

Наблюдения и процедури за изследване:

- подробности за отнасянето на животните от всяка група към перфузионните подгрупи;
- подробности за точковите системи за оценяване, включително критерии и точкови мащаби за всяко измерване при подробните клинични наблюдения;
- подробности за функционалните изследвания на сензорната реактивност, за стимулиране на различни модалности (напр. слухови, визуални и рецепторни); за оценка на издръжливостта при контролиране на крайниците; за оценка на двигателната активност (включително подробности за автоматизираните устройства за определяне на активността); и други използвани процедури;
- подробности от офталмологичните изследвания и, където е подходящо хематологичните изследвания и клиничните биохимични изследвания със съответните стойности на базовата линия;

— подробности за специфичните невроповеденчески, невропатологични, неврохимични или електрофизиологични процедури.

Резултати:

— телесно тегло/ промени в телесното тегло, включително на телесното тегло при убиването;

— консумация на храна и консумация на вода, където е подходящо;

— данни за токсичен отговор по пол и ниво на дозата, включително признаци на токсичност или смърт;

— вид, острота и продължителност (начално време и следващ курс) на подробните клинични наблюдения (дали са обратими или не);

— подробно описание на всички функционални резултати от изследването;

— находки при аутопсията;

— подробно описание на всички невроповеденчески, невропатологични и неврохимични или електрофизиологични находки, ако има такива;

— данни за абсорбцията и метаболизма, ако има такива;

— статистическа обработка на резултатите, ако е подходящо.

Обсъждане на резултатите;

— информация за дозата, при която има отговор;

— връзка на някои други токсични ефекти със заключението за невротоксичния потенциал на изпитваното вещество;

— ниво, при което не се наблюдава вреден ефект.

Заключения:

— препоръчва се да се представи специфично изявление относно цялостната невротоксикология на изпитваното вещество.

#### 4. ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА

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

(5) Tupper, D.E. and Wallace, R.B. (1980). Utility of the Neurological Examination in Rats. *Acta Neurobiol. Exp.*, 40, 999-1003.

(6) Gad, S.C. (1982). A Neuromuscular Screen for Use in Industrial Toxicology. *J. Toxicol. Environ. Health*, 9, 691-704.

(7) Moser, V.C., McDaniel, K.M. and Phillips, P.M. (1991). Rat Strain and Stock Comparisons Using a Functional Observational Battery: Baseline Values and Effects of amitraz. *Toxic. Appl. Pharmacol.*, 108, 267-283.

(8) Meyer, O.A., Tilson, H.A., Byrd, W.C. and Riley, M.T. (1979). A Method for the Routine Assessment of Fore - and Hind- limb Grip Strength of Rats and Mice. *Neurobehav. Toxicol.*, 1, 233-236.

(9) Crofton, K.M., Haward, J.L., Moser, V.C., Gill, M.W., Reirer, L.W., Tilson, H.A. and MacPhail, R.C. (1991) Interlaboratory Comparison of Motor Activity Experiments: Implication for Neurotoxicological Assessments. *Neurotoxicol. Teratol.*, 13, 599-609.

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

(11) Chang, L.W., ed. (1995). Principles of Neurotoxicology. Marcel Dekker, New York.

- (12) Broxup, B. (1991). Neuopathology as a screen for Neurotoxicity Assessment. J. Amer. Coll. Toxicol., 10, 689-695.
- (13) Moser, V.C., Anthony, D.C., Sette, W.F. and MacPhail, R.C. (1992). Comparison of Subchronic Neurotoxicity of 2-Hydroxyethyl Acrylate and Acrylamide in Rats. Fund. Appl. Toxicol., 18, 343-352.
- (14) O'Callaghan, J.P. (1988). Neurotypic and Gliotypic Proteins as Biochemical Markers of Neurotoxicity. Eurotoxicol. Teratol., 10, 445-452.
- (15) O'Callaghan J.P. and Miller, D.B. (1988). Acute Exposure of the Neonatal Rat to Triethyltin Results in Persistent Changes in Neurotypic and Gliotypic Proteins. J. Pharmacol. Exp. Ther., 244, 368-378.
- (16) Fox, D.A., Lowndes, H.E. and Birkamper, G.G. (1982). Electrophysiological Techniques in Neurotoxicology. In: Nervous System Toxicology. Mitchell, C.L. ed. Raven Press, New York, pp 299- 335.
- (17) Johnson, B.L. (1980). Electrophysiological Methods in neurotoxicity Testing. In: Experimental and Clinical Neurotoxicology. Spencer, P.S. and Schaumburg, H.H. eds., Williams and Wilkins Co., Baltimore/London, pp. 726-742.
- (18) Bancroft, J.D. and Steven A. (1990). Theory and Praticce of Histological Techniques. Chapter 17, Neuropathological Techniques. Lowe, James and Cox, Gordon eds. Churchill Livingstone.

**Таблица 1**

**Минимален брой животни в група, когато невротоксикологично изследване се провежда отделно или комбинирано с други изследвания**

	НЕВРОТОКСИКОЛОГИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ, ПРОВЕДЕНО КАТО :			
	Отделно изследване	Комбинирано изследване с 28-дневно изследване	Комбинирано изследване с 90-дневно изследване	Комбинирано изследване с изследване за хронична токсичност
Общ брой животни в група	10 мъжки и 10 женски	10 мъжки и 10 женски	15 мъжки и 15 женски	25 мъжки и 25 женски
Брой на животните, избрани за функционално изследване, включващо подробни клинични наблюдения	10 мъжки и 10 женски	10 мъжки и 10 женски	10 мъжки и 10 женски	10 мъжки и 10 женски
Брой на животните, избрани за перфузия <i>in situ</i> и за неврохистопатология	5 мъжки и 5 женски	5 мъжки и 5 женски	5 мъжки и 5 женски	5 мъжки и 5 женски
Брой на животните, избрани за наблюдения при повтарящи се дози/ субхронична/хронична токсичност, хематология, клинична биохимия, хистопатология и други, като е указано в съответните Ръководства		5 мъжки и 5 женски	10 мъжки † и 10 женски †	20 мъжки † и 20 женски †
Допълнителни	5 мъжки и			

наблюдения, където е подходящо	5 женски			
--------------------------------	----------	--	--	--

† Включва пет животни, избрани за функционални изследвания и подробни клинични наблюдения, като част от невротоксичното изследване

**Таблица 2**  
**Честота на клиничните наблюдения и функционални изследвания**

Вид наблюдения		Продължителност на изследването			
		Остро	28-дневно	90-дневно	Хронично
При всички животни	Общо здравословно състояние	ежедневно	ежедневно	ежедневно	ежедневно
	Смъртност/заболеваемост	Два пъти дневно	Два пъти дневно	Два пъти дневно	Два пъти дневно
При животни, избрани за функционални наблюдения	Подробни клинични наблюдения	— преди първата експозиция — през 8 часа от дозиране при оценяването време за слаб ефект — на 7-я и 14-я ден след дозирането	— преди първата експозиция — след това веднъж седмично	— преди първата експозиция — веднъж по време на първата или втората седмица от експозицията — ежемесечно след това	— преди първата експозиция — веднъж в края на първия месец от експозицията — на всеки три месеца след това
	Функционални изследвания	— преди първата експозиция — през 8 часа от дозиране при оценяването време за слаб ефект — на 7-я и 14-я ден след дозирането	— преди първата експозиция — през четвъртата седмица на третиране, колкото се може по-близо до края на периода на експозицията	— преди първата експозиция — веднъж по време на първата или втората седмица от експозицията - ежемесечно след това	— преди първата експозиция края на първия месец от експозицията — на всеки три месеца след това

ANNEX 2I

**С.21. ПОЧВЕНИ МИКРООРГАНИЗМИ: ИЗПИТВАНЕ НА АЗОТНАТА ТРАНСФОРМАЦИЯ**

**1. МЕТОД**

Този метод е идентичен с OECD TG 216 (2000).

**1.1 ВЪВЕДЕНИЕ**



Методът за изпитване представлява, предназначен за лабораторни анализи, метод за обследване на дългосрочните ефекти върху азотната трансформация на почвените микроорганизми при еднократна експозиция с химикали. Изпитването принципно се основава на Препоръките на Европейската и Средиземноморската организация за защита на растенията (1). Други насоки, обаче, включително тези на Немският Биологичен Институт (2), Американската Агенция за защита на околната среда (3), SETAC (4) и Международната организация за стандартизация (5), също може да бъдат взети предвид. Семинарът на OECD за избор на Почви/Седименти, проведен в Belgirate, Италия, през 1995 г. (6) приема броя и вида на почвите, използвани при това изпитване. Препоръките за събиране, обработване и съхранение на почвената проба се основават на Ръководството на ISO (7) и препоръките от семинара в Belgirate. За междинните и окончателните оценки на токсичните характеристики на изпитваните вещества, може да бъде изискано определянето на ефектите върху микробната активност на почвата, напр. когато се изискват данни за потенциалната големина на ефектите върху почвената микрофлора от продуктите за защита на зърнените култури или когато се очаква експозиция на почвените микроорганизми от химикали, които не са продуктите за защита на зърнени култури. Изпитването за азотна трансформация се провежда, за да се определят ефектите от такива химикали върху почвената микрофлора. Ако се изпитват агрохимикали (напр. продуктите за защита на зърнените култури, торове, химикали за защита на горите), се провеждат едновременно азотна и въглеродна трансформации. Ако не се изпитват агрохимикали, достатъчно е изпитването за азотна трансформация. Ако обаче стойностите на EC50 на такива химикали при изпитването на азотната трансформация са в обхвата на наличните в естествено състояние (натурални) нитрификационни инхибитори (напр. нитрапирин), трябва да бъде проведено и изпитване на въглеродната трансформация, за да се събере повече информация. Почвите се състоят от живи и мъртви компоненти, които съществуват в комплексни хетерогенни смеси. Микроорганизмите играят важна роля в разграждането и трансформирането на органичната материя в наторените почви, като различните видове способстват по различен начин за почвеното плодородие. Всяко дългосрочно влияние при тези биохимични процеси, по всяка вероятност, може да окаже влияние на цикъла на хранене, а това би могло да измени плодородието на почвата. Във всички наторени почви се извършват трансформации на азота и въглерода. Въпреки това, че микробните общества в различните почви отговарят различно на тези процеси, начините на трансформация, в основата си, са едни и същи.

Описаният метод за изпитване е предназначен за откриване на дългосрочните вредни ефекти от вещество, в хода на азотната трансформация, при почви с аеробна повърхност. Методът за изпитване позволява също да се оценят ефектите от веществото при въглеродна трансформация, извършвана от почвената микрофлора. Образоването на нитрат се провежда последователно при разграждане на въглерод-азотните връзки. Следователно, ако в третираните и контролните проби са установени равни стойности на образувания нитрат, много вероятно е, постигането в най-висока степен на цялостното и пълно разграждане на въглерода. Избраният за изпитването субстрат (люцерна в прахообразна форма) е в предпочетено въглерод-азотно съотношение (обикновено между 12/1 и 16/1). Поради това, по време на изпитването се ограничава въглеродното "гладуване" и ако микробните общества се изменят, в следствие на прилагането на химикал, те могат да се самовъзстановят в рамките на 100-дневен период от време.

Изпитванията, въз основа на които е разработен този метод, са предназначени предимно за вещества, за които може да се предположи количеството, до което почвата достига. Такъв е случаят, например, с продуктите за защита на зърнените култури, за които апликационното ниво е известно. За агрохимикали е достатъчно изпитване с две дози, съответстващо на очакваното или предполагаемо апликационно ниво. Агрохимикалите могат да бъдат изпитвани като активни съставки (a.i.) или като получени продукти. Обаче изпитването не се ограничава до агрохимикали. Чрез промяна едновременно на количествата на изпитваното вещество, прилагано върху почвата, и на начина, по който се оценяват данните, изпитването

маже също да бъде приложено при химикали, за които е известно количеството, което се очаква почвата да достигне. По такъв начин се определят ефектите при азотна трансформация от сериите концентрации на химикали, които не са агрохимикали. Данните от тези изследвания се използват за изготвянето на кривата доза - отговор и за изчисляване на стойностите на ЕСх, където х е определения в % ефект.

## 1.2 ОПРЕДЕЛЕНИЯ

**Азотна трансформация:** е пълното разграждане от микроорганизми на азот-съдържаща органична материя, през етапи на амонификация и нитрификация до образуване на съответния неорганичен краен продукт - нитрат.

**ЕСх (Ефективна концентрация):** е концентрацията на изпитваното вещество в почвата, която води до х % задържане на трансформацията на азота до нитрат.

**ЕС50 (Средна ефективна концентрация):** е концентрацията на изпитваното вещество в почвата, която води до 50 процента (50%) задържане на преобразуването на азота до нитрат.

## 1.3 ВЕЩЕСТВА ЗА СРАВНЕНИЕ

Няма.

## 1.4 ПРИНЦИП НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

Пресятата почва се подправя с растителна храна в прахообразна форма и всяка проба се третира с изпитваното вещество или остава необработена с него (контрола). Ако се изпитва агрохимикал, се препоръчват минимум две концентрации за изпитване и те трябва да бъдат избрани във връзка с най-високата очаквана концентрация в тази област. След 0, 7, 14 дни и 28 дни от инкубирането, пробите с третираните и контролните почви се екстрахират с подходящ разтворител и се определят количествата нитрат в екстрактите. Нивото на образувания нитрат в третираните проби се сравнява с нивото в контролите и се изчислява процентното отклонение в стойностите на третираните проби и контролите. Всички изпитвания траят поне 28 дни. Ако на 28-я ден разликите между третираните и нетретираните почви са по-големи или равни на 25%, измерванията продължават, но не по-дълго от 100 дни. Ако се изпитват агрохимикали, в почвените проби се добавят серия от концентрации на изпитваното вещество и след 28 инкубационни дни се измерват количествата на образувания нитрат в третираните и контролните проби. Резултатите от изпитванията с множество концентрации се анализират с използването на регресионен модел и се изчисляват стойностите на ЕСх (т.е. ЕС50, ЕС25 и/или ЕС10). Виж определенията.

## 1.5 ВАЛИДИРАНЕ НА ИЗПИТВАНЕТО

Оценяването на резултатите от изпитването с агрохимикали, се основава на относително малки разлики (т.е. средна стойност  $\pm 25\%$ ) между нитратните концентрации в контролните и третираните почвени проби, така че големи отклонения в контролите могат да доведат до погрешни резултати. Следователно, отклонението между еднаквите контролни образци трябва да бъде по-малко от  $\pm 15\%$ .

## 1.6 ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

### 1.6.1 Апаратура

Използват се контейнери за изпитване, направени от химически инертен материал. Те трябва да бъдат с подходящ капацитет, в съответствие с използваната процедура за инкубиране на почви, т.е. инкубиране в насипно състояние или в серии от индивидуални почвени проби (виж точка 1.7.1.2). Трябва да бъде обърнато внимание едновременно на минимизирането на водните загуби и на невъзпрепятстването на обмена на газове по време на изпитването (напр. изпитваните контейнери могат да бъдат покрити с перфорирано полиетиленово фолио). Когато се изпитват летливи вещества, трябва да бъдат използвани

запечатващи се и газонепропускливи контейнери. Те трябва да бъдат с такъв размер, че приблизително една четвърт от техния обем да е пълна с почвената проба. Използва се стандартно лабораторно оборудване, както следва:

- разбъркващо/клатачно устройство: механична клатачка или еквивалентно оборудване;
- центрифуга (3 000 g) или филтриращо устройство (използва се несъдържаща нитрати фолтърна хартия);
- инструмент с подходяща чувствителност и способност за възпроизводимост на нитратния анализ.

### 1.6.2 Избор и брой на почвените проби

Използва се една единствена почвена проба. Препоръчва се почвата да има характеристики, както следва:

- съдържание на пясък: не по-малко от 50% и не повече от 75%;
- рН: 5,5-7,5;
- съдържание на органичен въглерод: 0,5-1,5%;
- микробната биомаса трябва да бъде измерена (8)(9) и нейното въглеродно съдържание трябва да бъде най-малко 1% от общия органичен въглерод в почвата.

В повечето случаи, почва с такива характеристики представлява случай на по-лоша ситуация и адсорбцията на изпитвания химикал е минимална, а наличността му в микрофлората е максимално. Следователно, като цяло не е необходимо провеждането на изпитвания с други почви. Въпреки това, при определени обстоятелства, напр. когато се очаква основно употреба на изпитваното вещество да е в определени почви, такива като кисели горски почви или при електростатично заредени химикали, може да бъде необходимо да се използва допълнителна почвена проба.

### 1.6.3 Събиране и съхранение на почвени проби

#### 1.6.3.1 Събиране

Трябва да има налична подробна историческа информация за мястото в полето, от където е взета почва за изпитване. Подробностите включват: точно местоположение, растителна покривка, дати на третиране с продукти за защита на зърнени култури, обработване с органични и неорганични торове, прибавяне на биологични материали или аварийни замърсявания. Избраното място за вземане на почва трябва да позволява дългосрочна употреба. Постоянни пасища, поля с годишно зърнени култури (с изключение на царевицата) или гъсто засяти зелени торища са подходящи за вземане на проби. Избраните места за вземане на проби не трябва да са били третирани с продукти за защита на зърнените култури поне една година преди вземането на пробите. Също, никакви органични торове не трябва да бъдат прилагани поне шест месеца преди това. Употребата на минерални торове е приемлива само, когато в съответствие с изискванията за зърнени култури, почвени проби не трябва да бъдат вземани поне три месеца след използването на такива торове. Използването на почва, третирана с торове с известна биологична ефективност (напр. калциев цианамид) трябва да бъде избягвано. Вземането на проби се избягва през или веднага след дълги (по-дълги от 30 дни) периоди на засушаване или валежи. Проби от разорани почви трябва да бъдат вземани на дълбочина от 0 до 20 cm. При зелени площи (пасища) или други почви, които не са били разоравани дълги периоди от време (поне един растежен сезон), максималната дълбочина за вземане на проби може да бъде малко повече от 20 cm (напр. до 25 cm). Почвените проби трябва да се транспортират в контейнери при определена температура. Тези условия гарантират, че първоначалните свойства на почвата не са значително изменени.

#### 1.6.3.2 Съхранение

Препоръчва се използването на прясно събрани почвени проби. Ако съхраняване в лабораторни условия не може да бъде избегнато, почвите могат да бъдат съхранявани на тъмно при  $4 \pm 2$  °C в продължение максимум на три месеца. По време на съхраняването на почвите, трябва да бъдат осигурени аеробни условия. Ако почвите са събрани от области, където са замръзнали през поне три месеца в годината, те могат да бъдат съхранени за шест

месеца при температура от минус 18 °С до минус 22 °С. Микробната биомаса на съхраняваната почва се измерва, преди всеки експеримент и съдържанието на въглерод в биомасата трябва да бъде поне 1% от общото съдържание на органичен въглерод в почвата (виж точка 1.6.2).

#### **1.6.4 Обработване и подготовка на почвата преди изпитването**

##### **1.6.4.1 Предварителна инкубация**

Ако почвата ще бъде съхранявана (виж точки 1.6.3.2), се препоръчва предварителна инкубация през периода от 2-ия до 28-ия ден. Температурата и съдържанието на влага в почвата при предварителната инкубация трябва да бъдат подобни на използваните при изпитването (виж точки 1.6.4.2 и 1.7.1.3).

##### **1.6.4.2 Физико-химични характеристики**

Почвата ръчно се почиства от големи предмети (напр. камъни, части от растения и др.) и тогава влагата се филтрира, без допълнително сушене, при размер на частиците по-малък или равен на 2 mm. Съдържанието на влага в почвената проба трябва да бъде регулирано с дестилирана или дейонизирана вода до стойност между 40% и 60% от максималната способност за задържане на вода.

##### **1.6.4.3 Изменение с органичен субстрат**

Почвата трябва да бъде изменена (подобнена/ захранена) с подходящ органичен субстрат, напр. люцерна-зелена трева (основен компонент: *Medicago sativa*) със съотношение C/N между 12/1 и 16/1. Препоръчаното съотношение люцерна-почва 5 g люцерна за 1 kg почва (сухо тегло).

#### **1.6.5 Подготовка на изпитваното вещество за прилагане в почвата**

Изпитваното вещество обикновено се прилага чрез използване на носител. Носителят може да бъде вода (за водоразтворими вещества) или инертно твърдо вещество, като ситен кварцов пясък (размер на частиците: 0,1-0,5mm). Употребата на течни носители, различни от вода (напр. органични разтворители, такива като ацетон, хлороформ), трябва да бъде избягвана, тъй като те могат да увредят микрофлората. Ако като носител са използвава пясък, той може да бъде покрит с разтвореното или суспендирано в подходящ разтворител изпитвано вещество. В такива случаи, разтворителят трябва чрез изпаряване да бъде отстранен, преди смесването с почва. За оптимално разпространение на изпитваното вещество в почвата, се препоръчва да се използва съотношение 10 g пясък на килограм почва (сухо тегло). Контролните проби се третира само с еквивалентни количества вода и/ или кварцов пясък. Когато се изпитват летливи химикали, трябва, дотолкова до колкото е възможно, да бъдат избегнати загубите и експериментът трябва да бъде проведен при осигурено хомогенно разпределение в почвата (напр. изпитваното вещество трябва да бъде впръскано/ вкарано в почвата на няколко места).

#### **1.6.6 Изпитвани концентрации**

Ако се изпитват агрохимикали, трябва да се използват поне две концентрации. По-ниската концентрация трябва да въздейства По-ниската концентрация може да се отрази най-малко на максималното количество, което се очаква да достигне почвата при условията на експеримента, като се има предвид, че по-високата концентрация трябва да бъде кратна на по-ниската концентрация. Концентрациите на изпитваното вещество, добавяно към почвата, се изчисляват, като се приема, че има еднакво смесване в дълбочина от 5 cm и плътност на насипната почва 1.5. За агрохимикали, които се прилагат директно в почвата, или за химикали, за които може да бъде предвидено достигнатото количество в почвата, се препоръчва като изпитвани концентрации да се използват максимално-предвижданите концентрации в околната среда (РЕС) и пет времена за концентрация. Веществата, които се очаква да бъдат прилагани в почвата няколкократно за един сезон, трябва да бъдат изпитвани при концентрации, получени от умножението на РЕС и очаквания максимален брой приложения. По-високата концентрация обаче не трябва да превишава с повече от десет пъти стойността на максималното еднократно прилагано ниво. Ако не се изпитват агрохимикали,

се прилага геометрична серия от поне пет концентрации. Изпитваните концентрации трябва да покриват обхвата, нужен за определяне стойностите на ЕСх.

## 1.7 ПРЕДСТАВЯНЕ НА ИЗПИТВАНЕТО

### 1.7.1 Условия на експозиция

#### 1.7.1.1 Третиране и контрол

Ако се изпитват агрохимикали, почвата се разделя на три части с еднаква маса. Двете части се смесват с носителя, съдържащ продукта, а другата част се смесва с носителя, който не съдържа продукта (контрола). Препоръчва се използването на минимум три реплики на двете третирани и нетретираната почвени проби. Ако не се изпитват агрохимикали, почвата се разделя на шест части с еднаква маса. Пет от пробите се смесват с носителя, съдържащ изпитваното вещество, а шестата проба се изпитва с носителя, не съдържащ химикала. Препоръчва се използването на минимум три реплики на двете третирани проби и контролата. Трябва да се обърне внимание на осигуряването на хомогенно разпределение на изпитваното вещество в третирани почвени проби. По време на смесването трябва да бъде избягвано сбиването или кълбообразното натрупване на почвата.

#### 1.7.1.2 Инкубация на почвени проби

Инкубация на почвените проби може да бъде извършена по два начина: като насипни проби от всяка третирана и нетретирана почва или като серия от индивидуални и с еднаква маса подпроби от всяка третирана и нетретирана почва. Когато обаче се изпитват летливи вещества, се извършва изпитване само със серия от индивидуални подпроби. Когато се инкубират почви в насипно количество, се приготвят големи количества от всички третирани и нетретирани почви и за подпробите, които ще се анализират, се взема такова количество, каквото е необходимо за провеждане на изпитването. Първоначално приготвеното количество за всяко третиране и контрола зависи от големината на подпробите, броя на използваните при анализа реплики и максималния очакван брой на времената за изпитване. Почвите, които се инкубират в насипно количество, трябва да бъдат напълно смесени (хомогенизирани) преди отделянето на подпробите. Когато почвите се инкубират като серия от индивидуални почвени проби, всяка третирана или нетретирана почвена проба в насипно количество се разделя на необходимия брой подпроби и те се използват, според както е необходимо. При експериментите, при които се очакват повече от две времена на изпитване, трябва да бъдат приготвени достатъчно подпроби, за да бъдат отчетени всички реплики и всички времена на изпитване. Поне три повтарящи се проби (реплики) трябва да бъдат инкубирани при аеробни условия (виж точка 1.7.1.1). По време на всички изпитвания, трябва да бъдат използвани подходящи контейнери с достатъчно пространство в горния си край, за да се избегне възникването на анаеробни условия. Когато се изпитват летливи вещества, изпитването трябва да бъде проведено само при серия индивидуални подпроби.

#### 1.7.1.3 Условия и продължителност на изпитването

Изпитването се провежда на тъмно при стайна температура  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ . Съдържанието на влага в почвените образци трябва да бъде поддържано по време на изпитването между 40% и 60% от максималната способност на почвата да задържа вода (виж точка 1.6.4.2) в обхвата  $\pm 5\%$ . Добавя се дестилирана, дейонизирана вода, ако е необходимо. Минималната продължителност на изпитванията е 28 дни. Ако се изпитват агрохимикали, стойностите на образувания нитрат в третирани и контролните проби се сравняват. Ако те се различават с повече от 25% на 28-ия ден, изпитването продължава, докато се получи разлика, равна или по-малка от 25%, или за максимум 100 дни, която е по-малка. Ако не се изпитват агрохимикали, изпитването завършва след 28 дни. На 28-ия ден се определят количествата на нитрата в третирани и контролните почвени проби и се изчисляват стойностите на ЕСх.

### 1.7.2 Вземане на проби и анализ на почви

#### 1.7.2.1 Схема за вземане на почвени проби

Ако се изпитват агрохимикали, почвените проби се анализират за нитрат през 0-вия, 7-ия, 14-ия и 28-ия ден. Ако е необходимо удължаване на изпитването, трябва да бъдат направени допълнителни измервания през 14-дневни интервали след 28-ия ден. Ако не се изпитват

агрехимикали, се използват поне пет изпитвани концентрации и почвените проби се анализират за нитрати в началото (ден 0) и в края на периода на експозиция (28 дни). Може да бъде направено внезапно измерване, напр. през 7-я ден, ако изглежда необходимо. Данните, получени на 28-ия ден, се използват за определяне стойността на ЕСх за химикала. При желание, данните от 0-ия ден на контролните проби също могат да бъдат използвани за оценяване на първоначалното количество на нитрата в почвата.

#### 1.7.2.2 Анализ на почвените проби

Количеството на образувания нитрат се определя за всяка третирана и контролна реплика за времето на всяка проба. Нитратът се екстрахира от почвата чрез разклащане на пробите и подходящия екстрахиращ разтворител напр. 0,1 М разтвор на калиев хлорид. Препоръчва се количество от 5 ml разтвор на KCl на грам сухо тегло почвен еквивалент. За оптимално екстрахиране, контейнерите, в които се намират почвата и екстрахиращия разтвор, трябва да не бъдат по-пълни от половината им обем. Смесите се разклащат при 150 rpm в продължение на 60 минути. После смесите се центрофугират или филтрират и течните фази се анализират за нитрат. Течните екстракти, освободени от твърди частици, могат да бъдат съхранявани преди анализ при минус  $20 \pm 5$  °C за период до шест месеца.

## 2. ДАННИ

### 2.1 ОБРАБОТВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Ако се изпитват агрохимикали, образуваният нитрат трябва да бъде записан за всяка повтаряща се почвена проба (реплика), а средните стойности от всички реплики трябва да бъдат представени в таблична форма. Стойностите на азотната трансформация трябва да бъдат оценявани чрез подходящи и общоприети статистически методи (напр. F-метод, 5% ниво на значимост). Количествата на образувания нитрат се изразяват в mg нитрат/ kg сухо тегло почва/ ден. Стойността на получения нитрат при всяко третиране се сравнява с това на контролата и се изчислява процентното отклонение от контролата. Ако изпитванията не са проведени с агрохимикали, количеството на образувания нитрат се определя за всяка реплика и се изготвя крива доза-отговор за оценка на стойностите на ЕСх. Количествата на нитрата (т.е. mg нитрат/kg сухо тегло почва), открити в третираните проби след 28 дни, се сравняват с тези в контролите. От тези данни се изчисляват %-те стойности на задържане за всяка изпитана концентрация. Тези проценти се разпределят спрямо концентрацията и се използват статистически процедури за изчисляване на стойностите на ЕСх. Доверителните интервали ( $p = 0,95$ ) за изчислените ЕСх също се определят, чрез използване на стандартни процедури (10)(11)(12). Изпитвани вещества, които съдържат големи количества азот, могат да подпомогнат получаването на количествата нитрат по време на изпитването. Ако тези вещества се изпитват при висока концентрация (напр. химикали, които се очаква да бъдат използвани при повтарящи се приложения), в изпитването трябва да бъдат включени и подходящи контроли (т.е. почва плюс изпитвано вещество, но без растителна храна). Данните от тези контроли трябва да бъдат използвани при изчисленията на ЕСх.

### 2.2 ИНТЕРПРЕТИРАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

При оценяване на резултатите от изпитванията с агрохимикали, когато разликата в стойностите на образувания нитрат при по-слабото третиране (т.е. максималната предвиждана концентрация) и контрола е по-малка или равна на 25% по всяко време на проби след 28-ия ден, продуктът може да бъде оценен като такъв, който няма дълготрайно влияние върху азотната трансформация в почвите. Когато се оценяват резултати от изпитвания с химикали, различни от агрохимикалите, се използват стойностите на ЕС50, ЕС25 и/или ЕС10.

## 3. ОТЧИТАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

### 3.1 ПРОТОКОЛ ОТ ИЗПИТВАНЕТО

Протоколът от изпитването трябва да съдържа следната информация:

Пълно идентифициране на използваната почва, което включва:

- географско положение на мястото (географска ширина, географска дължина);
- историческа информация за мястото (т.е. покриваща растителност, третиране с продукти за защита на зърнените култури, треторане с торове, аварийно замърсяване и др.);
- използвани образци (напр. земеделска почва, гора, и др.);
- дълбочина на вземане на пробата (cm);
- съдържание на пясък/тиня/глина (%сухо тегло);
- рН (във вода);
- съдържание на органичен въглерод (%сухо тегло);
- съдържание на азот (%сухо тегло);
- начална нитратна концентрация (mg нитрат/kg сухо тегло);
- способност за катионен обмен (mmol/kg);
- микробиална биомаса в процентно съотношение с общия органичен въглерод;
- референции на използваните методи за определянето на всеки параметър;
- цялата информация, свързана със събирането и съхранението на почвени проби;
- подробности за предварителната инкубация на почвата, ако има.

#### Изпитвано вещество:

- физична природа и, където е подходящо, физико-химични свойства;
- данни за идентичността на химикала, където е подходящо, включително структурна формула, чистота (т.е. за продукти за защита на зърнени култури - процента на активната съставка), съдържание на азот.

#### Субстрат:

- източник на субстрата;
- състав (т.е. люцерна, люцерна - зелена трева);
- съдържание на азот и въглерод (% сухо тегло);
- размер на ситото (mm).

#### Условия на изпитването:

- подробности за изменението на почвата с органичен субстрат;
- брой на използваните концентрации на изпитваното вещество и, където е подходящо, обосноваване на избраните концентрации;
- подробности около апликирането на изпитваното вещество в почвата;
- инкубационна температура;
- съдържание на влага в почвата при започване и по време на изпитването;
- метод на инкубация на използваната почва (т.е. в насипно количество или като серия от индивидуални почвени подпроби);
- брой на репликите (повтарящи се почвени проби);
- времена при вземане на пробите.
- използван метод за екстрахиране на нитрата от почвата.

#### Резултати:

- аналитична процедура и оборудванер използвани при анализа на нитрата;
- таблични данни, включващи индивидуални и средни стойности от измерванията на нитрата;
- отклонения между репликите в третираните и контролните проби;
- обяснения на направените корекции в изчисленията, ако е подходящо;
- процентни отклонения в стойностите на образувания нитрат за времето на всяка проби или, ако е подходящо, ЕС50 с 95% потвърдено ограничение, други ЕСх (т.е. ЕС25 или ЕС10) с доверителни интервали, и графика на кривата доза-отговор;
- статистическо обработване на резултатите;
- цялата информация и наблюдения, подпомагащи интерпретирането на резултатите.

#### 4. ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА

(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, Bruxelles.
- (5) ISO/DIS 14238 (1995). Soil Quality - Determination of Nitrogen Mineralisation and Nitrification in Soils and the Influence of Chemicals on these Processes. Technical Committee ISO/TC 190/SC 4: *Soil Quality - Biological Methods*.
- (6) OECD (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/Sediments, Belgirate, Italie, 18-20 janvier 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: Substrateinduced respiration method.
- (9) ISO 14240-2 (1997). Soil quality - Determination of soil microbial biomass - Part 2: Fumigationextraction 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*.

## **С.22. ПОЧВЕНИ МИКРООРГАНИЗМИ: ИЗПИТВАНЕ НА ВЪГЛЕРОДНАТА ТРАНСФОРМАЦИЯ**

### **1. МЕТОД**

Този метод е идентичен с OECD TG 217 (2000).

#### **1.1 ВЪВЕДЕНИЕ**

Методът за изпитване представлява, предназначен за лабораторни анализи, метод за обследване на дългосрочните потенциални ефекти от еднократна експозиция на продуктите за защита на зърнените култури и други възможни химикали при преобразуването на въглерода от почвените микроорганизми. Изпитването принципно се основава на Препоръките на Европейската и Средиземноморската организация за защита на растенията (1). Други насоки, обаче, включително тези на Немският Национален Биологичен Институт (2), Американската Агенция за защита на околната среда (3) и SETAC (4), също може да бъдат взети предвид. Семинарът на OECD за избор на Почви/Седименти, проведен в Belgirate, Италия, през 1995 г. (5) приема броя и вида на почвите, използвани при това изпитване. Препоръките за събиране, обработване и съхранение на почвената проба се основават на Ръководството на ISO (6) и препоръките от семинара в Belgirate. За междинните и окончателната оценки на токсичните характеристики на изпитваните вещества, може да бъде изискано определянето на ефектите върху микробната активност на почвата, напр. когато се изискват данни за потенциалната големина на ефектите върху почвената микрофлора от продуктите за защита на зърнените култури или когато се очаква експозиция на почвените микроорганизми от химикали, които не са продукти за защита на зърнени култури. Изпитването за въглеродна трансформация се провежда, за да се определят ефектите от такива химикали върху почвената микрофлора. Ако се изпитват агрохимикали (напр. продукти за защита на зърнените култури, торове, химикали за защита на горите), се провеждат едновременно азотна и въглеродна трансформации. Ако не се изпитват агрохимикали, достатъчно е изпитването за азотна трансформация. Ако обаче стойностите на EC50 на такива химикали при изпитването на азотната трансформация са в обхвата на наличните в естествено състояние (натурални) нитрификационни инхибитори (напр. нитрапирин), трябва да бъде проведено и изпитване на въглеродната трансформация, за да се



събере повече информация. Почвите се състоят от живи и неживи компоненти, които съществуват в комплексни хетерогенни смеси. Микроорганизмите играят важна роля в разграждането и трансформирането на органичната материя в наторените почви, като различните видове способствуват по различен начин за почвеното плодородие. Всяко дългосрочно влияние при тези биохимични процеси, по всяка вероятност, може да окаже влияние на цикъла на хранене, а това би могло да измени плодородието на почвата. Във всички плодородни почви се извършват трансформации на азота и въглерода. Въпреки че микробните съобщества в различните почви отговарят различно на тези процеси, начините на трансформация, в основата си, са едни и същи. Този метод за изпитване е предназначен за откриване на дългосрочните вредни ефекти от вещество, в хода на въглеродна трансформация при почви с аеробна повърхност. Методът е чувствителен към промени в размера и активността на микробните съобщества, отговорни за въглеродната трансформация, тъй като тези съобщества са зависими едновременно от въздействието на химикала и от въглеродно "гладуване". Използува се пясъчна почва с ниско съдържание на органична материя. Тази почва се третира с изпитваното вещество и се инкубира при условия, позволяващи бърз микробен метаболизъм. При тези условия, източниците на лесно достъпен въглерод в почвата бързо се изчерпват. Това причинява въглеродното "гладуване", което едновременно убива микробните клетки и предизвиква латентност (летаргия) и/ или спорообразуване. Ако изпитването продължи повече от 28 дни, сумата от тези реакции може да бъде измерена в (нетретирана почва) контроли като прогресивна загуба на метаболитно активната микробна биомаса (7). Ако биомасата във въглеродно-трансформираните почви, при условията на провеждане на експеримента, се влияе от присъствието на химикал, тя не може да бъде върната за използване на същото ниво като контрола. Следователно смущенията, причинени от изпитваното вещество, във всеки един момент от време, през периода на провеждане на експеримента, често продължават до края на изпитването. Изпитванията, въз основа на които е разработен този метод, са били предназначени предимно за вещества, за които може да се предположи количеството, до което почвата достига. Такъв е случаят, например, с продуктите за защита на зърнените култури, за които е известно апликационното ниво. За агрохимикали е достатъчно изпитване с две дози, съответстващо на очакваното или предполагаемо апликационно ниво. Агрохимикалите могат да бъдат изпитвани като активни съставки (a.i.) или като получени (крайни) продукти. Обаче изпитването не се ограничава до химикали с предвидими концентрации в околната среда. Чрез промяна едновременно на количествата на изпитваното вещество, прилагано върху почвата, и на начина, по който се оценяват данните, изпитването може също да бъде приложено при химикали, за които не е известно количеството, което се очаква почвата да достигне. По такъв начин се определят ефектите от въглеродна трансформация при серия концентрации на химикали, които не са агрохимикали. Данните от тези изследвания се използват за изготвянето на кривата доза - отговор и за изчисляване на стойностите на ЕС<sub>x</sub>, където x е определения в % ефект.

## 1.2 ОПРЕДЕЛЕНИЯ

**Въглеродна трансформация:** е микроорганичното разграждане на органична материя до образуване на неорганичния краен продукт въглероден диоксид.

**ЕС<sub>x</sub> (Ефективна концентрация):** е концентрацията на изпитваното вещество в почвата, която води до x% задържане на преобразуването на въглерода във въглероден диоксид.

**ЕС<sub>50</sub> (Средна ефективна концентрация):** е концентрацията на изпитваното вещество в почвата, която води до 50% задържане на преобразуването на въглерода във въглероден диоксид.

## 1.3 ВЕЩЕСТВА ЗА СРАВНЕНИЕ

Няма.

#### 1.4 ПРИНЦИП НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

Пресятата почва или се третира с изпитваното вещество, или остава нетретирана (контрола). Ако се изпитват агрохимикали, се препоръчват минимум две концентрации за изпитване и те трябва да бъдат избрани във връзка с най-високата очаквана концентрация в тази област. След 0, 7, 14 ден и 28 дни от инкубирането, пробите с третираните и контролните почви се смесват с глюкоза и се измерват нивата на глюкозно- предизвиканата респирация за 12-часов непрекъснат интервал от време. Респираторните нива се изразяват като отделен въглероден диоксид (mg въглероден диоксид/kg суха почва/h) или погълнат кислород (mg кислород/ kg почва/h). Средното респираторно ниво в третираните почвени проби се сравнява с това в контролите и се изчислява процентното отклонение в нивото на третираните проби и контролите. Всички изпитвания траят поне 28 дни. Ако на 28-я ден разликите между третираните и нетретираните почви са по-големи или равни на 25%, измерванията продължават на 14-дневни интервали в продължение на максимум 100 дни. Ако се изпитват химикали, които не са агрохимикали, в почвените проби се добавят серия от концентрации на изпитваното вещество и след 28 инкубационни дни се измерват нивата на глюкозно - предизвиканата респирация (т.е. средно количествата на образувания въглероден диоксид или погълнатия кислород). Резултатите от изпитванията със сериите от концентрации се анализират чрез използване на регресионен модел и се изчисляват стойностите на ЕСх (т.е. ЕС50, ЕС25 и/или ЕС10). Виж определенията.

#### 1.5 ВАЛИДИРАНЕ НА ИЗПИТВАНЕТО

Оценяването на резултатите от изпитването с агрохимикали, се основава на относително малки разлики (т.е. средна стойност  $\pm 25\%$ ) между отделяния въглероден диоксид или погълнатия кислород в (или чрез) контролните и третираните почвени проби, така че големи отклонения в контролите могат да доведат до погрешни резултати. Следователно, отклонението между еднаквите контролни образци трябва да бъде по-малко от  $\pm 15\%$ .

#### 1.6 ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

##### 1.6.1 Апаратура

Използват се контейнери за изпитване, направени от химически инертен материал. Те трябва да бъдат с подходящ капацитет, в съответствие с използваната процедура за инкубиране на почви, т.е. инкубиране в насипно състояние или в серии от индивидуални почвени проби (виж точка 1.7.1.2). Трябва да бъде обърнато внимание едновременно на минимизирането на водните загуби и на невъзпрепятствания обмен на газове по време на изпитването (напр. изпитваните контейнери могат да бъдат покрити с перфорирано полиетиленово фолио). Когато се изпитват летливи вещества, трябва да бъдат използвани запечатващи се и газонепропускливи контейнери. Те трябва да бъдат с такъв размер, че приблизително една четвърт от техния обем да е пълна с почвената проба. За определяне на глюкозно-предизвиканата респирация, са необходими инкубационна система и инструменти за измерване производството на въглероден диоксид или консумацията на кислород. Примери за такива системи и инструменти могат да бъдат намерени в литературата (8) (9) (10) (11).

##### 1.6.2 Избор и брой на почвените проби

Използува се една единствена почвена проба. Препоръчва се почвата да има характеристики, както следва:

- съдържание на пясък: не по-малко от 50% и не повече от 75%;
- рН: 5.5-7.5;
- съдържание на органичен въглерод: 0,5-1,5%;
- микробната биомаса трябва да измерена (12)(13) и нейното въглеродно съдържание трябва да бъде поне 1% от общия органичен въглерод в почвата.

В повечето случаи, почва с такива характеристики представлява по-лоша ситуация и адсорбцията на изпитвания химикал е минимална, а наличността му в микрофлората е

максимално. Следователно, като цяло не е необходимо провеждането на изпитвания с други почви. Въпреки това, при определени обстоятелства, напр. когато се очаква основно употреба на изпитваното вещество да е в определени почви, такива като кисели горски почви или при електростатично заредени химикали, може да бъде необходимо да се замени с допълнителна почвена проба.

### **1.6.3 Събиране и съхранение на почвени проби**

#### **1.6.3.1 Събиране**

Трябва да има налична подробна историческа информация за мястото в полето, от където е взета почва за изпитване. Подробностите включват: точно местоположение, растителна покривка, дати на третиране с продукти за защита на зърнени култури, обработване с органични и неорганични торове, прибавяне на биологични материали или аварийни замурсвания. Избраното място за вземане на почва трябва да позволява дългосрочна употреба. Постоянни пасища, поля с годишни зърнени култури (с изключение на царевичата) или гъсто засяти зелени торища са подходящи за вземане на проби. Избраните места за вземане на проби не трябва да са били третирани с продукти за защита на зърнените култури поне една година преди вземането на пробите. Също, никакви органични торове не трябва да бъдат прилагани поне шест месеца преди това. Употребата на минерални торове е приемлива само, когато в съответствие с изискванията за зърнени култури, почвени проби не трябва да бъдат вземани поне три месеца след използването на такива торове. Използването на почва, третирана с торове с известна биологична ефективност (напр. калциев цианамид), трябва да бъде избягвано. Вземането на проби се избягва през или веднага след дълги (по-дълги от 30 дни) периоди на засушаване или валежи. Проби от разорани почви трябва да бъдат вземани на дълбочина от 0 до 20 cm. При зелени площи (пасища) или други почви, които не са били разоравани дълги периоди от време (поне един растежен сезон), максималната дълбочина за вземане на проби може да бъде малко повече от 20 cm (напр. до 25 cm). Почвените проби трябва да се транспортират в контейнери при определена температура. Тези условия гарантират, че първоначалните свойства на почвата не са значително изменени.

#### **1.6.3.2 Съхранение**

Препоръчва се използването на прясно събрани почвени проби. Ако съхраняване в лабораторни условия не може да бъде избегнато, почвите могат да бъдат съхранявани на тъмно при  $4 \pm 2$  °C в продължение максимум на три месеца. По време на съхраняването на почвите, трябва да бъдат осигурени аеробни условия. Ако почвите са събрани от области, където са замръзнали през поне три месеца в годината, те могат да бъдат съхранени за шест месеца при минус 18 °C. Микробната биомаса на съхраняваната почва се измерва, преди всеки експеримент и съдържанието на въглерод в биомасата трябва да бъде поне 1% от общото съдържание на органичен въглерод в почвата (виж точка 1.6.2).

### **1.6.4 Обработване и подготовка на почвата преди изпитването**

#### **1.6.4.1 Предварителна инкубация**

Ако почвата ще бъде съхранявана (виж точки 1.6.4.2 и 1.7.1.3), се препоръчва предварителна инкубация през периода от 2-ия до 28-ия ден. Температурата и съдържанието на влага в почвата при предварителната инкубация трябва да бъдат подобни на използваните при изпитването (виж точки 1.6.4.2 и 1.7.1.3).

#### **1.6.4.2 Физико-химични характеристики**

Почвата ръчно се почиства от големи предмети (напр. камъни, части от растения и др.) и тогава влагата се филтрира, без допълнително сушене, при размер на частиците, по-малък или равен на 2 mm. Съдържанието на влага в почвената проба трябва да бъде регулирано с дестилирана или дейонизирана вода до стойност между 40% и 60% от максималната способност за задържане на вода.

### **1.6.5 Подготовка на изпитваното вещество за прилагане в почвата**

Изпитваното вещество обикновено се прилага чрез използване на носител. Носителят може да бъде вода (за водоразтворими вещества) или инертно твърдо вещество, като фин кварцов

пясък (размер на частиците: 0,1-0,5mm). Употребата на течни носители, различни от вода (напр. органични разтворители, такива като ацетон, хлороформ), трябва да бъде избягвана, тъй като те могат да увредят микрофлората. Ако като носител са използвава пясък, той може да бъде покрит с разтвореното или суспендирано в подходящ разтворител изпитвано вещество. В такива случаи, разтворителят трябва да бъде отстранен чрез изпаряване, преди смесването с почва. За оптимално разпределение на изпитваното вещество в почвата, се препоръчва да се използва съотношение 10 g пясък на килограм почва (сухо тегло). Контролните проби се третира само с еквивалентни количества вода и/ или кварцов пясък. Когато се изпитват летливи химикали, при провеждането на експеримента трябва да бъдат избегнати загубите и експериментът трябва да бъде проведен при осигурено хомогенно разпределение в почвата (напр. изпитваното вещество трябва да бъде впръскано/ вкарано в почвата на няколко места).

#### **1.6.6 Изпитвани концентрации**

Ако се изпитват агрохимикали или други химикали с предвидими концентрации в околната среда, трябва да се използват поне две концентрации. Трябва да се въздействува с по-ниската концентрация. По-ниската концентрация рефлектира най-малко на максималното количество, което се очаква да достигне почвата при условията на експеримента, като се има предвид, че по-високата концентрация трябва да бъде кратна на по-ниската концентрация. Концентрациите на изпитваното вещество, добавяно към почвата, се изчисляват като се приема, че има еднакво смесване в дълбочина от 5 cm и плътност на насипната почва 1.5.

За агрохимикали, които се прилагат директно в почвата, или за химикали, за които може да бъде предвидено достигнатото количество в почвата, се препоръчва като изпитвани концентрации да се използват максимално-предвижданите концентрации в околната среда (РЕС) и пет времена за концентрация.

Веществата, които се очаква да бъдат прилагани в почвата няколкократно за един сезон, трябва да бъдат изпитвани при концентрации, получени от умножението на РЕС и очаквания максимален брой приложения. По-високата концентрация обаче не трябва да превишава с повече от десет пъти стойността на максималното еднократно прилагано ниво. Ако не се изпитват агрохимикали, се използват геометрични серии от поне пет концентрации. Изпитваните концентрации трябва да покриват обхвата, необходим за определянето на стойностите на ЕСх.

### **1.7 ПРОВЕЖДАНЕ НА ИЗПИТВАНЕТО**

#### **1.7.1 Условия на експозиция**

##### *1.7.1.1 Третиране и контрол*

Ако се изпитват агрохимикали, почвата се разделя на три части с еднаква маса. Двете части се смесват с носителя, съдържащ продукта, а другата част се смесва с носителя, който не съдържа продукта (контрола). Препоръчва се използването на минимум три реплики на двете третирани и нетретирания почвени проби.

Ако не се изпитват агрохимикали, почвата се разделя на шест части с еднаква маса. Пет от пробите се смесват с носителя, съдържащ изпитваното вещество, а шестата проба се изпитва с носителя, не съдържащ химикала. Препоръчва се използването на минимум три реплики на двете третирани проби и контролата. Трябва да се обърне внимание на осигуряването на хомогенно разпределение на изпитваното вещество в третирания почвени проби. По време на смесването трябва да бъде избягвано сбиването или кълбообразното натрупване на почвата.

##### *1.7.1.2 Инкубация на почвени проби*

Инкубация на почвените проби може да бъде извършена по два начина: като насипни проби от всяка третирани и нетретирани почва или като серия от индивидуални и с еднаква маса

подпроби от всяка третирана и нетретирана почва. Когато обаче се изпитват летливи вещества, се извършва изпитване само със серия от индивидуални подпроби. Когато се инкубират почви в насипно количество, се приготвят големи количества от всички третирани и нетретирани почви и за подпробите, които ще се анализират, се взема такова количество, каквото е необходимо за провеждане на изпитването. Първоначално приготвеното количество за всяко третиране и контрола зависи от големината на подпробите, броя на използваните при анализа реплики и максималния очакван брой на времената за изпитване. Почвите, които се инкубират в насипно количество, трябва да бъдат напълно смесени (хомогенизирани) преди отделянето на подпробите. Когато почвите се инкубират като серия от индивидуални почвени проби, всяка третирана или нетретирана почвена проба в насипно количество се разделя на необходимия брой подпроби и те се използват, според както е необходимо. При експериментите, при които се очакват повече от две времена на изпитване, трябва да бъдат приготвени достатъчно подпроби, за да бъдат отчетени всички реплики и всички времена на изпитване. Поне три повтарящи се проби (реплики) трябва да бъдат инкубирани при аеробни условия (виж точка 1.7.1.1). По време на всички изпитвания, трябва да бъдат използвани подходящи контейнери с достатъчно пространство в горния си край, за да се избегне възникването на анаеробни условия. Когато се изпитват летливи вещества, изпитването трябва да бъде проведено само при серия индивидуални подпроби.

#### 1.7.1.3 *Условия и продължителност на изпитването*

Изпитването се провежда на тъмно при стайна температура  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ . Съдържанието на влага в почвените образци трябва да бъде поддържано по време на изпитването между 40% и 60% от максималната способност на почвата да задържа вода (виж точка 1.6.4.2) в обхвата  $\pm 5\%$ . Добавя се дестилирана, дейонизирана вода, ако е необходимо. Минималната продължителност на изпитванията е 28 дни.

Ако се изпитват агрохимикали, количествата на отделения въглероден диоксид или на погълнатия кислород в третирани и контролните проби се сравняват. Ако те се различават с повече от 25% на 28-ия ден, изпитването продължава, докато се получи разлика, равна или по-малка от 25%, или за максимум 100 дни, която е по-малка.

Ако не се изпитват агрохимикали, изпитването завършва след 28-ия ден. На 28-ия ден се определя количеството на отделения въглероден диоксид или на погълнатия кислород в третирани и контролните почвени проби и се изчисляват стойностите на ЕСх.

### 1.7.2 **Вземане на проби и анализ на почви**

#### 1.7.2.1 *Схема за вземане на почвени проби*

Ако се изпитват агрохимикали, почвените проби се анализират за нива на глюкозно-предизвиканата респирация през 0-ия, 7-ия, 14-ия и 28-ия ден. Ако е необходимо удължаване на изпитването, трябва да бъдат направени допълнителни измервания през 14-дневни интервали след 28-ия ден.

Ако не се изпитват агрохимикали, се използват поне пет изпитвани концентрации и почвените проби се анализират глюкозно-предизвиканата респирация в началото (ден 0) и в края на периода на експозиция (28 дни). Може да бъде направено внезапно измерване, напр. през 7-я ден, ако изглежда необходимо. Данните, получени на 28-ия ден, се използват за определяне стойността на ЕСх за химикала. Ако желаете, данните от 0-ия ден на контролните проби също могат да бъдат използвани за оценяване на първоначалното количество на метаболично-активната микробиална биомаса в почвата (12).

#### 1.7.2.2 *Измерване на нивата на глюкозно-предизвиканата респирация*

Ниво на глюкозно-предизвиканата респирация се определя за всяка третирана и контролна реплика за всяко време на всяка проба. Почвените проби се смесват с допълнително количество глюкоза, за да се предизвика незабавен максимален респираторен отговор. Количеството глюкоза, необходимо за предизвикването на максимален респираторен отговор от дадена почва, може да бъде определено при предварителни изпитвания, чрез използването на серия глюкозни концентрации (14). Въпреки това, при пясъчни почви с 0,5-1,5% органичен въглерод, 2 000 mg към 2 000 mg глюкоза за kg сухо тегло почва, определено

са достатъчни. Глюкозата може да бъде стрита на пудра с чист кварцов пясък (10 g пясък/kg сухо тегло почва) и хомогенно смесена с почва. Изменените с глюкозата почвени проби са инкубирани в подходяща апаратура за продължително измерване на респираторните нива на всеки час или на всеки два часа (виж точка 1.6.1) при  $20 \pm 2$  °C. Отделянето на въглероден диоксид или поглъщането на кислород се измерва в продължение на 12 поредни часа и измерванията трябва да започнат, колкото е възможно, по-рано, т.е. в рамките на 1 до 2 часа след прибавянето на глюкозата. Общото количество на отделения въглероден диоксид или поглънатия кислород през тези 12 часа се измерва и се определят средните респираторни нива.

## **2. ДАННИ**

### **2.1 ОБРАБОТВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ**

Ако се изпитват агрохимикали, отделяният въглероден диоксид или поглъщаният кислород се записват за всяка повтаряща се почвена проба (реплика), а средните стойности на всички реплики трябва да бъдат представени в таблична форма. Резултатите трябва да бъдат оценявани чрез подходящи и общоприемливи статистически методи (напр. F-метод, 5% ниво на значимост). Нивата на глюкозно- предизвиканата респирация се изразяват в mg въглероден диоксид/ kg сухо тегло почва/ h или mg кислород/ сухо тегло почва/ h. Средното ниво на образувания въглероден диоксид или средното ниво на поглънатия кислород при всяко третиране се сравнява с това на контролата и се изчислява процентното отклонение от контролата.

Ако изпитванията не са проведени с агрохимикали, количеството на отделения въглероден диоксид или на поглънатия кислород се определя за всяка реплика и се изготвя крива доза-отговор за оценка на стойностите на ЕСх. Нивата на глюкозно- предизвиканата респирация (т.е. mg въглероден диоксид/ kg сухо тегло почва/ h или mg кислород/ сухо тегло почва/ h), открити в третираните проби след 28 дни, се сравняват с тези, открити в контролите. От тези данни се изчисляват %-те стойности на задържане за всяка изпитана концентрация. Тези проценти се разпределят спрямо концентрацията и се използват статистически процедури за изчисляване на стойностите на ЕСх. Доверителните интервали ( $p = 0,95$ ) за изчислените ЕСх също се определят, чрез използване на стандартни процедури (15)(16)(17).

### **2.2 ИНТЕРПРЕТИРАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ**

При оценяване на резултатите от изпитванията с агрохимикали, когато разликата в респираторните нива между по-слабото третиране (т.е. максималната предвиждана концентрация) и контрола е по-малка или равна на 25% по всяко време за вземане на проби след 28-ия ден, продуктът може да бъде оценен като такъв, който няма дълготрайно влияние върху преобразуването на въглерода в почвите. Когато се оценяват резултати от изпитвания с химикали, различни от агрохимикалите, се използват стойностите на ЕС50, ЕС25 и/ или ЕС10.

## **3. ОТЧИТАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ**

### **3.1 ПРОТОКОЛ ОТ ИЗПИТВАНЕТО**

Протоколът от изпитването трябва да съдържа следната информация:

Пълно идентифициране на използваната почва, което включва:

- географско положение на мястото (географска ширина, географска дължина);
- историческа информация за мястото (т.е. покриваща растителност, третиране с продукти за защита на зърнените култури, третиране с торове, аварийно замърсяване и др.);
- употреба на образци (напр. земеделска почва, гора, и др.);
- дълбочина на вземане на пробата (cm);
- съдържание на пясък/ тиня/ глина (%сухо тегло);
- рН (във вода);
- съдържание на органичен въглерод (%сухо тегло);

- съдържание на азот (% сухо тегло);
- способност за катионен обмен (mmol/kg);
- начална микробна биомаса в процентно съотношение с общия органичен въглерод;
- референции на използваните методи за определянето на всеки параметър;
- цялата информация, свързана със събирането и съхранението на почвени проби;
- подробности за предварителната инкубация на почвата, ако има.

Изпитвано вещество:

- физична природа и, където е подходящо, физико-химични свойства;
- данни за идентичността на химикала, където е подходящо, включително структурна формула, чистота (т.е. за продукти за защита на зърнени култури - процента на активната съставка), съдържание на азот.

Условия на изпитването:

- подробности за замяната на почвата с органичен субстрат;
- брой на използваните концентрации изпитваното вещество и, където е подходящо, обосноваване на избраните концентрации;
- подробности около апликирането на изпитваното вещество в почвата;
- инкубационна температура;
- съдържание на влага в почвата при започване и по време на изпитването;
- метод на инкубация на използваната почва (т.е. в насипно количество или като серия от индивидуални почвени подпроби);
- брой на репликите (повтарящи се почвени проби);
- времена при вземане на пробите.

Резултати:

- използвани метод и оборудване за измерване на респираторните нива;
- таблични данни, включващи индивидуални и средни стойности за количествата на въглеродния диоксид или кислорода;
- отклонения между репликите в третираните и контролните проби;
- обяснения на направените корекции в изчисленията, ако е подходящо;
- процентни отклонения в нивата на глюкозно- предизвиканата респирация за всяко време на вземане на проби или, ако е подходящо, EC50 с 95% потвърдено ограничение, други ECx (т.е. EC25 или EC10) с доверителни интервали, и графика на кривата доза-отговор;
- статистическо обработване на резултатите, където е подходящо;
- цялата информация и наблюдения, подпомагащи интерпретирането на резултатите.

#### 4. ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА

- (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 № 9. Eds. A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney. 41: 831- 871.

- (9) ISO 11266-1. (1993). Soil Quality - Guidance on Laboratory Tests for Biodegradation in Soil: Part 1. Aerobic Conditions.
- (10) ISO 14239 (1997E). Soil Quality - Laboratory incubation systems for measuring the mineralization of organic chemicals in soil under aerobic conditions.
- (11) Heinemeyer, O., Insam, H., Kaiser, E.A, and Walenzik, G. (1989). Soil microbial biomass and respiration measurements; an automated technique based on infrared gas analyses. *Plant and Soil*, 116: 77-81.
- (12) ISO 14240-1 (1997). Soil quality - Determination of soil microbial biomass - Part 1: Substrate induced respiration method.
- (13) ISO 14240-2 (1997). Soil quality - Determination of soil microbial biomass - Part 2: Fumigation extraction method.
- (14) Malkomes, H.-P. (1986). Einfluss von Glukosemenge auf die Reaktion der Kurzzeit-Atmung im Boden Gegenüber Pflanzenschutzmitteln, Dargestellt am Beispiel eines Herbizide. (Influence of the Amount of Glucose Added to the Soil on the Effect of Pesticides in Short-Term Respiration, using a Herbicide as an Example). *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd., Braunschweig*, 38: 113-120.
- (15) Litchfield, J.T. and Wilcoxon, F. (1949). A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *Jour. Pharmacol. and Exper. Ther.*, 96, 99-113.
- (16) Finney, D.J. (1971). *Probit Analysis*. 3rd ed., Cambridge, London and New-York.
- (17) Finney D.J. (1978). *Statistical Methods in biological Assay*. Griffin, Weycombe, UK.

## C.23. АЕРОБНА И АНАЕРОБНА ТРАНСФОРМАЦИЯ В ПОЧВИ

### 1. МЕТОД

Този метод е идентичен с OECD TG 307 (2002)

#### 1.1 ВЪВЕДЕНИЕ

Този метод за изпитване се основава на съществуващите ръководства (1)(2)(3)(4)(5)(6)(7)(8)(9). Методът, описан в този метод за изпитване е предназначен за оценяване на аеробната и анаеробната трансформация на химикали в почви. Провеждането на експериментите има за цел да се определи (i) степента на трансформация на изпитваното вещество, и (ii) вида и нивата на образуване и намаляване на продуктите от трансформацията, на които растителните и почвени организми могат да бъдат изложени. Такива изпитвания се изискват за химикали, които директно се прилагат в почвата или които е вероятно да достигнат до почвата при условията на околната среда. При разработване на пробите могат също да бъдат използвани резултатите от тези лабораторни изпитвания и аналитичните протоколи от подобни изпитвания в тази област. Аеробни и анаеробни изпитвания с един вид почва, като цяло, са достатъчни за оценяване на пътищата на трансформация (8)(10)(11). Нивата на трансформация трябва да бъдат определени при поне три допълнителни почви (8)(10). Семинарът на OECD за избор на почви и седименти, проведен в Belgirate, Италия през 1995 г. (10) приема, по-специално, броя и вида на почвите, използвани при това изпитване. Видовете изпитвани почви трябва да бъдат представителни за условията на околната среда, при които ще се използват или ще бъдат изхвърлени. Например химикали, които могат да бъдат изпуснати (отделени) при условията на субтропичен до тропичен климат трябва да бъдат изпитвани с Ferrasols или Nitosols (FAO система). На семинара също са представени препоръки, основани на Ръководството на ISO (15) за събиране, обработване и съхранение на почвените проби. В този метод се приема също използването на почви от оризища.

#### 1.2 ОПРЕДЕЛЕНИЯ

**Изпитвано вещество:** всяко вещество, независимо от това, дали е изходно съединение или съответен продукт от трансформацията.



**Продукти от трансформацията:** всички вещества, получени в резултат на реакциите при биотични и абиотични трансформации на изпитваното вещество, включително CO<sub>2</sub> и продуктите, които са в крайните остатъци.

**Крайни остатъци:** "Крайни остатъци" представляват съединения в почвата, растенията или животните, които остават в матрицата под формата на изходно вещество или негов метаболит(и)/ продукт, получен при трансформацията след екстрахиране. Методът за екстрахиране не трябва съществено да изменя самите съединения или структурата на матрицата. Би могло донякъде (частично) да се изясни природата на връзката чрез прилагане на екстракционни методи с промяна на матрицата и на сложни аналитични техники. Например, по този начин се идентифицират ковалентни йонни и сорбционни връзки, а така също и включванията (примеси). Най-общо, образуването на крайни остатъци намалява значително биологичния достъп и биологичната наличност (12) [изменено от IUPAC 1984 (13)].

**Аеробна трансформация:** реакциите протичат в присъствието на молекулен кислород (14).

**Анаеробна трансформация:** реакциите протичат в отсъствието на молекулен кислород (14).

**Почва:** е смес от минерални и органични химични съставки\ компоненти, които съдържат съединения с високо съдържание на въглерод и азот в тях и с високи молекулни маси, състоящи се от живи малки (предимно микро-) организми.

Почвата може да бъде третирана в две състояния:

(а) необработено, като тя се разработва с времето, в определени пластове на различните типове почви;

(б) обработено, като тя се намира обикновено в разораните площи или когато пробите са взети чрез разкопаване и се използват в този метод за изпитване (14).

**Минерализация:** е пълното разграждане на органично съединение до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O при аеробни условия, и до CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O при анаеробни условия. В контекста на този метод за изпитване, когато се използва съединение, което е маркирано с <sup>14</sup>C, минерализация означава пълното разграждане, по време на което маркиран въглероден атом се окислява, при което се отделя съответното количество <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> (14).

**Време на полу-разпад:**  $t_{0,5}$ , е времето, при което е достигната 50% трансформация на изпитвано вещество, когато трансформацията може да бъде описана чрез кинетика от първи порядък; Той не зависи от концентрацията.

**DT50 (Време на изчезване 50):** е времето, за което концентрацията на изпитваното вещество намалява с 50%; То е различно от времето на полу-разпад  $t_{0,5}$ , тъй като трансформацията не следва кинетика от първи порядък.

**DT75 (Време на изчезване 75):** е времето, за което концентрацията на изпитваното вещество намалява с 75%.

**DT90 (Време на изчезване 90):** е времето, за което концентрацията на изпитваното вещество намалява с 90%.

### 1.3 ВЕЩЕСТВА ЗА СРАВНЕНИЕ

За охарактеризиране и/ или идентифициране на продуктите от трансформацията, трябва да бъдат използвани вещества за сравнение в съответните спектроскопски и хроматографски методи.

### 1.4 ПРИЛОЖИМОСТ НА ИЗПИТВАНЕТО

Този метод е приложим за всички химични вещества (не-маркирани или с маркиран радиоактивен изотоп), за които има аналитичен метод с достатъчна точност и чувствителност. Той е приложим за слаболетливи, нелетливи, водоразтворими или водонеразтворими съединения. Изпитването не трябва да бъде прилагано за химикали, които са силно летливи при прилагане върху почви (напр. дезинфекционни средства, органични разтворители) и поради това, не биха могли да бъдат запазени в почвата при експерименталните условия на това изпитване.

### 1.5 ИНФОРМАЦИЯ ЗА ИЗПИТВАНОТО ВЕЩЕСТВО

За измерване на степента на трансформация могат да бъдат използвани не-маркирани или маркирани изпитвани вещества. Необходимо е използването на маркиран материал за проследяване на пътя на трансформация и за установяване на масовия баланс. Препоръчва се маркиране  $^{14}\text{C}$ , но употребата на други изотопи, такива като  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{32}\text{P}$ , също може да бъде от полза. Дотолкова, до колкото е възможно, етикетът трябва да бъде поставен върху най-стабилната част(и) на молекулата (1). Изпитваното вещество трябва да бъде със степен на чистота минимум 95%.

Преди извършване на изпитването за аеробна и анаеробна трансформация в почви, трябва да бъде осигурена следната информация за изпитваното вещество:

а) разтворимост във вода (Метод А.6)

б) разтворимост в органични разтворители;

в) парно налягане (Метод А.4) и константата на Хенри;

г) коефициент на съотношението n-октанол/water (метод А.8);

д) химична стабилност на тъмно (хидролиза) (метод С.7);

е) рКа, ако молекула е подложена на реакция, свързана с приемане или отнемане на протон [Ръководство на OECD 112](16). Друга полезна информация може да включва данни за токсичността на изпитваното вещество при почвените микроорганизми (Методи за изпитване С.21 и С.22)(16). Трябва да има налични аналитични методи (включително методи за екстракция и почистване) за количествено определяне и идентифициране на изпитваното вещество и неговите продукти от трансформацията.

(1) Например, ако изпитваното вещество съдържа един пръстен, се изисква маркиране на този пръстен; изпитваното вещество съдържа два или повече пръстена, може да са необходими отделни изследвания за оценяване "жизнения цикъл" на всеки маркиран пръстен, за да се придобие подходяща информация за образуването на продуктите от трансформацията.

## 1.6 ПРИНЦИП НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

Почвените проби се третират с изпитваното вещество и се инкубират на тъмно в колби биометричен вид или в проточни системи при контролирани лабораторни условия (като постоянна температура и влажност на почвата). След подходящи интервали от време, почвените проби се екстрахират и анализират за изходното вещество и за продукти от трансформацията. Летливите продукти също се събират за анализ чрез използване на подходящи абсорбционни уреди. Когато се използва материал, маркиран с  $^{14}\text{C}$ , могат да бъдат измерени различни степени на минерализация на изпитваното вещество чрез улавяне на отделяния  $^{14}\text{CO}_2$  и чрез масовия баланс, включително може да бъде установено образуването на остатъчни количества в почвата.

## 1.7 КРИТЕРИИ ЗА КАЧЕСТВО

### Възстановяване

Екстрахиране и анализиране на най-малко две почвени проби, веднага след добавяне на изпитваното вещество дава първоначална индикация за повторяемостта на аналитичния метод и за еднаквото прилагане на апликационната процедура при изпитваното вещество. Възстановяванията на по-късните етапи на експеримента се представят чрез съответните масови баланси. Възстановяванията трябва да бъдат в обхвата от 90% до 110% за маркирани химикали (8) и от 70% до 110% за не-маркирани химикали (3).

### 1.7.2 Повторяемост и чувствителност на аналитичния метод

Повторяемостта на аналитичния метод (с изключение на първоначалната екстракционна ефективност) за количествено определяне на изпитваното вещество и продуктите от трансформацията може да бъде проверена чрез дублиращи се анализи на един и същ почвен

екстракт, инкубиран достатъчно дълъг период от време, за да се образуват продукти от трансформацията. Границата на аналитичния метод за откриване (LOD) на изпитваното вещество и на продуктите от трансформацията трябва да бъде по-ниската стойност от поне 0,01 mg\*kg<sup>-1</sup> почва (като изпитвано вещество) или от 1% от приложената доза. Трябва да бъде определена също и границата за количествено определяне на метода (LOQ).

### 1.7.3 Прецизност на данните от трансформацията

Регресионният анализ на концентрациите на изпитваното вещество като функция от времето, дава подходяща информация за надеждността на кривата на трансформация и позволява да се изчислят доверителните интервали на полуразпада (в случай на псевдо кинетика от първи порядък) или стойностите на DT50 и, ако е подходящо, стойностите на DT75 и DT90.

## 1.8 ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

### 1.8.1 Оборудване и химични реагенти

Инкубационните системи са статични затворени системи или подходящи проточни системи (7)(17). На фигури 1 и 2 са показани примери на проточна апаратура, подходяща за инкубиране на почви и съответно биометричен тип колба. И двата вида инкубационни системи имат предимства и недостатъци (7)(17).

Изисква се стандартно лабораторно оборудване и по-специално:

- Аналитични инструменти, като GLC, HPLC, TLC-оборудване, включително подходяща система за откриване на анализирани, с маркиран радиоактивен изотоп или не-маркирани вещества или противоположен метод с разреждане на изотопи;
- Инструменти, използвани за целите на идентификацията (напр. MS, GC-MS, HPLC-MS, NMR, и др.);
- Течев сцинтилационен брояч (детектор);
- Окислител за изгаряне на радиоактивни материали;
- Центруфуга;
- Екстракционна апаратура (например центрофужни епруветки за студена екстракция и Soxhlet апаратура за продължително екстрахиране при нагряване с обратен хладник);
- Инструментариум за концентриране на разтвори и екстракти (напр. ротационен изпарител);
- Водна баня;
- Механично смесващо устройство (напр. месилна (разбъркваща) машина, ротационен миксер).

Като химични реагенти се използват, например:

- NaOH, аналитически чиста за анализ, 2 mol \* dm<sup>-3</sup>, или друга подходяща основа (напр. KOH, етаноламин);
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, аналитически чиста за анализ, 0,05 mol \* dm<sup>-3</sup>;
- Етилен гликол, аналитически чист за анализ;
- Твърди абсорбционни материали, такива като натронкалк (смес от натриев хидроксид и вар) и полиуретанови тапи;
- Органични разтворители, аналитически чисти за анализ, такива като ацетон, метанол и др.;
- Сцинтилационна течност.

### 1.8.2 Прилагане на веществото за изпитване

За прибавяне и разпространение в почвата, изпитваното вещество може да бъде разтворено във вода (дейониизирана или дестилирана) или, когато е необходимо, в минимални количества ацетон или други органични разтворители (6), в които изпитваното вещество е достатъчно разтворимо и стабилно. Въпреки това, количеството на избрания разтворител не трябва да оказва значително влияние върху микробната активност в почвата (виж точки 1.5 и 1.9.2-1.9.3). Трябва да се избягва употребата на такива разтворители, като хлороформ, дихлорметан и други халогенирани разтворители, които възпрепятствуват (инхибират) микробната активност. Изпитваното вещество може също да бъде добавено в твърд вид (агрегатно състояние), напр. смесено с кварцов пясък (6) или в малка подпроба от

изпитваната почва, която се суши на въздух и се стерилизира. Ако изпитваното вещество се добавя, като се използва разтворител, разтворителят трябва да може да бъде изпарен преди отделената подпроба да бъде добавена към първоначалната нестерилна почвена проба. За обикновените химикали, чийто основен път на постъпване в почвата е чрез канализационните утайки/ селско стопанска употреба, изпитваното вещество първо трябва да бъде добавено към утайката, която след това се въвежда в почвената проба (виж точки 1.9.2 и 1.9.3). Употребата на образувани продукти обикновено не се препоръчва. Въпреки това обаче, напр. при слабо разтворими изпитвани вещества, използването на новообразуван материал може да бъде подходяща алтернатива.

### 1.8.3 Почви

#### 1.8.3.1 Избор на почва

За определяне пътя (начина) на трансформацията, може да бъде използвана “представителна” почва; Препоръчва се да се използва пясъчна почва или наносна почва, или глина, или глинест пясък [съгласно класификацията на FAO и USDA (18)] с рН = 5.5-8.0, със съдържание на органичен въглерод 0,5-2,5% и с микробна биомаса най-малко 1% от общия органичен въглерод (10). За установяване степента на трансформация трябва да бъдат използвани поне три допълнителни почви, представляващи обхват от съответните почви. Почвите трябва да са с различно (вариращо) съдържание на техния органичен въглерод, рН, съдържание на глина и микробна биомаса (10). Всички почви трябва да бъдат охарактеризирани, поне по отношение на състава им (% пясък, % нанос, % глина) [съгласно класификацията на FAO и USDA (18)], рН, способност за катионен обмен, органичен въглерод, насипна плътност, способност за задържане на вода (2) и микробна биомаса (само за аеробни изпитвания). Допълнителната информация за свойствата на почвата може да бъде от полза при интерпретирането на резултатите. За определянето на характеристиките на почвата, могат да бъдат използвани методите, препоръчани в препратки (19)(20)(21)(22)(23). Микробната биомаса трябва да бъде определена чрез прилагане на метода на субстратно индуцираната респирация (SIR) (25)(26) или алтернативни методи (20).

(2) Способността на почвата да задържа вода може да бъде измерена като повърхностен капацитет или като водно налягане на всмукване (pF). За обяснение, виж приложение 1. В протоколите от изпитването трябва да бъде отчетено, дали характеристиките на почвата, свързани със способността ѝ да задържа вода и насипната ѝ плътност са определени в необработвани повърхностни проби или в обработвани (преработени) проби.

#### 1.8.3.2 Събиране, обработване и съхранение на почви

Трябва да има подробна информация за историята (миналото) на мястото в полето, от където е била събрана почвата за изпитване. Подробностите включват точно местоположение, растителна покривка, обработване с химикали, третиране с органични и неорганични торове, добавки към биологични материали или друго замърсяване. Ако почвите са третирани с изпитваното вещество или с негов структурен аналог през предходните четири години, те не трябва да бъдат използвани за изследвания на трансформацията (10)(15). Почвата трябва да бъде пряко събрана от полето (от хоризонт А или от горния 20 cm слой) с такова водно съдържание в нея, което да улеснява пресяването. За почви, различни от тези при наводнени повърхности, вземането на проби трябва да бъде избягвано през или веднага след дълги периоди (> 30 дни) на засушаване, замръзване или наводнение (14).

Почвите трябва да бъдат транспортирани по начин, който свежда до минимум загубите на водно съдържание в почвата, и трябва да бъдат държани на тъмно, при свободен достъп до въздух, толкова дълго, колкото е възможно. Обикновено слабо(хлабаво)завързан полиетиленов плик (чувал) е подходящ за тази цел. Почвата трябва да бъде използвана възможно най-бързо след вземането ѝ за проби. Растителността, по-големите почвена фауна и камъни трябва да бъдат отстранени, преди пресяването на почвата през 2 mm-во сито, чрез което се отстраняват малки камъни, фауна и растителни части. Трябва да бъде избягвано продължителното сушене и стриване на почвата преди пресяването (15). Когато вземането на почвени проби от повърхността е трудно през зимата (замръзнала почва или покрита от

пластове сняг), проба може да бъде взета от почвена партида, съхранявана в оранжерия под растителна покривка (напр. трева или смесени туфи трева-детелина). Строго се препоръчва провеждането на изпитвания с прясно събрани от полето почви, но ако събраните и обработени почви трябва да бъдат съхранявани преди започване на изпитването, условията на съхранение трябва да бъдат адекватно подбрани и съхранението да продължи само определен период от време ( $4 \pm 2$  °C за максимум три месеца) за поддържане на микробната активност (3). Подробни инструкции за събирането, обработването и съхранението на почви, които ще бъдат използвани при биотрансформационни експерименти, могат да бъдат намерени в (8)(10)(15)(26)(27). Преди преработената почва да се използва в това изпитване, трябва да бъде извършена предварителна инкубация, която ще позволи поникване и отстраняване на семената, и възстановяване на равновесието в микробния метаболизъм, изменено от вземането на пробата или условията на съхранение или инкубация. Общоприето е прединкубационният период да трае между 2 и 28 дни при приблизително поддържане на условията - температура и влажност - като тези, при реалното изпитване (15). Периодът на съхранение и прединкубационният период, заедно, не трябва да превишават три месеца.

## 1.9 ПРОВЕЖДАНЕ НА ИЗПИТВАНЕТО

### 1.9.1 Условия на изпитването

#### 1.9.1.1 Температура на изпитването

През целия период от време за провеждане на изпитването, почвите трябва да бъдат инкубирани на тъмно при постоянна температура, представителна за климатичните условия, при които ще се използва или освобождава веществото. Препоръчва се температурата да е  $20 \pm 2$  °C за всички изпитвани вещества, които може да поеме почвата при климатичните температури. Температурата трябва да бъде наблюдавана. За химикали, прилагани или освобождавани при по-студен климат (напр. в северните страни, през есенно-зимните периоди), трябва да бъдат инкубирани допълнителни почвени проби, но при по-ниска температура (напр.  $10 \pm 2$  °C).

(3) Последните резултати от изследванията показват, че почвите от температурните зони могат също да бъдат съхранявани при  $-20$  °C за повече от три месеца (28)(29) без значителни загуби на микробната активност.

#### 1.9.1.2 Съдържание на влага

При изпитвания на трансформацията при аеробни условия, трябва да бъде установено съдържанието на влага в почвата (4) и влажността да бъде поддържана при rF между 2.0 и 2.5 (3). Съдържанието на влага в почвата се изразява като маса на водата към маса на сухата почва и трябва регулярно да бъде контролирано (напр. на двуседмични интервали от време) чрез претегляне на инкубационните колби и компенсиране на водните загубите чрез добавянето на вода (за предпочитане - стерилно-филтриран водопроводен кран). Трябва да бъде отделено внимание на предотвратяването или минимизирането на загубите от изпитваното вещество и/или продуктите от трансформацията чрез изпаряване и/или фотолиза (фоторазграждане) (ако има) по време на допълнителното овлажняване. За изпитвания на трансформацията при анаеробни и наводнени условия, почвата е напоена с вода чрез наводняване.

#### 1.9.1.3 Условия за аеробно инкубиране

При проточни системи, аеробни условия ще бъдат поддържани чрез прекъсвания за продухвания или чрез продължително (непрекъснато) проветряване с влажен въздух. В биометричните колби, обменът на въздух се поддържа чрез дифузия.

#### 1.9.1.4 Стерилни аеробни условия

За да се получи информация за съответствието на абиотичната трансформация на изпитвано вещество, почвените проби могат да бъдат стерилизирани (за методи за стерилизация, виж препратки 16 и 29), третирани със стерилизираното изпитвано вещество (напр. добавяне на разтвор през стерилен филтър) и аерирани с овлажнен стерилен въздух, както е описано в точка 1.9.1.3. За наводнени почви, почвата и водата трябва да бъдат стерилизирани и инкубацията трябва да бъде проведена, както е описано в точка 1.9.1.6.

#### 1.9.1.5 Условия за анаеробно инкубиране

За създаване и поддържане на анаеробни условия, почвата, третирана с изпитваното вещество и инкубирана при аеробни условия в продължение на 30 дни или едно време на полуразпад, или DT50 (което е по-кратко) е в 1-3 cm воден слой и инкубационната система се продухва с инертен газ (напр. азот или аргон) (5). Системата за изпитване трябва да позволява измервания на рН, концентрацията на кислород и редоксипотенциала, както и да включва улавящо устройство за летливите продукти. Биометричният вид система трябва да е затворена, за да се избегне проникването на въздух чрез дифузия.

#### 1.9.1.6 Условия за инкубиране при наводняване

За проучване на трансформацията в наводнени оризови почви, почвата се наводнява с воден слой, който е с дебелина около 1-5 cm и изпитваното вещество се прилага във водната фаза (9). Препоръчва се почвата да е с дълбочина поне 5 cm. Системата се проветрява с въздух, както при аеробните условия. рН, концентрацията на кислород и редоксипотенциала на водния слой трябва да бъдат наблюдавани и отчитани. Необходимо е да има поне две седмици пред-инкубационен период, преди започването на трансформационните изпитвания (виж точка 1.8.3.2).

#### 1.9.1.7 Продължителност на изпитването

Продължителността (степената и пътя на протичане) на изпитването обикновено не трябва да превишава 120 дни (6)(3)(6)(8), тъй като след това трябва да се очаква понижаване във времето на почвената микробна активност в изкуствено създадената лабораторна система, която е изолирана от естествено допълване. Когато е необходимо за охарактеризиране намаляването на изпитваното вещество и образуването и намаляването на основните продукти от трансформацията, изпитванията могат да бъдат продължени за по-дълъг период от време (напр. 6 или 12 месеца) (8). По-дългите инкубационни периоди трябва да бъдат обосновани в протокола от изпитването и придружени от измервания на биомасата по време и в края на тези периоди.

(4) Почвата не трябва да бъде нито твърде влажна, нито прекалено суха, за да се поддържат подходящи аерация и хранене на почвената микрофлора. Препоръчва се съдържанието на влага в почвата за оптимален микробиален растеж да е в обхват от 40-60% за способността за задържане на вода (WHC) и от 0.1-0.33 bar (6). Последният (от двата) обхват е еквивалентен на рF- обхвата от 2.0 – 2.5. Характерните стойности на влажността на различните видове почви са посочени в приложение 2.

(5) Аеробните условия са доминиращи при повърхностни почви и дори при почви под повърхността, както е показано в един изследователски проект, финансиран от EU [K. Takagi et al. (1992). Microbial diversity and activity in subsoils: Methods, field site, seasonal variation in subsoil temperatures and oxygen contents. Proc. Internat. Symp. Environm. Aspects Pesticides Microbiol., 270-277, 17-21 August 1992, Sigtuna, Sweden]. Анаеробни условия могат да възникнат само от време на време (случайно) при наводнение на почвите след тежки проливни валежи от дъжд или когато се създадат наводнени условия в оризовите полета.

(6) Аеробни изпитвания могат да бъдат приключени в този момент (много преди осигурения 120-дневен период), при който ясно се констатира, че са достигнати крайния път на трансформиране и окончателната минерализация. Приключване на изпитването е възможно след 120 дни или при най-малко 90%-на трансформация на изпитваното вещество, но само когато се е образувал най-малко 5% CO<sub>2</sub>.

#### 1.9.2 Провеждане на изпитването

Около 50 до 200 g почва (на база сухо тегло) се поставят във всяка инкубационна колба (виж фигури 1 и 2 на приложение 3) и почвата се третира с изпитваното вещество по един от методите, описани в точка 1.8.2. Когато за апликиране на изпитваното вещество се използват органични разтворители, те трябва да бъдат отстранени от почвата чрез изпаряване. Тогава почвата се смесва напълно, като за това се използва шпатула и/или чрез разклащане на колбата. Ако изпитването се провежда при наводнени повърхностни условия, почвата и водата трябва да бъдат напълно смесени след прилагането на изпитваното вещество. За да се провери за хомогенното разпределение на изпитваното вещество, трябва да бъдат анализирани малки аликвоти (напр. 1 g) от третираните почви за изпитваното

вещество. За алтернативен метод виж по-долу. Нивото на третиране трябва да съответствува на най-високото апликационно ниво на продукт за защита на зърнените култури, препоръчвано в инструкциите за употреба и по един и същ начин инкорпорирано на подходяща дълбочина в полето (напр. най-горния 10 cm почвен слой (7)). Например, за химикали, прилагани върху листата или в почвата без инкорпориране (смесване), подходящата дълбочина за изчисляване количеството химикал, което трябва да бъде добавено във всяка колба, е 2,5 cm. За инкорпорирани в почвата химикали, подходящата дълбочина е определената в инструкциите за употреба дълбочина за инкорпориране. За обикновени химикали, апликационното ниво трябва да бъде оценено въз основа на най-подходящия път за въвеждане; например, когато основният път на постъпване в почвата е чрез канализационните утайки, химикалът трябва да бъде дозиран в утайката с такава концентрация, която да рефлектира върху очакваната концентрация на утайката и количеството на утайката, добавено към почвата, трябва да се отрази (да повлияе) нормално на земеделските почви. Ако тази концентрация не е достатъчно висока за идентифицирането на основните продукти от трансформацията, може да бъде от полза инкубирането на отделни почвени проби, съдържащи по-високи нива, като крайните нива, влияещи на микробните функции на почвата, трябва да бъдат избягвани (виж точки 1.5 и 1.8.2). Алтернативно, поголеми партии почва (т.е. 1 до 2 kg) могат да бъдат третирани с изпитваното вещество, след внимателно смесване в подходящо смесително устройство и в последствие прехвърляне на малки порции от 50 до 200 g в инкубационните колби (например с използването на разделител на пробите). Малки аликвоти /аликвотни части/ (напр. 1 g) от третираната почвена партида трябва да се анализират за изпитваното вещество, за да се провери еднородното му разпределение. Предпочита се тази процедура, тъй като позволява по-равномерно (по-хомогенно) разпределение на изпитваното вещество в почвата. Така също, нетретирани почвени проби се инкубират при същите условия (аеробни), както пробите, третирани с изпитваното вещество. Тези проби се използват за измерване на биомасата по време на и в края на изпитванията. Когато изпитваното вещество се прилага в почвата, разтворено в органичен разтворител(и), почвените проби, третирани със същото количество разтворител(и), се инкубират при същите условия (аеробни), както пробите, третирани с изпитваното вещество. Тези проби се използват за измерване на биомасата в началото, по време на и в края на изпитванията, за да се провери влиянието на (ефектите от) разтворителя(ите) върху микробната биомаса. Колбите, съдържащи третирани почви, се прикрепят към проточната система, описана във фигура 1 или се затварят в абсорбционната колона, показана на фигура 2 (виж приложение 3).

### 1.9.3 Вземане на проби и измервания

Колби с дублираща се инкубация се изваждат на подходящи интервали от време и почвените проби се екстрахират с подходящи разтворители с различен поляритет и се анализират за изпитваното вещество и/ или продуктите от трансформацията. Добре подготвеното (проектираното) изпитване включва достатъчно колби, така че две колби да бъдат "пожертвувани" при експеримента с всяка проба. Така също, абсорбционните разтвори или твърдите абсорбционни материали се отстраняват на различни интервали от време (7-дневни интервали през първия месец и след един месец на 17- дневни интервали) по времето и в края на инкубацията на всяка почвена проба и анализирани за летливи продукти. Освен почвена проба, взета директно (проба от 0-ев ден), трябва да бъдат включени поне 5 допълнителни пробоотборни точки.

(7) Началната концентрация се изчислява въз основа на следното уравнение:

$$C_{soil}[mg/kg_{soil}] = \frac{A[kg/ha] \cdot 10^6 [mg/kg]}{l[m] \cdot 10^4 [m^2/ha] \cdot d[kg_{soil}/m^3]}$$

$C_{soil}$  = Начална концентрация в почвата [ $mg \cdot kg^{-1}$ ]

A = Апликационно ниво [ $kg \cdot ha^{-1}$ ]; l = дебелина на почвения слой на полето [m]; d = насипна плътност на суха почва [ $kg \cdot m^{-3}$ ].

Практическо правило е за получаване на резултати е, прилагане на апликационно ниво от 1 kg\*ha-1 при концентрации в почвата приблизително 1 mg\*kg-1 в 10 cm слой (приема се насипна плътност от 1 g \* cm-3).

Времеви интервали трябва да бъдат по такива, че да могат да бъдат определени моделите на запазване на изпитваното вещество и моделите на образуване и запазване на продуктите от трансформацията (напр. 0, 1, 3, 7 дни; 2, 3 седмици; 1, 2, 3 месеца, т.н.). Когато се използва изпитвано вещество, маркирано с <sup>14</sup>C, не- екстрахируемата радиоактивност ще бъде количествено определена чрез изгаряне и за всеки интервал за проба ще бъде изчислен масов баланс. В случай на анаеробна и инкубация при наводнение, почвената и водната фази се анализират заедно за изпитваното вещество и продукти от трансформацията или по отделно чрез филтриране или центрофугиране преди екстрахиране и анализиране.

#### 1.9.4 Възможни (незадължителни) изпитвания

За оценка на влиянието на температурата и влагата на почвата върху степените на трансформация на изпитвано вещество и/ или негови продукти от трансформация в почвата, може да бъде от полза провеждането на аеробни, нестерилни изпитвания при допълнителни температури и влажности на почвата. За по-нататъшно охарактеризиране на неекстрахируемата радиоактивност, например може да бъде използвана свръхкритична течна екстракция.

## 2. ДАННИ

### 2.1 ОБРАБОТВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Количествата на изпитваното вещество, продуктите от трансформацията, летливите вещества (само в %) и неекстрахираните остатъци трябва да бъдат представени като % от приложената начална концентрация и, където е подходящо, като mg\*kg-1 почва (основана на сухо претеглена почва) за всеки интервал на проба. Трябва да бъде представен масов баланс като процент на приложената начална концентрация за всеки интервал на проба. Графичното представяне на концентрациите на изпитваното вещество спрямо времето ще позволи да се направи оценка на времето за достигане на неговия полуразпад при трансформацията или на DT50. Основните продукти от трансформацията трябва да бъдат идентифицирани и техните концентрации също трябва да бъдат графично нанесени спрямо времето, за да се установят техните степени на образуване и задържане. Основен продукт от трансформацията е всеки продукт, представляващ  $\geq 10\%$  от приложената доза във всеки момент по време на изпитването. Уловените летливи продукти дават някои индикации за потенциалната летливост на изпитваното вещество и неговите продукти от трансформацията в почвата. По-точно определяне на стойностите на времето за полуразпад или DT50 и, ако е подходящо, трябва да бъдат включени стойностите на DT75 и DT90, чрез прилагане на подходящ кинетичен модел при изчисленията. Стойностите на времето за полуразпад или DT50 трябва да бъдат отчетени при едновременно (заедно с) описание на използвания модел, кинетиката от първи порядък и определящия коефициент ( $r_2$ ). Предпочита се кинетиката от първи порядък, освен ако  $r_2 < 0,7$ . Ако е подходящо, изчисления трябва да се направят и за основните продукти от трансформацията. Примери на подходящи модели са описани в препратки от 31 до 35. В случай на изпитвания, проведени при различни температури, степените на трансформация трябва да бъдат описани като функция на температурата в експерименталния температурен обхват с използването на Арениусовата зависимост по формулировката:

$$k = A \cdot e^{-B/T} \quad \text{или} \quad \ln k = \ln A - \frac{B}{T}$$

където  $\ln A$  и  $B$  са регресионни константи на пресичане и наклон, респективно, на най- добра свързваща линия, произхождаща от линейната регресия  $\ln k$  спрямо  $1/T$ ,  $k$  е скоростна константа при температура  $T$  и  $T$  е температура по Келвин. Трябва да бъде обърнато внимание на граничния температурен интервал, в който ще бъде валидна Арениусовата зависимост при случаите на трансформация, управлявана от микробната дейност.



## 2.2 ОЦЕНЯВАНЕ И ИНТЕРПРЕТИРАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Въпреки че изпитванията се провеждат в изкуствена лабораторна система, резултатите ще позволят да се оцени степента на трансформация на изпитваното вещество, а така също и степента на образуване и устойчивост на продуктите от трансформацията при условията на експеримента (36)(37). Проучването на пътя на трансформацията осигурява информация за начина, по който, чрез химични и микробни реакции, приложеното вещество структурно се изменя в почвата

## 3. ОТЧИТАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

### 3.1 ПРОТОКОЛ ОТ ИЗПИТВАНЕТО

Протоколът от изпитването трябва да включва:

Изпитвано вещество:

- търговско наименование, химично наименование, CAS номер, структурна формула (показваща положението на етикета(ите), когато се използва материал с маркиран радиоактивен изотоп) и съответните физико- химични свойства (виж точка 1.5);
- степен на чистота (примеси) на изпитваното вещество;
- радиохимична степен на чистота на маркирания химикал и специфична активност (където е подходящо);

Вещества за сравнение:

- химично наименование и структура на веществата за сравнение, използвани за охарактеризиране и/ или идентифициране на продукт от трансформацията;

Изпитвани почви:

- подробности за местата, от които са събирани;
- дата и процедура за вземане на почвени проби;
- свойства на почвите, такива като рН, съдържание на органичен въглерод, състав (% пясък, % наноси, % глина), способност за катионен обмен, насипна плътност, способност за задържане на вода и микробна биомаса;
- продължителност на периода на съхраняване на почвата и условия на съхранение (ако се съхранява);

Условия на изпитването:

- дати на провеждане на експериментите;
- приложеното количество на изпитваното вещество;
- използвани разтворители и метод за апликиране на изпитваното вещество;
- тегло на първоначално третираната почва и на почвените проби при всеки интервал за анализ;
- описание на използваната инкубационна система;
- нива на въздушния поток (само за проточни системи);
- температура на експерименталната постановка;
- съдържание на влага в почвата през периода на инкубиране;
- микробна биомаса в началото, по време и в края на аеробните изпитвания;
- рН, концентрация на кислорода и редоксипотенциал в началото, по време и в края на анаеробните и изпитвания при наводняване;
- метод(и) на екстрахиране;
- методи за количествено определяне и идентифициране на изпитваното вещество и основните продукти от трансформацията в почва и абсорбционни материали;
- брой на репликите и брой на контролите.

Резултати:

- резултати от определянето на микробната активност;
- повторяемост и чувствителност на използваните аналитични методи;
- степени на възстановяване (%стойности за валиден експеримент са посочени в точка 1.7.1);

- таблици с резултати, изразени като % от приложената първоначална доза и, където е подходящо, като mg\*kg-1 почва (въз основа на сухо тегло);
- масов баланс по време на и в края на изпитванията;
- охарактеризиране на не-екстрахируемата (гранична) радиоактивност или остатъци в почвата;
- количествено определяне на отделения CO<sub>2</sub> и на други летливи съединения;
- диаграми на концентрациите в почвата спрямо времето за изпитваното вещество и, където е подходящо, за основните продукти от трансформацията;
- време на полуразпад или DT50, DT75 и DT90 за изпитваното вещество и, където е подходящо, за основните продукти от трансформацията, включително доверителни интервали;
- оценка на степента на абиотично разграждане при стерилни условия;
- оценка на кинетиката на трансформацията на изпитваното вещество и, където е подходящо, на основните продукти от трансформацията;
- предлагани пътища на трансформация, където е подходящо;
- обсъждане и интерпретиране на резултатите;
- “сурови” (необработени) данни (напр. хроматограми на пробите, примерни изчисления на степените на трансформация и използваните средства за идентифициране на продуктите от трансформацията).

#### 4. ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА

- (1) US- Environmental Protection Agency (1982). Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision N. Chemistry: Environmental Fate.
- (2) Agriculture Canada (1987). Environmental Chemistry and Fate. Guidelines for registration of pesticides in Canada.
- (3) European Union (EU) (1995). Commission Directive 95/36/EC of 14 July 1995 amending Council Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market. Annex II, Part A and Annex III, Part A: Fate and Behaviour in the Environment.
- (4) Dutch Commission for Registration of Pesticides (1995). Application for registration of a pesticide. Section G: Behaviour of the product and its metabolites in soil, water and air.
- (5) BBA (1986). Richtlinie für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln, Teil IV, 4-1. Verbleib von Pflanzenschutzmitteln im Boden - Abbau, Umwandlung und Metabolismus.
- (6) ISO/DIS 11266-1 (1994). Soil Quality -Guidance on laboratory tests for biodegradation of organic chemicals in soil - Part 1 : Aerobic conditions.
- (7) ISO 14239 (1997). Soil Quality – Laboratory incubation systems for measuring the mineralization of organic chemicals in soil under aerobic conditions.
- (8) SETAC (1995). Procedures for Assessing the Environmental Fate and Ecotoxicity of Pesticides. Mark R. Lynch, 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) Annex V to Dir. 67/548/EEC.

- (17) Guth, J.A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. In *Progress in Pesticide Biochemistry*. D.H. Hutson, T.R. Roberts, Eds. J. Wiley & Sons. Vol 1, 85-114.
- (18) Soil Texture Classification (US and FAO systems): *Weed Science*, 33, Suppl. 1 (1985) 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 № 9, 2nd Edition.
- (20) *Methods of Soil Analysis* (1982). Part 2, Chemical and Microbiological Properties. A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keelney, Eds. Agronomy Series № 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) Мьckenhausen, E. (1975). *Die Bodenkunde und ihre geologischen, geomorphologischen, mineralogischen und petrologischen Grundlagen*. DLG-Verlag, Frankfurt, Main.
- (23) Scheffer, F., Schachtschabel, P. (1975). *Lehrbuch der Bodenkunde*. F. Enke Verlag, Stuttgart.
- (24) Anderson, J.P.E., Domsch, K.H. (1978) A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.* 10, 215-221.
- (25) ISO 14240-1 and 2 (1997). *Soil Quality - Determination of soil microbial biomass - Part 1: Substrate-induced respiration method. Part 2: fumigation-extraction method*.
- (26) Anderson, J.P.E. (1987). Handling and storage of soils for pesticide experiments. In *Pesticide Effects on Soil Microflora*. L. Somerville, M.P. Greaves, Eds. Taylor & Francis, 45-60.
- (27) Kato, Yasuhiro. (1998). Mechanism of pesticide transformation in the environment: Aerobic and biotransformation of pesticides in aqueous environment. *Proceedings of the 16th Symposium on Environmental Science of Pesticide*, 105-120.
- (28) Keuken O., Anderson J.P.E. (1996). Influence of storage on biochemical processes in soil. In *Pesticides, Soil Microbiology and Soil Quality*, 59-63 (SETAC-Europe).
- (29) Stenberg B., Johansson M., Pell M., Sjudahl-Svensson K., Stenstrom J., Torstensson L. (1996). Effect of freeze and cold storage of soil on microbial activities and biomass. In *Pesticides, Soil Microbiology and Soil Quality*, 68-69 (SETAC-Europe).
- (30) Gennari, M., Negre, M., Ambrosoli, R. (1987). Effects of ethylene oxide on soil microbial content and some chemical characteristics. *Plant and Soil* 102, 197-200.
- (31) Anderson, J.P.E. (1975). Einfluss von Temperatur und Feuchte auf Verdampfung, Abbau und Festlegung von Diallat im Boden. *Z. PflKrankh Pflschutz, Sonderheft VII*, 141-146.
- (32) Hamaker, J.W. (1976). The application of mathematical modelling to the soil persistence and accumulation of pesticides. *Proc. BCPC Symposium: Persistence of Insecticides and Herbicides*, 181- 199.
- (33) Goring, C.A.I., Laskowski, D.A., Hamaker, J.W., Meikle, R.W. (1975). Principles of pesticide degradation in soil. In "Environmental Dynamics of Pesticides". R. Haque and V.H. Freed, Eds., 135- 172.
- (34) Timme, G., Frehse, H., Laska, V. (1986). Statistical interpretation and graphic representation of the degradational behaviour of pesticide residues. II. *Pflanzenschutz - Nachrichten Bayer* 39, 188-204.
- (35) Timme, G., Frehse, H. (1980). Statistical interpretation and graphic representation of the degradational behaviour of pesticide residues. I. *Pflanzenschutz - Nachrichten Bayer* 33, 47-60.
- (36) Gustafson D.I., Holden L.R. (1990). Non-linear pesticide dissipation in soil; a new model based on spatial variability. *Environm. Sci. Technol.* 24, 1032-1041.
- (37) Hurle K., Walker A. (1980). Persistence and its prediction. In *Interactions between Herbicides and the Soil* (R.J. Hance, Ed.), Academic Press, 83-122.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

**ВОДНО НАЛЯГАНЕ, ПОВЪРХНОСТЕН КАПАЦИТЕТ (FC) И СПОСОБНОСТ ЗА ЗАДЪРЖАНЕ НА ВОДА (WHC) (1)**

Височина на водния стълб [cm]	pF (a)	bar (b)	Забележки
$10^7$	7	$10^4$	Суша почва
$1,6 \cdot 10^4$	4,2	16	Точка на сушене
$10^4$	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	} Обхват на повърхностния капацитет (d)
60	1,8	0,06	
33	1,5	0,033	
10	1	0,01	WHC (приближение)
1	0	0,001	Водооросявана почва

(a) pF =  $\log$  на cm воден стълб.

(б) 1 bar = 10<sup>5</sup> Pa.

(в) Съответствува на приблизително водно съдържание от 10% в пясък, 35% в почва и 45% в глина.

(г) Повърхностният капацитет не е константа, а варира с различните типове почва между pF 1.5 и 2.5.

*Водно налягане* се измерва в cm воден стълб или в bar. Във връзка с по-големия обхват на налягането на всмукване, то се изразява просто като стойност на pF, която е еквивалентна на логаритъма от cm на водния стълб.

*Повърхностният капацитет* (FC) се определя като количеството вода, което може да бъде запазено 2 дни след по-дълъг дъждовен период или достатъчно напояване, спрямо притеглянето от естествената почва (в природата). Той се определя за необработена почва *in situ* на повърхността. Измерването е неприложимо за обработени лабораторно почвени проби. Стойностите на FC, определени при обработени почви, могат да покажат големи систематични отклонения.

*Способност за задържане на вода* (WHC) - определя се в лабораторни условия с необработени и обработени почви чрез насищане на почвата в колоната с вода, пренасяна по капилярен път. Тя е особено важна при обработени почви и може да бъде до 30% по-голяма от повърхностния капацитет (1). А така също, експериментално по-лесно е да се определят такива достоверни стойности на FC.

(1) Мьскенхаузен, Е. (1975). Die Bodenkunde und ihre geologischen, geomorphologischen, mineralogischen und petrologischen Grundlagen. DLG-Verlag, Frankfurt, Main.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 2

### СЪДЪРЖАНИЯ НА ВЛАГА В ПОЧВАТА (g вода за 100 g суха почва) ПРИ РАЗЛИЧНИТЕ ВИДОВЕ ПОЧВА ОТ РАЗЛИЧНИ СТРАНИ

Съдържание на влага в почвата	Намира се в	Тип почва от страна		
		WHC (1)	pF = 1,8	pF = 2,5
Пясък	Германия	28,7	8,8	3,9
Глинест пясък	Германия	50,4	17,9	12,1
Глинест пясък	Швейцария	44,0	35,3	9,2
Наносна почва	Швейцария	72,8	56,6	28,4
Глинеста почва	Бразилия	69,7	38,4	27,3
Глинеста почва	Япония	74,4	57,8	31,4
Пясъчна почва	Япония	82,4	59,2	36,0
Наносна почва	САЩ	47,2	33,2	18,8
Пясъчна почва	САЩ	40,4	25,2	13,3

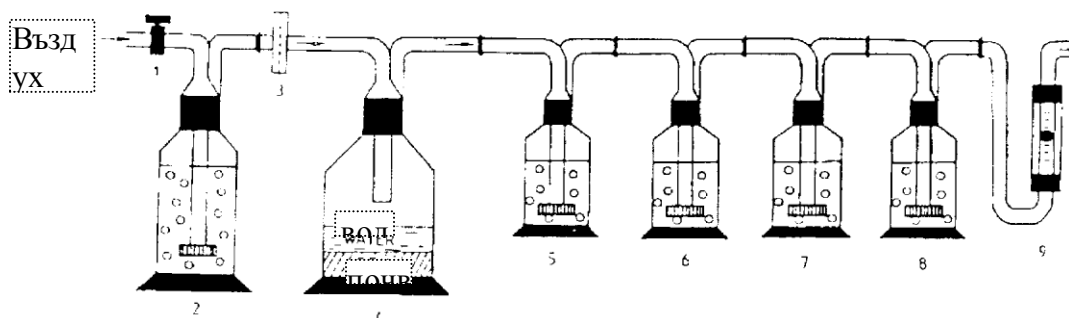
(1) Способност за задържане на вода

## ПРИЛОЖЕНИЕ 3

### Фигура 1

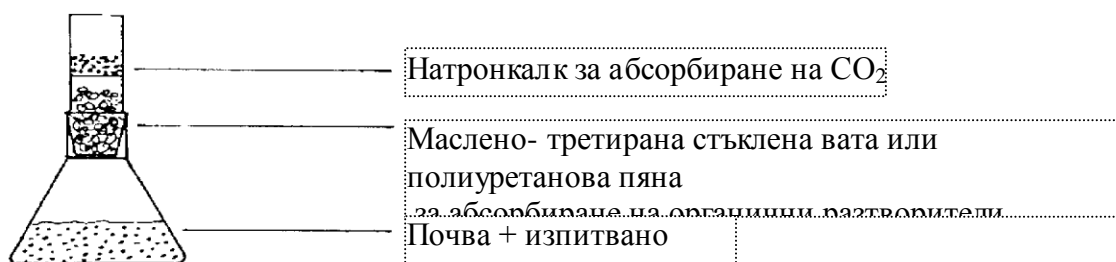
Пример за проточна апаратура за изследване на трансформацията на химикали в почва (1)(2)

- 1: иглен вентил
- 2: газопромиваща бутилка, съдържаща вода
- 3: ултрамембрана (само при стерилни условия), с размер на порите 0,2  $\mu\text{m}$
- 4: колба за почвения метаболизъм (само при анаеробни и условия при наводняване;)
- 5: етилен гликол за улавяне на органични летливи съединения
- 6: сярна киселина за улавяне на алкални летливи съединения
- 7, 8: натриев хидроксид за улавяне на  $\text{CO}_2$  и други киселинни летливи съединения
- 9: разходомер (дебитомер).



### Фигура 2

Пример за биометричен вид колба за изследване на трансформацията на химикали в почва (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.

16.6.2004 EN Official Journal of the European Union L 216/295

## С.24. АЕРОБНА И АНАЕРОБНА ТРАНСФОРМАЦИЯ ВЪВ ВОДНИ СЕДИМЕНТНИ СИСТЕМИ

### 1. МЕТОД

Този метод е идентичен с OECD TG 308 (2002).

#### 1.1 ВЪВЕДЕНИЕ

Химикалите могат да се попаднат в плитчините или дълбоко под водната повърхност по такива пътища на постъпване, като директно прилагане, впръскване, изливане, дренаж, депониране на отпадъци, промишлени, битови или земеделски отпадъчни води и атмосферно отлагане. Този метод за изпитване описва лабораторен метод за оценка на аеробната и анаеробна трансформация на органични химикали във водни седиментни системи. Той се основава на съществуващите ръководства (1)(2)(3)(4)(5)(6). Семинарът на OECD за избор на почви и седименти, проведен в Belgirate, Италия през 1995 г. (7), приема конкретно, броя и вида на седиментите, използвани при това изпитване. Той също дава препоръки, свързани със събирането, обработването и съхранението на седиментните проби, основани на Ръководството на ISO (8). Такива изпитвания се изисква да бъдат проведени за химикали, които директно се прилагат във водата или които има вероятност да достигнат водната среда по някой от описаните по-горе пътища. Често условията в естествената водна седиментна система са аеробни в по-горната водна фаза. Повърхностният слой на седимента може да бъде или аеробен, или анаеробен, докато по-дълбокият седимент обикновено е анаеробен. За да се обхванат всички тези възможности, в този метод са описани и аеробни, и анаеробни изпитвания. Аеробното изпитване симулира аеробна водна колона над аеробен седиментен слой, който е с анаеробен градиент. Анаеробното изпитване симулира затворена анаеробна водноседиментна система. Ако обстоятелствата показват, че е необходимо значително отклонение от тези препоръки, например поради използване на цели седименти или седименти, които могат да бъдат експозирани с изпитваното вещество, за целта се използват други налични методи (9).

#### 1.2 ОПРЕДЕЛЕНИЯ

При всички случаи трябва да бъдат използвани международните стандартни единици (SI).

**Изпитвано вещество:** всяко вещество, независимо от това, дали е изходно съединение или съответен продукт от трансформацията.

**Продукти от трансформацията:** всички вещества, получени в резултат на реакциите при биотични и абиотични трансформации на изпитваното вещество, включително CO<sub>2</sub> и крайните остатъци.

**Крайни остатъци:** “Крайни остатъци” представляват съединения в почвата, растенията или животните, които остават в матрицата под формата на изходно вещество или негов метаболит(и) след екстракциите. Методът за екстрахиране не трябва съществено да изменя самите съединения или структурата на матрицата. Би могло донякъде (частично) да се изясни природата на връзката чрез прилагане на екстракционни методи с промяна на матрицата и на сложни аналитични техники. Например, по този начин се идентифицират ковалентни йонни и сорбционни връзки, а така също и включванията (примеси). Най-общо, образуването на крайни остатъци намалява значително биологичния достъп и биологичната наличност (10) [изменено от IUPAC 1984 (11)].

**Аеробна трансформация:** (окисление): реакциите протичат в присъствието на молекулен кислород (12).

**Анаеробна трансформация:** (редукция) реакциите протичат в отсъствието на молекулен кислород (12).

**Природни води:** са повърхностните води от езера, реки, потоци и др.

**Седимент:** е смес от минерални и органични химични съставки/ инградиенти, които съдържат съединения с високо съдържание на въглерод и азот в тях и са с високи молекулни маси. Той се отлага от природните води и формира граница с тях.

**Минерализация:** е пълното разграждане на органично съединение до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  при аеробни условия, и до  $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  при анаеробни условия. В контекста на този метод за изпитване, когато се използва съединение, с маркиран радиоактивен изотоп, минерализация означава пълното разграждане на молекулата, по време на което маркиран въглероден атом се окислява или редуцира количествено, в следствие на което се отделя съответното количество  $^{14}\text{CO}_2$  или съответно  $^{14}\text{CH}_4$ .

**Време на полу-разпад:**  $t_{0,5}$ , е времето, при което е достигната 50% трансформация на изпитвано вещество, когато трансформацията може да бъде описана чрез кинетика от първи порядък (клас); То не зависи от началната концентрация.

**DT50 (Време на изчезване 50):** е времето, за което началната концентрация на изпитваното вещество намалява с 50%;

**DT75 (Време на изчезване 75):** е времето, за което началната концентрация на изпитваното вещество намалява с 75%.

**DT90 (Време на изчезване 90):** е времето, за което началната концентрация на изпитваното вещество намалява с 90%.

### 1.3 ВЕЩЕСТВА ЗА СРАВНЕНИЕ

За количествено определяне и идентифициране на продуктите от трансформацията, трябва да бъдат използвани вещества за сравнение в съответните спектроскопски и хроматографски методи.

### 1.4 ИНФОРМАЦИЯ ЗА ИЗПИТВАНОТО ВЕЩЕСТВО

За измерване на степента на трансформация могат да бъдат използвани не-маркирани изпитвани вещества или такива с маркирани изотопи, въпреки че се предпочита маркиран материал. Необходимо е използването на маркиран материал за проследяване на пътя на трансформация и за установяване на масовия баланс. Препоръчва се маркиране  $^{14}\text{C}$ , но употребата на други изотопи, такива като  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{32}\text{P}$ , също може да бъде от полза. Дотолкова, до колкото е възможно, етикетът трябва да бъде поставен върху най-стабилната част(и) на молекулата (1). Изпитваното вещество трябва да бъде с химична и/ или радиохимична степен на чистота минимум 95%.

Преди провеждане на изпитване, трябва да бъде осигурена следната информация за изпитваното вещество:

- (а) разтворимост във вода (Метод А.6)
- (б) разтворимост в органични разтворители;
- (в) парно налягане (Метод А.4) и константата на Хенри;
- (г) коефициент на съотношението n-октанол/water (Метод А.8);

- (д) адсорбционен коефициент ( $K_d$ ,  $K_f$  или  $K_{oc}$ , където е възможно) (Метод С.18); (f) хидролиза (Метод С.7);
- (е) дисоциационна константа ( $pK_a$ ) [Насока на OECD 112] (13);
- (ж) химична структура на изпитваното вещество и положение на етисетирания(те) изотоп(и), ако има.

*Забележка:* Трябва да бъде отчетена температурата, при която са направени тези измервания. Друга полезна информация може да включва данни за токсичността на изпитваното вещество към микроорганизмите, данни за действителната и/или наследствената способност за биоразграждане и данни за аеробната и анаеробната трансформация в почвата. Трябва да има налични аналитични методи (включително методи за екстракция и почистване) за количествено определяне и идентифициране на изпитваното вещество и неговите продукти от трансформацията във вода и в седимент (виж точка 1.7.2).

### 1.5 ПРИНЦИП НА МЕТОДА ЗА ИЗПИТВАНЕ

Методът, описан в това изпитване, използва аеробна и анаеробна водна седиментна система (виж приложение 1), която позволява:

- (i) измерването на нивото на трансформация на изпитваното вещество във водноседиментна система,
- (ii) измерването на нивото на трансформация на изпитваното вещество в седимента,

(1) Например, ако веществото съдържа един пръстен, се изисква маркиране на този пръстен; ако изпитваното вещество съдържа два или повече пръстена, за оценяване на “жизнения цикъл” на всеки маркиран пръстен, може да бъде необходимо пронеждане на отделни изпитвания, за да се получи подходяща информация за образуването на продуктите от трансформацията.

(iii) измерването на степента на минерализация на изпитваното вещество и/или неговите продукти от трансформацията (когато се използва изпитвано вещество, маркирано с  $^{14}C$ ),

(iv) идентифициране и количествено определяне на продуктите от трансформацията във водната и седиментната фази, в това число масов баланс (когато се използва маркирано вещество),

(v) измерването на разпределението на изпитваното вещество и неговите продукти от трансформацията между двете фази през периода на инкубиране на тъмно (да се избягват, например, цветове от морски водорасли) при постоянна температура. Стойностите на времената на полуразпадите,  $DT_{50}$ ,  $DT_{75}$  и  $DT_{90}$  се определят, когато данните се потвърждават, но не трябва да бъдат екстрапулирани дълго след експерименталния период (виж точка 1.2). Най-малко два седимента и свързаните с тях води са необходими за аеробните, и респективно за анаеробните изпитвания (7). Въпреки това, може да има случаи, при които да бъдат използвани повече от два водни седимента, например, при химикал, който може да присъствува в сладководни води и/или в морска среда.

### 1.6 ПРИЛОЖИМОСТ НА ИЗПИТВАНЕТО

Този метод е общоприложим за химичните вещества (не-маркирани или маркирани), за които има аналитичен метод с достатъчна точност и чувствителност. Той е приложим за слаболетливи, нелетливи, водоразтворими или слабо-разтворими във вода съединения. Изпитването не трябва да бъде прилагано за химикали, които при контакт с вода стават силно летливи (напр. опушващи средства, органични разтворители) и поради това, не биха могли да бъдат запазени във водата и/или седимента при експерименталните условия на това изпитване. Методът се прилага и за проучване на трансформацията на химикалите в сладководни води и седименти, но по принцип също може да бъде приложен за естуарни/морски системи. Той не е подходящ за симулиране условията в течащи води (напр. реки) или открито море.

### 1.7 КРИТЕРИИ ЗА КАЧЕСТВО

Възстановяване



Екстрахиране и анализиране на най-малко две водни и седиментни проби, веднага след добавяне на изпитваното вещество дават първоначална индикация за повторемостта на аналитичния метод и за еднаквото прилагане на апликационната процедура при изпитваното вещество. Възстановяванията на по-късните етапи на експеримента се представят чрез съответните масови баланси (когато се използва маркиран манериал). Възстановяванията трябва да бъдат в обхвата от 90% до 110% за маркирани химикали (6) и от 70% до 110% за не-маркирани химикали.

### 1.7.2 Повторемост и чувствителност на аналитичния метод

Повторемостта на аналитичния метод (с изключение на първоначалната екстракционна ефективност) за количествено определяне на изпитваното вещество и продуктите от трансформацията може да бъде проверена чрез дублиращи се анализи на едни и същи водни или седиментни проби, които са били инкубирани достатъчно дълго време, за да се образуват продуктите от трансформацията. Границата на аналитичния метод за откриване (LOD) на изпитваното вещество и на продуктите от трансформацията трябва да бъде поне 0,01 mg\*kg<sup>-1</sup> във вода или в седимент (като изпитвано вещество) или 1% от началното количество, приложено на системата за изпитване разглежда се стойността, която е по ниска. Трябва да бъде определена също и границата за количествено определяне на метода (LOQ).

### 1.7.3 Прецизност на данните от трансформацията

Регресионният анализ на концентрациите на изпитваното вещество като функция от времето, дава подходяща информация за надеждността (прецизността) на кривата на трансформация и позволява да се изчислят доверителните интервали на полуразпада (ако се прилага псевдокинетика от първи клас (порядък) или стойностите на DT50 и, ако е подходящо, стойностите на DT75 и DT90.

## 1.8 ОПИСАНИЕ НА МЕТОДА

### 1.8.1 Система и апаратура за изпитването

Изпитването трябва да бъде провеждано в стъклени контейнери (напр. бутилки, центрофужни епруветки), освен ако предварително известната информация (такава като коефициента на съотношението n-октанол-вода, сорбционните данни и др.) показва, че изпитваното вещество може да се прилепи към стъклото, като в този случай трябва да се помисли за използване на алтернативен материал (като тефлон). Когато е известно, че изпитваното вещество прилепва към стъклото, може да е възможно за разрешаването на този проблем, да се използват един или повече от следните методи:

- определяне на сорбираната от стъклото маса на изпитваното вещество и продуктите от трансформацията;
  - осигуряване на разтворител за почистване на цялата стъклария в края на експеримента;
  - използване на образуваните продукти (виж също точка 1.9.2);
  - използване на по-голямо количество съразтворител за добавяне на изпитвано вещество към системата; ако се използва съразтворител, той не трябва да солволизира изпитваното вещество
- Примери за типичната апаратура за изпитване, т.е. газопроточна и биометричен тип системи, са представени съответно в приложения 2 и 3 (14). Други инкулационни системи, които биха били от полза, са описани в препратка 15. Дизайнът на експерименталната апаратура трябва да позволява обмен на въздух или азот и улавянето на летливите продукти. Размерите на апаратурата трябва да бъдат такива, че да отговарят на изискванията на изпитването (виж точка 1.9.1). Вентилацията може да бъде осигурена или чрез лек барботаж (леко кипене) или чрез продухване с въздух или азот над водната повърхност. В друг случай, леко разбъркване на водата може да бъде препоръчано за по-добро разпределение на кислорода или азота във водата. Свободният от CO<sub>2</sub>, въздух не трябва да се използва, тъй като той може да причини като резултат нарастване на рН на водата. От друга страна, трябва да бъде избягвано въздействието върху седимента, дотолкова, до колкото е възможно. Слабо летливите химикали трябва също да бъдат

изпитвани в биометричен тип система с леко разбъркване на водната повърхност. Може да се използват също затворени съдове, пространството в горната част на които е заето от атмосферен въздух или азот и от вътрешни ампули за улавяне на летливи продукти (16). При аеробно изпитване се изисква редовен обмен на газа в горното пространство, за да се компенсира консумацията на кислород от биомасата. Подходящи уловители за събиране на летливите продукти от трансформацията включват, без да се ограничават до  $1 \text{ mol}^* \text{dm}^{-3}$ , разтвори на калиев хидроксид или натриев хидроксид за въглероден диоксид (2) и етилен гликол, етаноламин или 2% парафин в ксилен за органични съединения. Летливите съединения, образувани при анаеробни условия, като метан, могат да бъдат събрани, например чрез молекулни отсявания. Такива летливи съединения могат да бъдат изгаряни, например до  $\text{CO}_2$  чрез преминаване на газа през кварцова тръба, напълнена с  $\text{CuO}$  при температура  $900 \text{ }^\circ\text{C}$  и улавяне на образувания  $\text{CO}_2$  в абсорбер с алкали (17). Изисква се използването на лабораторен инструментариум за химичните анализи на изпитваното вещество (напр. газотечна хроматография (GLC), високоефективна течна хроматография (HPLC), тънкослойна хроматография (TLC), маспектрометрия (MS), газ-хроматография-маспектрометрия (GC-MS), течна хроматография - маспектрометрия (LC-MS), ядрено-магнитен резонанс (NMR), и други), включително системи за откриване на химикали с маркиран радиоактивен изотоп и не-маркирани химикали, ако е подходящо. Когато се използва материал с маркиран радиоактивен изотоп, се изисква да има също течен сцинтилационен брояч (детектор) и окислител за горенето (за изгарянето на седиментни проби преди анализиране за радиоактивност). Изисква се и друго подходящо стандартно лабораторно оборудване, стъклария, химикали и реагенти за физико-химични и биологични определяния (виж таблица 1, точка 1.8.2.2).

#### 1.8.2 Избор и брой на водните седименти

Местата за вземане на проби трябва да бъдат избрани в съответствие с целта на изпитването за всяка ситуация. За избраните места за вземане на проби, трябва да бъде обстойно разгледана историята на възможните земеделски, промишлени или битови влияния (намеси) и на насрещните води (водите срещу течението). Седиментите не трябва да бъдат използвани, ако са замърсени с изпитваното вещество или негови структурни аналози през предходните 4 години.

(2) Тъй като тези алкални абсорбционни разтвори също абсорбират въглероден диоксид от вентилирания въздух и правят това чрез респирация при аеробни експерименти, на равни интервали от време, те трябва да бъдат сменяни, за да се избегне тяхното насищане и поради това, да се загуби тяхната абсорбционна способност.

##### 1.8.2.1 Избор на седимент

Обикновено за аеробни изпитвания се използват два седимента (7). Двата избрани седимента трябва да се различават по съдържание на органичен въглерод и структура. Единият седимент трябва да има високо съдържание на органичен въглерод (2,5-7,5%) и дребнозърнеста (фина) структура, а другият седимент трябва да има ниско съдържание на органичен въглерод (0,5-2,5%) и едрозърнеста структура. Обикновено разликата в съдържанието на органичен въглерод в седиментите трябва да бъде поне 2%. 'Дребнозърнеста (фина) структура' се дефинира като съдържание на [глина+ нанос](3) > 50%, а 'едрозърнеста структура' се дефинира като съдържание на [глина+ нанос] < 50%. Разликата в съдържанието на [глина+ нанос] при двата седимента обикновено трябва да бъде поне 20%. В случаите, при които химикал може да бъде открит също в морски води, поне една от водноседиментните системи трябва да бъде от морски произход. За стриктното провеждане на анаеробно изпитване, трябва да бъдат взети като проби два седимента (включително асоциираните им води) от анаеробните зони на повърхностен водоизточник (7). И седиментната, и водната фази трябва внимателно да бъдат обработвани и транспортирани в отсъствие на кислород. Може да има други параметри, които да са важни при избора на седименти, като те се разглеждат за всеки отделен случай. Например, рН-обхватът на седиментите е важен за изпитвани химикали, за които трансформацията и/или

сорбцията могат да бъдат зависими от рН. Върху рН-зависимостта на сорбцията може да се въздейства чрез рКа на изпитваното вещество.

#### 1.8.2.2 Охарактеризиране на водноседиментните проби

Ключовите параметри, които трябва да бъдат измерени и отчетени (с препратка към избрания метод) и при водата, и при седимента, и етапа от изпитването, при който тези параметри са били определени, се резюмират в следващата таблица. За информация, в препратки (18)(19)(20)(21) са представени методи за определяне на тези параметри. В допълнение, може да е необходимо да бъдат измерени и отчетени други параметри, определяни за всеки отделен случай (напр. за сладки води: частици, алкалност, твърдост, проводимост, NO<sub>3</sub>/PO<sub>4</sub> (съотношение и индивидуални стойности); за седименти: способност за катионен обмен, способност за задържане на вода, карбонат, общи азот и фосфор; и за морски системи: соленост). Анализирани на седиментите и водите за нитрати, сулфонати, бионалично (биологично годно) желязо и други възможни електронни аксептори, също може да бъде от полза при оценяването на окислително-редукционните условия, особено във връзка с анаеробната трансформация.

#### Измервания на параметрите за охарактеризиране на водноседиментните проби (7)(22)(23)

Параметър	Етап от процедурата за изпитване					
	Място за вземане на пробите	Последваща обработка	Начало на аклиматизацията	Начало на изпитването	По време на изпитването	Край на изпитването
<b>Вода</b>						
Произход/източник	х					
Температура	х					
рН	х		х	х	х	х
ТОС			х	х		х
Концентрация на O <sub>2</sub> *	х		х	х	х	х
Редоксипотенциал*			х	х	х	х
<b>Седимент</b>						
Произход/източник	х					
Дебелина на слоя	х					
рН		х	х	х	х	х
Разпределение на частиците по размер		х				
ТОС		х	х	х		х
Микробна биомаса **		х		х		х
Редоксипотенциал*	Наблюдения (цвет/мирис)		х	х	х	х

(3) [Глина + нанос] е минералната фракция на седимента с размер на < 50 µm

\* Последните резултати от научно-изследователските изследвания показват, че измерванията на концентрациите на кислорода във вода и на редоксипотенциалите не са нито механистични, нито предвидими стойности, доколкото зависят от растежа и развитието на

микробните популации в повърхностните води (24)(25). Определянето на биохимичната потребност от кислород (BOD, при вземането на повърхностни проби, в началото и края на изпитването) и на концентрациите на микро/ макро храни Ca, Mg и Mn (в началото и края на изпитването) във води и измерванията на общия N и общия P в седименти in sediments (при вземането на повърхностни проби и в края на изпитването) могат да бъдат по-добри инструменти за интерпретиране и оценка на нивата и пътищата на аеробна биотрансформация.

\*\* Методът на микробиалното респираторно ниво (26), методът за опушване (27) или измервания чрез преброяване върху плочка (напр. бактерии, актиномицети, фунги и общо колонии) при аеробни изпитвания; степен на метаногенеза при анаеробни изпитвания.

### **1.8.3 Събиране, обработване и съхранение**

#### **1.8.3.1 Събиране**

При вземането на проби от седимент трябва да бъде използвано Проекторъководството на ISO за вземане на проби от основата на седимента (8) Седиментните проби трябва да бъдат взети от целия по-горен слой на седимента на дълбочина от 5 до 10 cm. Асоциираната с него вода трябва да бъде събрана от същото място или местоположение и по същото време, както при седимента. За анаеробно изпитване, пробите от седимент и асоциирана вода трябва да бъдат взети и транспортирани в отсъствие на кислород (28) (виж точка 1.8.2.1). В литературата (8)(23) са описани някои устройства за вземане на проби.

#### **1.8.3.2 Обработване**

Седиментът се отделя от водата чрез филтруване и във влажен вид се пресява през 2 mm-сито, чрез използване на допълнително добавена вода, която след това се отделя. Тогава определените количества седименти и вода се смесват в желаното съотношение (виж точка 1.9.1) в инкубационните колби и се подготвят за аклиматизационния период (виж точка 1.8.4). За анаеробно изпитване, всички етапи на обработване трябва да бъдат провеждани в отсъствие на кислород (29)(30)(31)(32)(33).

#### **1.8.3.3 Съхранение**

Строго се препоръчва употребата на пресни проби седимент и вода, но ако е необходимо съхранение, седиментът и водата трябва да бъдат пресяти, както е описано по-нагоре и съхранявани заедно (6-10 cm воден слой), на тъмно, при  $4 \pm 2$  °C в продължение на максимум 4 седмици(7)(8)(23). Пробите, които ще бъдат използвани за аеробни изпитвания, трябва да бъдат съхранявани при свободен достъп на въздух (напр. в отворени контейнери), докато тези за анаеробно изпитване в отсъствие на кислород. Не трябва да се допуска замръзване на седимента и водата, и изсъхване на седимента по време на транспортирането и съхранението.

### **1.8.4 Подготовка на седиментните/ водните проби за изпитването**

Подготовката трябва да премине през период на аклиматизация, преди да се добави изпитваното вещество към всяка седиментна/ водна проба, която е била поставена в инкубационен съд, да бъде използвана в основното изпитване, и аклиматизацията да бъде проведена при точно спазване на същите условия, както при инкубирането за изпитването (виж точка 1.9.1). Аклиматизационният период е времето, необходимо за достигане на приемлива стабилност на системата, което се отразява на рН, концентрацията на кислород във водата, редоксипотенциалите на седимента и водата и макроскопското разделяне на фазите. Периодът за аклиматизация обикновено трябва да продължи между една и две седмици, и не трябва да превишава четири седмици. Резултатите от направените през този период определяния, трябва да бъдат отчетени.

## **1.9 ПРОВЕЖДАНЕ НА ИЗПИТВАНЕТО**

### **1.9.1 Условия на изпитването**

Изпитването трябва да се провежда в инкубационна апаратура (виж точка 1.8.1) при обемно съотношение вода-седимент между 3:1 и 4:1, и седиментен слой 2,5 cm ( $\pm 0,5$  cm) (4). Препоръчва се минималното количество на седимента да е 50 g (сухо тегло) за инкубационен съд. Изпитването трябва да се провежда на тъмно, при постоянна температура, в обхвата от 10 до 30 °C. Подходящата температура е  $(20 \pm 2)$  °C. Когато е подходящо, при отделни

случаи, може да бъде приложена допълнителна по-ниска температура (напр. 10 °C), в зависимост от информацията, която следва да бъде осигурена от изпитването. Инкубационната температура трябва да бъде наблюдавана и отчитана.

### **1.9.2 Обработване и прилагане на изпитваното вещество**

Използува се една концентрация за изпитване на химикала (5). При препаратите за защита на зърнените култури, химикалите се прилагат директно чрез напоителните съоръжения, като се вземе предвид максималната доза, указана на етикета като максимално апликационно ниво, което е изчислено въз основа на повърхността (площта) на водата в съда за изпитване. При всички други случаи, използваната концентрация трябва да се базира на предположенията за емисиите в околната среда. Трябва да се обърне внимание на осигуряването на подходящата концентрация на изпитваното вещество, която ще се приложи за охарактеризиране на пътя на трансформацията, и образуването и намаляването на продуктите от трансформацията. Може да се наложи да се приложат по-високи дози (напр. 10 пъти) в ситуации, при които концентрациите на изпитваното вещество са близки до границите на откриване в началото на експеримента и/ или основните продукти от трансформацията не могат лесно да бъдат открити, при наличие на 10% апликационно ниво на изпитваното вещество. Въпреки това, ако се използват по-високи концентрации, те не трябва да оказват значително вредно въздействие върху микробната активност на водноседиментната система. За да се постигне постоянна концентрация на изпитваното вещество в съдове с различни размери, може да бъде представено съответното уточнение за количеството приложен материал, въз основа на дълбочината на водната колона в съда, във връзка с дълбочината на водата на повърхността (която се приема, че е 100 cm, но могат да се използват и други дълбочини). Виж приложение 4 за примерно изчисление.

В идеалния случай, изпитваното вещество трябва да бъде приложено, като воден разтвор във водната фаза на изпитваната система. Ако е невъзможно да се избегне, се приема употребата в малки количества на водосмесими разтворители (такива, като ацетон, етанол) за апликиране и разпределение на изпитваното вещество, но те трябва да не надвишават 1% об/об и не трябва да оказват вредно въздействие върху микробната активност на изпитваната система. Трябва да се внимава при приготвянето на водните разтвори на изпитваното вещество, за да се осигури пълно хомогенизиране, може да бъде подходящо използването на генериращи колони и предварително смесване. При следващо добавяне на водния разтвор в изпитваната система, се препоръчва леко смесване на водната фаза, което доколкото е възможно, да не засегне седимента. Обикновено не се препоръчва употребата на образуваните продукти, тъй като образуваните съставки могат да повлияят на разпределението на изпитваното вещество и/ или продуктите от трансформацията между водната и седиментната фази. Въпреки това, при слабо разтворими във вода изпитвани вещества, употребата на образувания материал може да бъде подходяща алтернатива. Броят на инкубационните съдове зависи от броя на пробните времена (виж точка 1.9.3). В изпитването трябва да бъдат включени достатъчно на брой системи за изпитване, така че при всяко пробно време по две системи да могат да бъдат "пожертвувани". Когато се оставят контролни сектори във всяка водноседиментна система, те не трябва да бъдат третираны с изпитваното вещество. Контролните сектори могат да бъдат използвани за определяне на микробната биомаса на седимента и на общия органичен въглерод на водата и седимента при завършване на изпитването. Два от контролните сектори (т.е. един контролен сектор от всеки воден седимент) могат да бъдат използвани за наблюдение на изискваните параметри в седимента и водата по време на аклиматизационния период (виж таблицата в точка 1.8.2.2). Трябва да бъдат включени два допълнителни контролни сектора за измерване на вредните въздействия върху микробната активност на изпитваната система, в случай че изпитваното вещество се прилага чрез разтворител.

### **1.9.3 Продължителност на изпитването и вземане на проби**

Обикновено продължителността на експеримента не трябва да превишава 100 дни (6) и трябва да продължи до установяване на пътя на разграждане и модела на разпределение

вода/ седимент или когато 90% от изпитваното вещество е разпръснато поради трансформация и/ или летливост. Броят на пробните времена трябва да бъде най-малко шест (включително нулево време), като се провежда незадължително предварително изпитване (виж точка 1.9.4), за да се установи подходящия режим на пробите и продължителността на изпитването, освен ако има достатъчно налични данни за изпитваното вещество от предишни изпитвания.

(4) Последните изследвания показват, че съхранението при 4 °C може да доведе до намаляване на съдържанието на органичен въглерод в седимента, което има вероятност да доведе до понижаване на микробната активност (34).

(5) Провеждането на изпитване с втора концентрация може да бъде от полза при химикали, които попадат в повърхностните води чрез различни пътища на въвеждане, водещи до напълно различни концентрации, докато по-ниските концентрации могат да бъдат анализирани с достатъчна точност.

За хидрофобни изпитвани вещества, може да бъдат необходими допълнителни пробоотборни точки в началния период на изпитването, за да се определи степента на разпределение между водната и седиментната фази. При съответните пробни времена, всички инкубационни съдове (с репликите) се изваждат за анализ. Седиментът и покриващата го вода се анализират поотделно (6). Повърхностната вода трябва внимателно да бъде отстранена при минимално въздействие върху седимента. Екстрахирането и охарактеризирането на изпитваното вещество и на продуктите от трансформацията трябва да следват подходящата аналитична процедура. Трябва да бъде обърнато внимание на отделянето на материала, който може да бъде адсорбиран от инкубационния съд или на използваните свързващи тръби за улавяне на летливи съединения.

#### **1.9.4 Възможно (незадължително) предварително изпитване**

Ако продължителността и режима за вземане на проби не могат да бъдат оценени по други съответстващи изследвания на изпитващото вещество, може да бъде сметено за подходящо провеждането на незадължително предварително изпитване, което трябва да бъде проведено при същите условия на изпитване, както прилаганите в окончателното изпитване. Съответните експериментални условия и резултатите от предварителното изпитване, ако е проведено такова, трябва кратко да бъдат отчетени.

#### **1.9.5 Измервания и анализи**

Концентрацията на изпитваното вещество и на продуктите от трансформацията за всяко пробно време във водата и в седимента, трябва да бъде измерена и отчетена (като концентрация и като процент на приложената). Най-общо, продуктите от трансформацията, открити при  $\geq 10\%$  приложена радиоактивност върху цялата водноседиментна система, при всяко пробно време, трябва да бъдат идентифицирани, освен ако не е посочено разумно обяснение. Продуктите от трансформацията, чиито концентрации непрекъснато нарастват по време на изпитването, също трябва да бъдат отчетени за идентифициране, дори ако техните концентрации не надвишават посочените по-горе граници, тъй като това може да индикира за устойчивост. Последните трябва да бъдат отчетени за всеки отделен случай и да се посочат в протокола, заедно със съответните обяснения. Резултатите от системите за улавяне на газове/ летливи съединения (CO<sub>2</sub> и други, т.е. летливи органични съединения) трябва да бъдат отчетени за всяко пробно време. Трябва да бъдат отчетени и степените на минерализация. Не-екстрахируемите (крайните) остатъци в седимента също трябва да бъдат отчетени за всяка пробоотборна точка.

## **2. ДАННИ**

### **2.1 ОБРАБОТВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ**

Общият масов баланс или възстановяването (виж точка 1.7.1) на допълнителната радиоактивност се изчислява за всяко пробно време. Резултатите трябва да бъдат отчетени като резултат от допълнителната радиоактивност. Разпределението на радиоактивността между водата и седимента трябва да бъде отчетена като концентрации и като проценти за всяко пробно време. Времето за полуразпад, DT50 и, ако е подходящо, DT75 и DT90 на изпитваното вещество трябва самостоятелно да бъдат изчислени с техните доверителни

интервали (ниж точка 1.7.3). Информация за степента на разсейване (разпръскване) на изпитваното вещество във водата и в седимента може да бъде получена чрез използването на подходящи инструменти за оценка. Те могат да обхващат: прилагане на псевдо кинетика от първи порядък, техники, свързани с емпиричната крива, които прилагат графични или цифрови решения и използване на по-комплексни оценки, например едно- или многостъпални модели. Повече подробности могат да бъдат получени от съответната публикувана литература (35)(36)(37). Всички подходи имат своите силни и слаби страни, и са разнообразни по отношение сложността им. Основно положение (предпоставка за избор) на кинетиката от първи порядък може да бъде свръхрационализирането (прекомерното опростяване) на процесите на разграждане и разпределение, а когато е възможно, тя предоставя показател (степенна константа или на полуразпад), който е лесно разбираем и стойността му се получава чрез използването на симулационен модел и изчисления при предвидими концентрации в околната среда. Емпиричните подходи или линейните трансформации могат да доведат до по-добра връзка между кривите и данните, и следователно, да позволят по-точно определяне на стойностите на времето за полуразпад, DT50 и, ако е подходящо, DT75 и DT90. Използването на диференцирани константи обаче е ограничено. Степенните модели могат да създадат определени константни величини, които да са от полза при оценката на риска, описват степента на разграждане при различните степени и разпределението на химикала. Те трябва да бъдат използвани също при оценяване на степенните константи на образуване и разграждане на основните продукти от трансформацията.

(6) В случаите, при които е възможно да се получи бързото преокисляване на продуктите от анаеробната трансформация, при вземането на проби и при анализирането трябва да бъдат поддържани анаеробни условия.

При всички случаи, изборът на конкретния метод трябва да бъде обоснован и експериментаторът трябва графично и/или статистически да демонстрира преимуществата му. Количествата на изпитваното вещество, продуктите от трансформацията, летливите вещества (само в%) и неекстрахираните остатъци трябва да бъдат представени като % от приложената начална концентрация и, където е подходящо, като mg\*kg<sup>-1</sup> почва (на база сухо претеглена почва) за всеки интервал на проба. Масовият баланс трябва да бъде представен като процент на приложената начална концентрация за всеки интервал на проба. Графичното представяне на концентрациите на изпитваното вещество спрямо времето ще позволи да се направи оценка на времето за достигане на неговия полуразпад при трансформацията или на DT50. Основните продукти от трансформацията трябва да бъдат идентифицирани и техните концентрации също трябва да бъдат графично нанесени спрямо времето, за да се установят техните степени на образуване и задържане. Основен продукт от трансформацията е всеки продукт, представляващ ≥ 10% от приложената доза във всеки момент по време на изпитването. Уловените летливи продукти, дават някои индикации за потенциалната летливост на изпитваното вещество и неговите продукти от трансформацията в почвата. За по-точно определяне на стойностите на времето за полуразпад или DT50, ако е подходящо, трябва да бъдат включени стойностите на DT75 и DT90 чрез прилагане на подходящ кинетичен модел при изчисленията. Стойностите на времето за полуразпад или DT50 трябва да бъдат отчетени при едновременно (заедно с) описание на използвания модел, кинетичния порядък и определящия коефициент (r<sup>2</sup>). Предпочита се кинетиката от първи порядък, освен ако r<sup>2</sup> < 0,7. Ако е подходящо, изчисления трябва да се направят и за основните продукти от трансформацията. Примери на подходящи модели са описани в препратки от 31 до 35. В случай на изпитвания, проведени при различни температури, степените на трансформация трябва да бъдат описани като функция на температурата в експерименталния температурен обхват с използването на Арениусовата зависимост по формулировката:

$$k = A \cdot e^{-B/T} \quad \text{или} \quad \ln k = \ln A - \frac{B}{T}$$

където  $\ln A$  и  $B$  са регресионни константи на пресичане и наклон, респективно, на най-добра свързваща линия, произхождаща от линейната регресия  $\ln k$  спрямо  $1/T$ ,  $k$  е скоростна константа при температура  $T$  и  $T$  е температура по Келвин. Трябва да бъде обърнато внимание на граничния температурен интервал, в който ще бъде валидна Арениусовата зависимост при случаите на трансформация, управлявана от микробната дейност.

## 2.2 ОЦЕНЯВАНЕ И ИНТЕРПРЕТИРАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Въпреки че изпитванията се провеждат в изкуствена лабораторна система, резултатите ще позволят да се оцени степента на трансформация на изпитваното вещество, а така също и степента на образуване и устойчивост на продуктите от трансформацията при условията на експеримента (36)(37). Проучването на пътя на трансформацията осигурява информация за начина, по който, чрез химични и микробни реакции, приложеното вещество структурно се изменя в почвата.

## 3. ОТЧИТАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

### 3.1 ПРОТОКОЛ ОТ ИЗПИТВАНЕТО

Протоколът от изпитването трябва да включва следната информация:

Изпитвано вещество:

- търговско наименование, химично наименование, CAS номер, структурна формула (показваща положението на етикета(ите), когато се използва материал с маркиран радиоактивен изотоп) и съответните физико-химични свойства (виж точка 1.5);
- степен на чистота (примеси) на изпитваното вещество;
- радиохимична степен на чистота на маркиран химикал и моларна активност (където е подходящо);

Вещества за сравнение:

- химично наименование и структура на веществата за сравнение, използвани за охарактеризиране и/или идентифициране на продуктите от трансформацията;

Изпитвани седименти и води:

- местоположение и описание на местата за вземане на водни седиментни проби, включително, ако е възможно, история на замърсяването;
- цялата информация, свързана със събирането, съхранението (ако има) и аклиматизирането на водноседиментните системи;
- характеристики на водноседиментните проби, както е посочено в списъка в таблицата на точка 1.8.2.2.

Условия на изпитването:

- използвана система за изпитване (напр. проточна, биометрична, начин на вентилация, метод за разбъркване, обем на водата, маса на седимента, дебелина на двата слоя - воден и седиментен, измерения на съдовете за изпитване и др.)
- прилагане на изпитваното вещество в системата за изпитване: използвана концентрация за изпитване, брой на репликите и контролите, начин на прилагане на изпитваното вещество (напр. употреба на разтворител, ако има) и др.
- инкубационна температура;
- времена на пробите;
- екстракционни методи и тяхната ефективност, както и аналитични методи и граници на откриване;
- методи за охарактеризиране/ идентифициране на продуктите от трансформацията;
- отклонения от протокола за изпитването или условията на изпитването по време на експеримента.

Резултати:

- фигури със “сурови” ( необработени) данни от представителни анализи (всички “сурови” данни трябва да бъдат съхранени в GLP-архив);
- повторемост и чувствителност на използваните аналитични методи;



- степени на възстановяване (% стойности за валиден експеримент са посочени в точка 1.7.1);
- таблици с резултати, изразени като % на приложената доза и в  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  във вода, седимент и цялата система (само в %), на изпитваното вещество и, ако е подходящо, на продуктите от трансформацията и неекстрахируемата радиоактивност;
- масов баланс по време на и в края на изпитванията;
- графично представяне на трансформацията във водната и седиментната фракции и в цялата система (включително минерализация);
- степени на минерализация;
- стойности на времето на полуразпад, DT50 и, ако е подходящо, на DT75 и DT90 за изпитваното вещество и, където е подходящо, за основните продукти от трансформацията, включително доверителни интервали във вода, седимент и в цялата система;
- оценка на кинетиката на трансформацията на изпитваното вещество и, където е подходящо, на основните продукти от трансформацията;
- предлагани пътища на трансформация, където е подходящо;
- обсъждане на резултатите;

#### 4. ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА

- (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 № SC 9046. United-Kingdom.
- (4) Agriculture Canada: Environmental chemistry and fate. (1987). Guidelines for registration of pesticides in Canada. Aquatic (Laboratory) - Anaerobic and aerobic. Canada. pp 35-37.
- (5) US-EPA: Pesticide assessment guidelines, Subdivision N. Chemistry: Environmental fate (1982). Section 162-3, Anaerobic aquatic metabolism.
- (6) SETAC-Europe publication. (1995). Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides. Ed. Dr Mark R. Lynch. SETAC-Europe, Brussels.
- (7) OECD Test Guidelines Programme. (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/sediments, Belgirate, Italy, 18-20 January 1995.
- (8) ISO/DIS 5667-12. (1994). Water quality - Sampling - Part 12: Guidance on sampling of bottom sediments.
- (9) US-EPA (1998a). Sediment/water microcosm biodegradation test. Harmonised Test Guidelines (OPPTS 835.3180). EPA 712-C-98-080.
- (10) DFG: Pesticide Bound Residues in Soil. Wiley-VCH (1998).
- (11) T.R. Roberts: Non-extractable pesticide residues in soils and plants. Pure Appl. Chem. 56, 945-956 (IUPAC 1984).
- (12) OECD Test Guideline 304A: Inherent Biodegradability in Soil (adopted 12 May 1981).
- (13) OECD (1993): Guidelines for Testing of Chemicals. Paris. OECD (1994-2000): Addenda 6-11 to Guidelines for the Testing of Chemicals.
- (14) Scholz, K., Fritz R., Anderson C. and Spitteller M. (1988) Degradation of pesticides in an aquatic model ecosystem. BCPC - Pests and Diseases, 3B-4, 149-158.
- (15) Guth, J.A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. In Progress in Pesticide Biochemistry (D.H. Hutson, T.R. Roberts, Eds.), Vol. 1, 85-114. J. Wiley & Sons.
- (16) Madsen, T., Kristensen, P. (1997). Effects of bacterial inoculation and non-ionic surfactants on degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. Environ. Toxicol. Chem. 16, 631-637.

- (17) Steber, J., Wierich, P. (1987). The anaerobic degradation of detergent range fatty alcohol ethoxylates. Studies with <sup>14</sup>C-labelled model surfactants. *Water Research* 21, 661-667.
- (18) Black, C.A. (1965). *Methods of Soil Analysis*. Agronomy Monograph No. 9. American Society of Agronomy, Madison.
- (19) APHA (1989). *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (17th edition). American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, Washington D.C.
- (20) Rowell, D.L. (1994). *Soil Science Methods and Applications*. Longman.
- (21) Light, T.S. (1972). Standard solution for redox potential measurements. *Anal. Chemistry* 44, 1038- 1039.
- (22) SETAC-Europe publication (1991). Guidance document on testing procedures for pesticides in freshwater mesocosms. From the Workshop 'A Meeting of Experts on Guidelines for Static Field Mesocosms Tests', 3-4 July 1991.
- (23) SETAC-Europe publication. (1993). Guidance document on sediment toxicity tests and bioassays for freshwater and marine environments. From the Workshop On Sediment Toxicity Assessment (WOSTA), 8-10 November 1993. Eds.: I.R. Hill, P. Matthiessen and F. Heimbach.
- (24) Vink, J.P.M., van der Zee, S.E.A.T.M. (1997). Pesticide biotransformation in surface waters: multivariate analyses of environmental factors at field sites. *Water Research* 31, 2858-2868.
- (25) Vink, J.P.M., Schraa, G., van der Zee, S.E.A.T.M. (1999). Nutrient effects on microbial transformation of pesticides in nitrifying waters. *Environ. Toxicol*, 329-338.
- (26) Anderson, T.H., Domsch, K.H. (1985). Maintenance carbon requirements of actively-metabolising microbial populations under *in-situ* conditions. *Soil Biol. Biochem.* 17, 197-203.
- (27) ISO-14240-2. (1997). Soil quality - Determination of soil microbial biomass - Part 2: Fumigation-extraction method.
- (28) Beelen, P. Van and F. Van Keulen. (1990), The Kinetics of the Degradation of Chloroform and Benzene in Anaerobic Sediment from the River Rhine. *Hydrobiol. Bull.* 24 (1), 13-21.
- (29) Shelton, D.R. and Tiedje, J.M. (1984). General method for determining anaerobic biodegradation potential. *App. Environ. Microbiol.* 47, 850-857.
- (30) Birch, R.R., Biver, C., Campagna, R., Gledhill, W.E., Pagga, U., Steber, J., Reust, H. and Bontinck, W.J. (1989). Screening of chemicals for anaerobic biodegradation. *Chemosphere* 19, 1527-1550.
- (31) Pagga, U. and Beimborn, D.B. (1993). Anaerobic biodegradation tests for organic compounds. *Chemosphere* 27, 1499-1509.
- (32) Nuck, B.A. and Federle, T.W. (1986). A batch test for assessing the mineralisation of <sup>14</sup>C-radiolabelled compounds under realistic anaerobic conditions. *Environ. Sci. Technol.* 30, 3597-3603.
- (33) US-EPA (1998b). Anaerobic biodegradability of organic chemicals. Harmonised Test Guidelines (OPPTS 835.3400). EPA 712-C-98-090.
- (34) Sijm, Haller and Schrap (1997). Influence of storage on sediment characteristics and drying sediment on sorption coefficients of organic contaminants. *Bulletin Environ. Contam. Toxicol.* 58, 961-968.
- (35) Timme, G., Frehse H. and Laska V. (1986) Statistical interpretation and graphic representation of the degradational behaviour of pesticide residues II. *Pflanzenschutz - Nachrichten Bayer*, 39, 187-203.
- (36) Timme, G., Frehse, H. (1980) Statistical interpretation and graphic representation of the degradational behaviour of pesticide residues I. *Pflanzenschutz - Nachrichten Bayer*, 33, 47-60.
- (37) Carlton, R.R. and Allen, R. (1994). The use of a compartment model for evaluating the fate of pesticides in sediment/water systems. Brighton Crop Protection Conference - Pest and Diseases, pp 1349-1354.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 1

### **РЪКОВОДСТВО ЗА АЕРОБНИ И АНАЕРОБНИ СИСТЕМИ ЗА ИЗПИТВАНЕ**

#### **Аеробна система за изпитване**

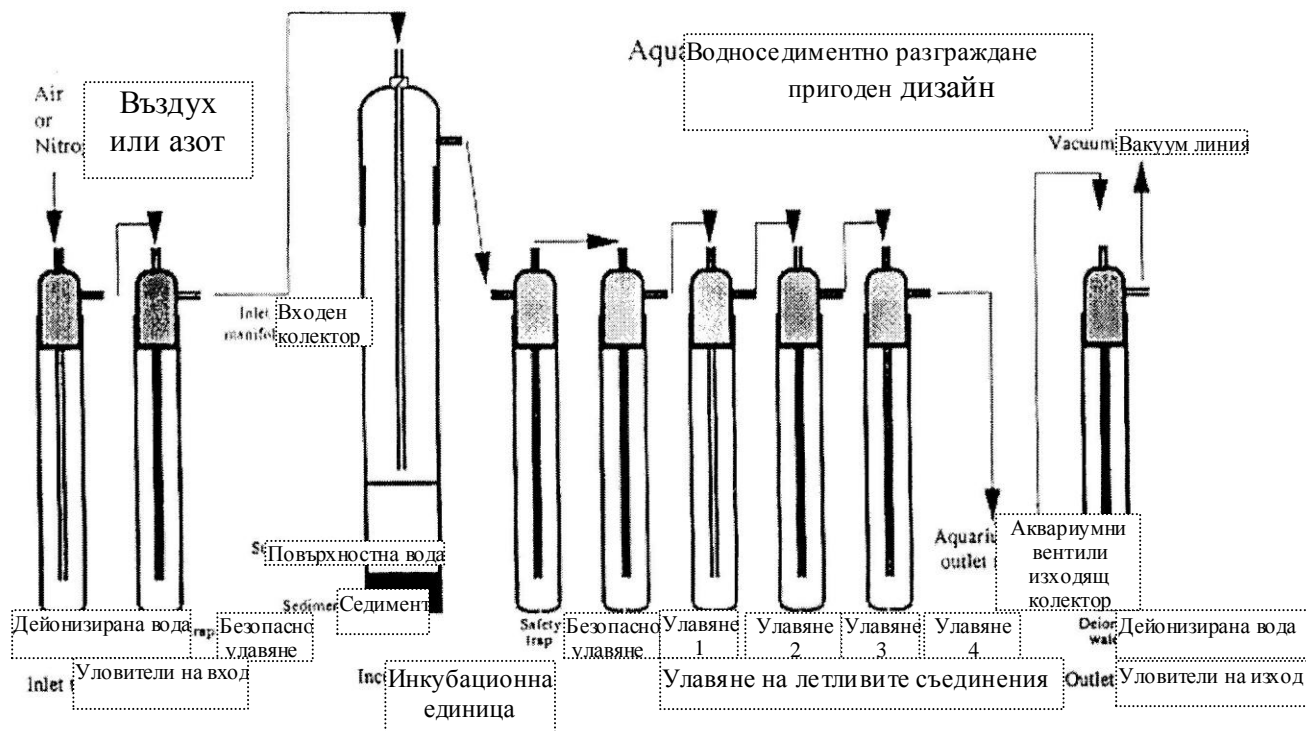
Аеробната система за изпитване, описана в този метод, се състои от аеробен воден слой (обикновено концентрациите на кислород са в обхвата 7 до 10 mg\*l-1) и седиментен слой, аеробен на повърхността и анаеробен под повърхността (обикновено средната стойност на редоксипотенциала (Eh) в анаеробната зона на седимента е в обхвата от -80 до -190 mV). Над повърхността на водата във всяка инкубационна единица, преминава влажен въздух, за да се поддържа достатъчно количество кислород в горното пространство.

#### **Анаеробна система за изпитване**

При анаеробната система за изпитване, процедурата за изпитване основно е същата, както тази, изложена за аеробната система за изпитване, с изключение на това, че над повърхността на водата във всяка инкубационна единица, преминава влажен азот, за да се поддържа достатъчно количество азот в горното пространство. Седиментът и водата се разглеждат като анаеробни, щом редоксипотенциалът (Eh) е по-нисък от -100 mV. При анаеробно изпитване, оценката на минерализацията включва измерване на отделените въглероден диоксид и метан.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 2

### ПРИМЕР ЗА ГАЗОПРОТОЧНА АПАРАТУРА



Безопасно улавяне - празен уловител

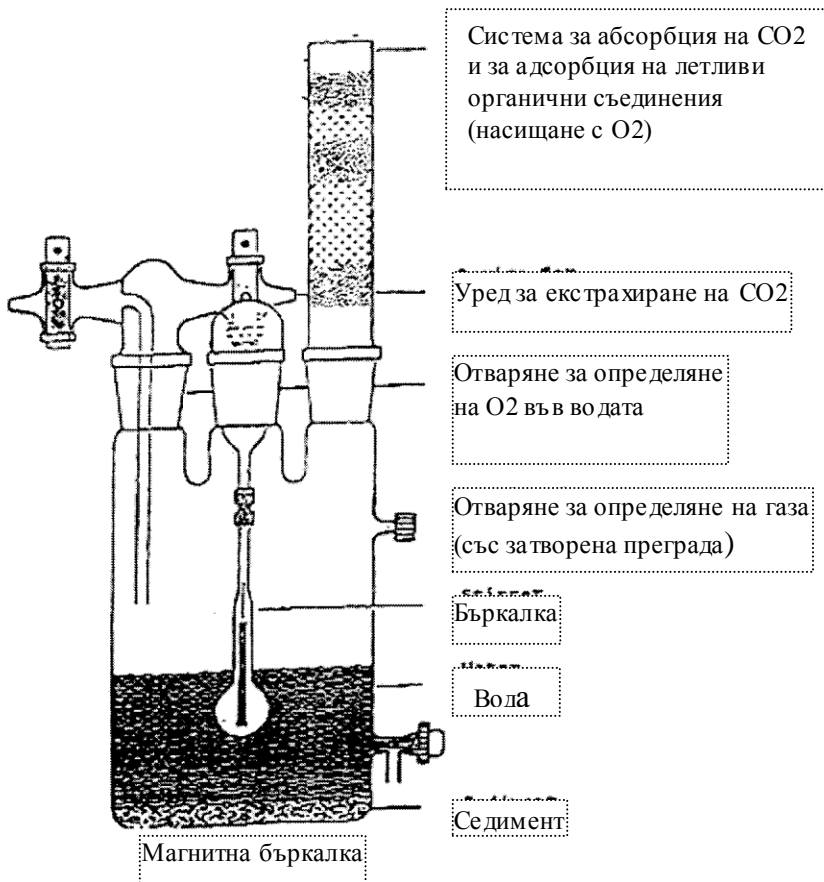
Улавяне 1: етилен гликол за улавяне на органични летливи съединения

Улавяне 2: сярна киселина 0,1M за улавяне на алкални летливи съединения

Улавяне 3: натриев хидроксид 2M за улавяне на въглероден диоксид и други летливи съединения

### ПРИЛОЖЕНИЕ 3

#### ПРИМЕР ЗА БИОМЕТРИЧНА АПАРАТУРА



### ПРИЛОЖЕНИЕ 4

#### ПРИМЕРНО ИЗЧИСЛЕНИЕ НА АПЛИКАЦИОННАТА ДОЗА ЗА СЪДОВЕТЕ ЗА ИЗПИТВАНЕ

Вътрешен диаметър на цилиндъра: = 8 cm

Дълбочина на водната колона, не съдържаща седимент: = 12 cm

Повърхностна площ:  $3,142 \times 4^2 = 50,3 \text{ cm}^2$

Апликационно ниво: 500 g изпитвано вещество/ha съответствуват на  $5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$

Общо  $\mu\text{g}$ :  $5 \times 50,3 = 251,5 \mu\text{g}$

Пригодено количество към дълбочина 100 cm:  $12 \times 251,5 \div 100 = 30,18 \mu\text{g}$

Обем на водната колона:  $50,3 \times 12 = 603 \text{ ml}$

Концентрация във вода:  $30,18 \div 603 = 0,050 \mu\text{g}/\text{ml}$  или  $50 \mu\text{g}/\text{l}$  “