

(Actes dont la publication est une condition de leur applicabilité)

DIRECTIVE 2004/73/CE DE LA COMMISSION

du 29 avril 2004

portant vingt-neuvième adaptation au progrès technique de la directive 67/548/CEE du Conseil concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses
(Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté européenne,

vu la directive 67/548/CEE du Conseil, du 27 juin 1967, concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses¹, et notamment son article 28,

considérant ce qui suit:

- (1) L'annexe I de la directive 67/548/CEE contient une liste de substances dangereuses, ainsi que des spécifications de classification et d'étiquetage pour chaque substance. Cette liste doit être actualisée pour inclure les substances nouvelles notifiées et d'autres substances existantes ainsi que pour adapter les entrées existantes au progrès technique, par exemple en fixant les limites de concentration de certaines substances dans l'environnement. En conséquence, il est également nécessaire de supprimer les entrées correspondant à certaines substances et de scinder certaines entrées car la classification ne s'applique plus à toutes les substances répertoriées sous ces entrées. L'étiquetage des substances contenant du 1,3-butadiène doit être modifié afin de refléter le fait que cette substance sera classée comme mutagène en vertu de la présente directive.
- (2) L'annexe V de la directive 67/548/CEE définit les méthodes permettant de déterminer les propriétés physico-chimiques, la toxicité et l'écotoxicité des substances et préparations. Il convient de modifier cette annexe afin de réduire au minimum le nombre d'animaux utilisés à des fins expérimentales, conformément à la directive 86/609/CEE du Conseil, du 24 novembre 1986, concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des États membres relatives à la protection des animaux utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques². Les méthodes

¹ JO 196 du 16.8.1967, p. 1. Directive modifiée en dernier lieu par la directive 2001/59/CE de la Commission (JO L 225 du 6.8.2001, p. 1).

² JO L 358 du 18.12.1986, p. 1. Directive modifiée en dernier lieu par la directive 2003/65/CE du Parlement européen et du Conseil (JO L 230 du 16.9.2003, p. 32).

de détermination de la toxicité orale subchronique aux chapitres B.1, B.4, B.5, B.31 et B.35 doivent être révisées en conséquence. En outre, il convient d'ajouter le chapitre B.42 à l'annexe V afin de proposer une méthode de détermination plus fine de la toxicité orale subchronique. Enfin, il convient d'ajouter le chapitre A.21 sur les propriétés physico-chimiques, le chapitre B.43 sur la toxicité orale subchronique et les chapitres C.21 à C.24 sur la toxicité environnementale afin de permettre la détermination des propriétés qui ne sont pas suffisamment couvertes par les méthodes visées à l'annexe V.

- (3) Les mesures prévues par la présente directive sont conformes à l'avis du comité pour l'adaptation au progrès technique des directives visant à l'élimination des entraves techniques aux échanges dans le secteur des substances et préparations dangereuses,

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DIRECTIVE:

Article premier

La directive 67/548/CEE est modifiée comme suit:

- (1) L'annexe I est modifiée comme suit:

- (a) la note K de l'avant-propos est remplacé par le texte figurant à l'annexe 1A;
- (b) les entrées correspondant aux entrées de l'annexe 1B de la présente directive sont remplacées par le texte figurant à cette annexe;
- (c) les entrées de l'annexe 1C de la présente directive sont ajoutées dans l'ordre établi à l'annexe I de la directive 67/548/CEE;
- (d) les entrées portant les numéros d'index 604-050-00-X, 607-050-00-8, 607-171-00-6 et 613-130-00-3 sont supprimées;
- (e) l'entrée portant le numéro d'index 048-002-00-0 est remplacée par les entrées portant les numéros d'index 048-002-00-0 et 048-011-00-X figurant à l'annexe 1D de la présente directive;
- (f) l'entrée portant le numéro d'index 609-006-00-3 est remplacée par les entrées portant les numéros d'index 609-006-00-3 et 609-065-00-5 figurant à l'annexe 1D de la présente directive;
- (g) l'entrée portant le numéro d'index 612-039-00-6 est remplacée par les entrées portant les numéros d'index 612-039-00-6 et 612-207-00-9 figurant à l'annexe 1D.

- (2) L'annexe V est modifiée comme suit:

- (a) le texte figurant à l'annexe 2A de la présente directive est ajouté en tant que chapitre A.21;
- (b) le chapitre B.1bis est remplacé par le texte figurant à l'annexe 2B de la présente directive;
- (c) le chapitre B.1ter est remplacé par le texte figurant à l'annexe 2C de la présente directive;

- (d) le chapitre B.4 est remplacé par le texte figurant à l'annexe 2D de la présente directive;
- (e) le chapitre B.5 est remplacé par le texte figurant à l'annexe 2E de la présente directive;
- (f) le chapitre B.31 est remplacé par le texte figurant à l'annexe 2F de la présente directive;
- (g) le chapitre B.35 est remplacé par le texte figurant à l'annexe 2G de la présente directive;
- (h) le texte figurant à l'annexe 2H de la présente directive est ajouté en tant que chapitres B.42 et B.43;
- (i) le texte figurant à l'annexe 2I de la présente directive est ajouté en tant que chapitres C.21 à C.24.

Article 2

1. Les États membres mettent en vigueur les dispositions législatives, réglementaires et administratives nécessaires pour se conformer à la présente directive au plus tard le 31 octobre 2005. Ils communiquent immédiatement à la Commission le texte de ces dispositions ainsi qu'un tableau de correspondance entre ces dispositions et la présente directive. Lorsque les États membres adoptent ces dispositions, celles-ci contiennent une référence à la présente directive ou sont accompagnées d'une telle référence lors de leur publication officielle. Les modalités de cette référence sont arrêtées par les États membres.
2. Les États membres communiquent à la Commission le texte des dispositions essentielles de droit interne qu'ils adoptent dans le domaine couvert par la présente directive.

Article 3

La présente directive entre en vigueur le vingtième jour suivant celui de sa publication au *Journal officiel de l'Union européenne*.

Article 4

Les États membres sont destinataires de la présente directive.

Fait à Bruxelles, le 29 avril 2004.

Par la Commission
Margot WALLSTRÖM
Membre de la Commission

ANNEXE 1A

Note K:

La classification comme cancérogène ou mutagène ne doit pas s'appliquer s'il peut être établi que la substance contient moins de 0,1 % poids/poids de 1,3-butadiène (Einecs n° 203-450-8). Si la substance n'est pas classée comme cancérogène ou mutagène, les phrases S(2-)9-16 doivent au moins s'appliquer. La présente note ne s'applique qu'à certaines substances complexes dérivées du pétrole reprises à l'annexe I.

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
006-005-00-4	thirame disulfure de bis (N,N- diméthylthiocarbamyle)		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	cyanure d'hydrogène ...%	B	200-821-6	74-90-8	T+; R26/27/28 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-50/53 S: (1/2-)7/9-16-36/37- 38-45-60-61	C ≥ 25 %: T+; N; R26/27/28- 50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+; N; R26/27/28-51-53 2,5 % ≤ C < 7 %: T; N; R23/24/25-51-53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; N; R23/24/25-52-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22-52-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22	
006-012-00-2	zirame (ISO) bis(N,N- diméthylthiocarbamate) de zinc		205-288-3	137-30-4	T+; R26 Xn; R22-48/22 Xi; R37-41 R43 N; R50-53	T+; N R: 22-26-37-41-43- 48/22-50/53 S: (1/2-)22-26-28- 36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: T+; N; R22-26-37- 41-43-48/22-50-53 20 % ≤ C < 25 %: T+; N; R26- 37-41-43-48/22-50-53 10 % ≤ C < 20 %: T+; N; R26- 41-43-48/22-50-53 7 % ≤ C < 10 %: T+; N; R26- 36-43-50-53 5 % ≤ C < 7 %: T; N; R23-36- 43-50-53 1 % ≤ C < 5 %: T; N; R23-43- 50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20- 50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R20-51-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51- 53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52- 53	
006-021-00-1	linuron (ISO) 3-(3,4-dichlorophényl)-1- méthoxy-1-méthylurée	E	206-356-5	330-55-2	Repr. Cat. 2; R61 Repr. Cat. 3; R62 Carc. Cat. 3; R40	T; N R: 61-22-40-48/22-62- 50/53		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
006-044-00-7	isoproturon 3-(4-isopropylphényl)-1,1-diméthylurée		251-835-4	34123-59-6	Xn; R22-48/22 N; R50-53 Carc. Cat. 3; R40 N; R50-53	Xn; N R: 40-50/53 S: (2-)36/37-60-61	C ≥ 2,5 %: Xn, N; R40-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn, N; R40-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
006-072-00-X	N,N-dipropylthiocarbamate de S-benzyle		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	dioxyde de chlore		233-162-8	10049-04-4	O; R8 R6 T+; R26 C; R34 N; R50	O; T+; N R: 6-8-26-34-50 S: (1/2-)23-26-28-36/37/39-38-45-61	C ≥ 5 %: T+; N; R26-34-50 1 % ≤ C < 5 %: T+; N; R26-36/37/38-50 0,5 % ≤ C < 1 %: T; N; R23-36/37/38-50 0,2 % ≤ C < 0,5 %: T; N; R23-50 0,02 % ≤ C < 0,2 %: Xn; N; R20-50	
006-089-01-X	dioxyde de chlore . . . %	B	233-162-8	10049-04-4	T; R25 C; R34 N; R50	T; N R: 25-34-50 S: (1/2-)23-26-28-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: T; N; R25-34-50 10 % ≤ C < 25 %: C; N; R22-34-50 3 % ≤ C < 10 %: Xn; N; R22-36/37/38-50 0,3 % ≤ C < 3 %: Xi; R36	
007-001-00-5	ammoniac, anhydre		231-635-3	7664-41-7	R10 T; R23 C; R34 N; R50	T; N R: 10-23-34-50 S: (1/2-)9-16-26-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %: T; N; R23-34-50 5 % ≤ C < 25 %: T; R23-34 0,5 % ≤ C < 5 %: Xn; R20-36/37/38	
007-008-00-3	hydrazine	E	206-114-9	302-01-2	R10 Carc. Cat. 2; R45 T; R23/24/25 C; R34 R43 N; R50-53	T; N R: 45-10-23/24/25-34-43-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T; N; R45-23/24/25-34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T; N; R45-20/21/22-34-43-51/53 3 % ≤ C < 10 %: T; N; R45-20/21/22-36/38-43-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T; N; R45-43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: T; R45-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
007-010-00-4	nitrite de sodium		231-555-9	7632-00-0	O; R8 T; R25 N; R50	O; T; N R: 8-25-50 S: (1/2-)/45-61	C ≥ 25 %: T, N; R25-50 5 % ≤ C < 25 %: T; R25 1 % ≤ C < 5 %: Xn; R22	
007-011-00-X	nitrite de potassium		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-diméthylhydrazine	E	-	540-73-8	Carc. Cat. 2; R45 T; R23/24/25 N; R51-53	T; N R: 45-23/24/25-51/53 S: 53-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R45-23/24/25-51/53 3 % ≤ C < 25 %: T; R45-20/21/22-52/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T; R45-52/53 0,01 % ≤ C < 2,5 %: T; R45	
007-017-00-2	nitrite d'isobutyle	E	208-819-7	542-56-3	F; R11 Xn; R20/22 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68	F; T R: 11-20/22-45-68 S: 53-45		
007-027-00-7	1,6-bis(3,3-bis((1-méthylpentylidénimino)propyl)urétido)hexane		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	peroxyde d'hydrogène en solution ... % eau oxygénée ... %	B	231-765-0	7722-84-1	R5 O; R8 C; R35 Xn; R20/22	O; C R: 5-8-20/22-35 S: (1/2-)/17-26-28-36/37/39-45	C ≥ 70 %: C; R20/22-35 50 % ≤ C < 70 %: C; R20/22-34 35 % ≤ C < 50 %: Xn; R22-37/38-41 8 % ≤ C < 35 %: Xn; R22-41 5 % ≤ C < 8 %: Xi; R36 Footnote: C ≥ 70 %: R5, O; R8 50 % ≤ C < 70 %: O; R8	
009-015-00-7	difluorure de sulfuryle		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	phosphore rouge		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	phosphate de tributyle		204-800-2	126-73-8	Carc. Cat. 3; R40 Xn; R22 Xi; R38	Xn R: 22-38-40 S: (2-)/36/37-46		
015-015-00-8	phosphate de tritolyle	C	201-103-5	78-30-8	T; R39/23/24/25	T; N	C ≥ 25 %: T, N; R39/23/24/25-	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
	phosphate de tricrésyle o-o-o, o-o-m, o-o-p, o-m-m, o-m-p, o-p-p				N; R51-53	R: 39/23/24/25-51/53 S: (1/2-)20/21-28-45-61	51/53 2,5 % ≤ C < 25 %; T; R39/23/24/25-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %; T; R39/23/24/25 0,2 % ≤ C < 1 %; Xn; R68/20/21/22	
015-016-00-3	phosphate de tritolyle phosphate de tricrésyle m-m-m, m-m-p, m-p-p, p-p-p	C	201-105-6	78-32-0	Xn; R21/22 N; R51-53	Xn; N R: 21/22-51/53 S: (2-)28-61	C ≥ 25 %; Xn; N; R21/22-51/53 5 % ≤ C < 25 %; Xn; R21/22-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %; R52/53	
015-020-00-5	mevinphos (ISO) phosphate de 2-méthoxycarbonyl-1-méthylvinyle et de diméthyle		232-095-1	7786-34-7	T+; R27/28 N; R50-53	T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)23-28-36/37-45-60-61	C ≥ 7 %; T+; N; R27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %; T; N; R24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %; Xn; N; R21/22-50-53 0,0025 % ≤ C < 0,1 %; N; R50-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,00025 %; R52-53	
015-021-00-0	trichlorfon (ISO) 2,2,2-trichloro-1-hydroxyéthylphosphonate de diméthyle		200-149-3	52-68-6	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)24-37-60-61	C ≥ 25 %; Xn; N; R22-43-50-53 1 % ≤ C < 25 %; Xi; N; R43-50-53 0,025 % ≤ C < 1 %; N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %; R52-53	
015-027-00-3	sulforep (ISO) dithiopyrophosphate de O,O,O,O-tétréthyle		222-995-2	3689-24-5	T+; R27/28 N; R50-53	T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)23-28-36/37-45-60-61	C ≥ 7 %; T+; N; R27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %; T; N; R24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %; Xn; N; R21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %; N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %; R52-53	
015-032-00-0	prothoate (ISO)		218-893-2	2275-18-5	T+; R27/28	T+		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
015-033-00-6	dithiophosphate de <i>O,O</i> -diéthyle et de <i>S-(N-isopropylcarbamoyl)méthyle</i> phorate (ISO) dithiophosphate de <i>O,O</i> -diéthyle et de <i>S-(éthylthiométhyle)</i>		206-052-2	298-02-2	T+; R27/28 N; R50-53	T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 7 %: T+, N; R27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %: T, N; R24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-034-00-1	parathion (ISO) thiophosphate de <i>O,O</i> -diéthyle et de <i>O</i> -4-nitrophényle		200-271-7	56-38-2	T+; R26/28 T; 24-48/25 N; R50-53	T+; N R: 24-26/28-48/25-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R24-26/28-48/25-50-53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21-26/28-48/25-50-53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R21-26/28-48/25-50-53 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R21-23/25-48/22-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R23/25-48/22-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20/22-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R20/22-51-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-035-00-7	parathion - méthyl (ISO) thiophosphate de <i>O,O</i> -diméthyle et de <i>O</i> -4-nitrophényle		206-050-1	298-00-0	R5 R10 T+; R26/28 T; R24 Xn; R48/22 N; R50-53	T+; N R: 5-10-24-26/28-48/22-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R24-26/28-48/22-50-53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21-26/28-48/22-50-53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R21-26/28-50-53 3 % ≤ C < 7 %: T, N; R21-23/25-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T, N; R23/25-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20/22-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn, N; R20/22-51-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51-53	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
015-041-00-X	malathion (ISO) dithiophosphate de 1,2-bis (éthoxycarbonyl)éthyle et de <i>O,O</i> -diméthyle		204-497-7	121-75-5	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)24-60-61	53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; R52-53	
015-042-00-5	chlortion (nom commun non adopté par l'ISO) thiophosphate de <i>O,O</i> -diméthyle et de <i>O</i> -(3-chloro-4-nitrophényle)		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	éthion (ISO) bis(dithiophosphate de <i>O,O</i> - diéthyle) de <i>S,S'</i> -méthylène diéthion		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	fenelthiophos (ISO) thiophosphate de <i>O,O</i> -diméthyle et de <i>O</i> -2,4,5-trichlorophényle		206-082-6	299-84-3	Xn; R21/22 N; R50-53	Xn; N R: 21/22-50/53 S: (2-)25-36/37-60-61		
015-055-00-6	naled (ISO) phosphate de <i>O</i> -1,2-dibromo-2,2- dichloroéthyle et de <i>O,O</i> - diméthyle		206-098-3	300-76-5	Xn; R21/22 Xi; R36/38 N; R50	Xn; N R: 21/22-36/38-50 S: (2-)36/37-61	C ≥ 25 %; Xn; N; R21/22-36/38-50 20 % ≤ C < 25 %; Xi; N; R36/38-50 0,025 % ≤ C < 20 %; N; R50	
015-063-00-X	dioxathion (ISO) di(dithiophosphate) de 1,4- dioxane-2,3-diyle et de <i>O,O,O',O'</i> -tetraéthyle		201-107-7	78-34-2	T+; R26/28 T; R24 N; R50-53	T+; N R: 24-26/28-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %; T+; N; R24-26/28-50-53 7 % ≤ C < 25 %; T+; N; R21-26/28-50-53 3 % ≤ C < 7 %; T; N; R21-23/25-50-53 1 % ≤ C < 3 %; T; N; R23/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %; Xn; N; R20/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %; N; R50-	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
015-065-00-0	dithiophosphate de <i>O,O</i> -diméthyle et de <i>S</i> -(2-éthylsulfonyle)		-	2703-37-9	T+; R26/27/28 N; R51-53	T+; N R: 26/27/28-51/53 S: (1/2-)13-28-45-61	53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,00025 %; R52-53	
015-076-00-0	thiophosphate de <i>O,O</i> -diéthyle et de <i>O</i> -(4-méthyl-7-couraminyle)		-	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 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 53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,00025 %; R52-53	
015-078-00-1	déméton- <i>S</i> -méthylsulfone thiophosphate de <i>S</i> -(2-éthylsulfonyle) et de diméthyle		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	bensulide (ISO) dithiophosphate de <i>O,O</i> -diisopropyle et de 2-phénylsulfonyle		212-010-4	741-58-2	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)24-36-60-61		
015-084-00-4	chlorpyrifos (ISO) thiophosphate de <i>O,O</i> -diéthyle et de <i>O</i> -3,5,6-trichloro-2-pyridyle		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 53 0,00025 % ≤ C < 0,00025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,00025 %; R52-53	
015-095-00-4	méthamidophos (ISO) thiophosphoramide de <i>O,S</i> -diméthyle		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	oxydisulfon dithiophosphate de <i>O,O</i> -diéthyle		219-679-1	2497-07-6	T+; R28 T; R24	T+; N R: 24+28-50/53	C ≥ 25 %; T+; N; R24-28-50-53 53	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
	et de S-(2-éthylsulfanyl)éthyle)				N; R50-53	S: (1/2-)28-36/37-45-60-61	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	penthioate (ISO) 2-(diméthoxyphosphinothioylthio)-2-phénylacétate d'éthyle		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	phoxime (ISO) α-(diéthoxyphosphinothioylimino)phénylacétonitrile		238-887-3	14816-18-3	Xn; R22 N; R50-53	Xn, N R: 22-50/53 S: (2-)36-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,025 % ≤ C < 25 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
015-101-00-5	phosmet (ISO) dithiophosphate de O,O-diméthyle et de S-phthalimidométhyle		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	phosphite de triphényle		202-908-4	101-02-0	Xi; R36/38 N; R50-53	Xi, N R: 36/38-50/53 S: (2-)28-60-61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/38-50/53 5 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R36/38-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53	
015-107-00-8	éthiophos (ISO) dithiophosphate d'éthyle et de S,S'-dipropyle		236-152-1	13194-48-4	T+, R26/27 T; R25 R43 N; R50-53	T+, N R: 25-26/27-43-50/53 S: (1/2-)27/28-36/37/39-45-60-61		
015-108-00-3	bromophos (ISO) thiophosphate de O-4-bromo-2,5-		218-277-3	2104-96-3	Xn; R22 N; R50-53	Xn, N R: 22-50/53	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-50-53 0,25 % ≤ C < 25 %: N; R50-53	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
	dichlorophényl et de <i>O,O</i> -diméthyle					S: (2-)36-60-61	0,025 % ≤ C < 0,25 %; N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; R52-53	
015-109-00-9	croxyphos (ISO) 3-(diméthoxyphosphinyl)isocrotonate de 1-phényléthyle		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	cyanothiophos (ISO) phénylthiophosphonate de <i>O</i> -4-cyanophényl et de <i>O</i> -éthyle		-	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	chlorméphos (ISO) dithiophosphate de <i>S</i> -chlorométhyle et de <i>O,O</i> -diéthyle		246-538-1	24934-91-6	T+; R27/28 N; R50-53	T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61		
015-115-00-1	chlorthiophos (ISO)		244-663-6	21923-23-9	T+; R28 T; R24 N; R50-53	T+; N R: 24-28-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45-60-61		
015-122-00-X	thiophosphate de <i>O</i> -6-éthoxy-2-éthylpyrimidine-4-yle et de <i>O,O</i> -diméthyle étrimfos		253-855-9	38260-54-7	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)60-61	C ≥ 25 %; Xn, N; R22-50-53 2,5 % ≤ C < 25 %; N; R50-53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; R52-53	
015-123-00-5	phénamiphos (ISO) <i>N</i> -isopropylphosphoramidate d'éthyle et de 4-méthylthio- <i>m</i> -tolyle		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	hepténophos (ISO) phosphate de 7-chlorobicyclo[3.2.0]hepta-2,6-		245-737-0	23560-59-0	T; R25 N; R50-53	T; N R: 25-50/53 S: (1/2-)23-28-37-45-	C ≥ 25 %; T; N; R25-50-53 3 % ≤ C < 25 %; Xn, N; R22-50-53	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
	diène-6-yle et de diméthyle					60-61	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	iprobénfos thiophosphate de S-benzyle et de O,O-diisopropyle		247-449-0	26087-47-8	Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)61		
015-128-00-2	dithiophosphate de S- éthylsulfinylméthyle et de O,O- diisopropyle		-	5827-05-4	T+; R27 T; R25 N; R50-53	T+; N R: 25-27-50/53 S: (1/2-)28-36/37-45- 60-61	C ≥ 25 %: T+; N; R25-27-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+; N; R22-27-50-53 3 % ≤ C < 7 %: T; N; R22-24-50-53 1 % ≤ C < 3 %: T; N; R24-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; N; R21-50-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; N; R21-51-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-129-00-8	isophenphos (ISO) N-isopropylthiophosphoramidate de O-éthyle et de O-2- isopropoxycarbonylphényle		246-814-1	25311-71-1	T; R24/25 N; R50-53	T; N R: 24/25-50/53 S: (1/2-)36/37-45-60- 61	C ≥ 25 %: T; N; R24/25-50-53 3 % ≤ C < 25 %: Xn; N; R21/22-50-53 0,25 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
015-131-00-9	isoxathion (ISO) thiophosphate de O,O-diéthyle et de O-5-phénylisoxazole-3-yle		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	dithiophosphate de S-(4- chlorophénylthiométhyle) et de O,O-diméthyle		-	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	pipérophos (ISO)		-	24151-93-7	Xn; R22	Xn; N	C ≥ 25 %: Xn; N; R22-50-53	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
	dithiophosphate de S-2-méthylpipéridinocarbonylméthyle et de O,O-dipropyle				N; R50-53	R: 22-50/53 S: (2-)60-61	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	pyrimiphos-méthyl (ISO) thiophosphate de O-(2-diéthylamino-6-méthylpyrimidine-4-yle) et de O,O-diméthyle		249-528-5	29232-93-7	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)60-61		
015-135-00-0	thiophosphate de O-(4-bromo-2-chlorophényle), de O-éthyle et de S-propyle profénofos (ISO)		255-255-2	41198-08-7	Xn; R20/21/22 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)36/37-60-61	C ≥ 25 %; Xn; N; R20/21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 25 %; N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %; R52-53	
015-136-00-6	3-[[[éthylamido)méthoxyphosphino thioyl]oxy]crotonate d'isopropyle propétamphos (ISO)		250-517-2	31218-83-4	T; R25 N; R50-53	T; N R: 25-50/53 S: (1/2-)37-45-60-61	C ≥ 25 %; T; N; R25-50-53 3 % ≤ C < 25 %; Xn; N; R22-50-53 0,25 % ≤ C < 3 %; N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; R52-53	
015-138-00-7	quinalphos (ISO) chinalphos thiophosphate de O,O-diéthyle et de O-quinoxaline-2-yle		237-031-6	13593-03-8	T; R25 Xn; R21 N; R50-53	T; N R: 21-25-50/53 S: (1/2-)22-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %; T; N; R21-25-50-53 3 % ≤ C < 25 %; Xn; N; R22-50-53 0,025 % ≤ C < 3 %; N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %; R52-53	
015-139-00-2	dithiophosphate de S-tert-butylthiométhyle et de O,O-diéthyle terbufos (ISO)		235-963-8	13071-79-9	T+; R27/28 N; R50-53	T+; N R: 27/28-50/53 S: (1/2-)36/37-45-60-61	C ≥ 7 %; T+; N; R27/28-50-53 1 % ≤ C < 7 %; T; N; R24/25-50-53 0,1 % ≤ C < 1 %; Xn; N; R21/22-50-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %; N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %; R52-53	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
015-154-00-4	acide 2-chloroéthylphosphonique éthéphon		240-718-3	16672-87-0	Xn; R20/21 C; R34 R52-53	C R: 20/21-34-52/53 S: (1/2-)26-28-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %; C; R20/21-34-52/53 10 % ≤ C < 25 %; C; R34 5 % ≤ C < 10 %; Xi; R36/37/38	
015-179-00-0	Produit de condensation UVCB de: chlorure de tétrakis-hydroxyméthylphosphonium, urée et de C16-18-sulfalkylamine hydrogénée disillée		422-720-8	166242-53-1	Carc. Cat. 3; R40 Xn; R22-48/22 C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 22-34-40-43-48/22-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
016-001-00-4	sulfure d'hydrogène		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	polysulfures d'ammonium		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	monochlorure de soufre dichlorure de disulfure		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	dichlorure de soufre		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	tétrachlorure de soufre		-	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	méthanthiol méthylmercaptan		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	sulfate de diméthyle	E	201-058-1	77-78-1	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 T+; R26 T; R25 C; R34 R43	T+ R: 45-25-26-34-43-68 S: 53-45	C ≥ 25 %; T+; R45-R25-R26-R34-R43-R68 10 % ≤ C < 25 %; T+; R45-R22-R26-R34-R43-R68 7 % ≤ C < 10 %; T+; R45-R22-R26-R36/37/38-R43-R68 5 % ≤ C < 7 %; T; R45-R22-R23-R36/37/38-R43-R68 3 % ≤ C < 5 %; T; R45-R22-R23-R43-R68	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
016-059-00-0	dichlorhydrate de N,N,N',N'-tétraméthylthiobis(éthylène)diamine		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	1 % ≤ C < 3 %: T; R45-R23-R43-R68 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-R20-R68 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45-R68	
017-003-00-8	chlorate de baryum		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	chlorate de potassium		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	chlorate de sodium		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	hypochlorite de sodium, solution ... % Cl actif	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	hypochlorite de calcium		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	trioxyde de chrome (VI)	E	215-607-8	1333-82-0	O; R9 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 3; R62 T+; R26 T; R24/25-48/23 C; R35 R42/43 N; R50-53	O; T+; N R: 45-46-9-24/25-26-35-42/43-48/23-62-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R24/25-26-35-42/43-45-46-48/23-50/53-62 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R21/22-26-35-42/43-45-46-48/23-51/53-62 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R21/22-26-34-42/43-45-46-48/20-51/53-62 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R21/22-23-34-42/43-45-46-48/20-51/53-62 3 % ≤ C < 5 %: T, N; R21/22-23-36/37/38-42/43-45-46-48/20-51/53	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
024-002-00-6	dichromate de potassium	E	231-906-6	7778-50-9	O; R8 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; 50-53	T+; N; O R: 45-46-60-61-8-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61	2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R23-36/37/38-42/43-45-46-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R23-36/37/38-42/43-45-46-48/20-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: T; R20-45-46-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R20-45-46	3
024-003-00-1	dichromate d'ammonium	E	232-143-1	7789-09-5	E; R2 O; R8 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43	E; T+; N R: 45-46-60-61-2-8-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+; N; R45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+; N; R45-46-60-61-22-26-34-42/43-48/23-50/53 7 % ≤ C < 10 %: T+; N; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-51/53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 3 % ≤ C < 5 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: T, N; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20-42/43-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20-42/43 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45-46-20	3

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
024-004-00-7	dichromate de sodium	E	234-190-3	10588-01-9	O: R8 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; 50-53	T+; N; O R: 45-46-60-61-8-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61	60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 3 % ≤ C < 5 %; T; N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %; T; N; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; T; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %; T; R45-46-60-61-20-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %; T; R45-46-20-42/43-52/53 0,2 % ≤ C < 0,25 %; T; R45-46-20-42/43 0,1 % ≤ C < 0,2 %; T; R45-46-20	3
024-004-01-4	dichromate de sodium, dihydrate	E	234-190-3	7789-12-0	O: R8 Carc. Cat. 2; R45	T+; N; O R: 45-46-60-61-8-21-	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

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
024-011-00-5	bis(1-(3,5-dinitro-2-oxydophénylazo)-3-(N-phénylcarbamoyl)-2-naphtholato)chromate(1-) d'ammonium		400-110-2		Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23 Xn; R21 C; R34 R42/43 N; R50-53	25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61	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	
024-018-00-3	chromate de sodium	E	231-889-5	7775-11-3	F; R11 N; R50-53	T+; N R: 45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %; T+, N; R45-46-60-61-21-25-26-34-42/43-48/23-50/53 10 % ≤ C < 25 %; T+, N; R45-46-60-61-22-26-34-42/43-48/23-51/53 7 % ≤ C < 10 %; T+, N; R45-46-60-61-22-26-36/37/38-42/43-48/20-51/53 5 % ≤ C < 7 %; T, N; R45-46-60-61-22-23-36/37/38-42/43-48/20-51/53 3 % ≤ C < 5 %; T, N; R45-46-60-61-22-23-42/43-48/20-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %; T, N; R45-46-60-61-23-42/43-48/20-	3

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
027-004-00-5	dichlorure de cobalt	E	231-589-4	7646-79-9	Carc. Cat. 2; R49 Xn: R22 R42/43 N: R50-53	T; N R: 49-22-42/43-50/53 S: (2-)22-53-45-60-61	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	1
027-005-00-0	sulfate de cobalt	E	233-334-2	10124-43-3	Carc. Cat. 2; R49 Xn: R22 R42/43 N: R50-53	T; N R: 49-22-42/43-50/53 S: (2-)22-53-45-60-61	C ≥ 25 %; T, N; R49-22-42/43-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %; T, N; R49-22-42/43-51/53 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
029-002-00-X	oxyde de cuivre (I) oxyde cuivreux		215-270-7	1317-39-1	Xn: R22 N: 50-53	Xn: N R: 22-50/53 S: (2-)22-60-61	C ≥ 25 %; T, N; R49-22-42/43-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %; T, N; R49-42/43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; T; R49-42/43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %; T; R49-52/53 0,01 % ≤ C < 0,25 %; T; R49	
030-001-00-1	zinc en poudre - poussières de zinc (pyrophoriques)		231-175-3	7440-66-6	F; R15-17 N: R50-53	F; N R: 15-17-50/53 S: (2-)43-46-60-61		
030-002-00-7	zinc en poudre - poussières de zinc (stabilisées)		231-175-3	7440-66-6	N: R50-53	N		
030-003-00-2	chlorure de zinc		231-592-0	7646-85-7	Xn: R22 C: R34 N: R50-53	C; N R: 22-34-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %; C, N; R22-34-50/53 10 % ≤ C < 25 %; C, N; R34-51/53 5 % ≤ C < 10 %; Xn, N; R36/37/38-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %; N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; R52/53	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
030-006-00-9	sulfate de zinc (mono-, hexa- et heptahydraté)		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	sulfate de zinc (anhydre)		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	arsenic		-	-	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	composés d'arsenic à l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe	A	-	-	T; R23 Xi; R41 R53	T R: 23-41-53 S: (1/2-)26-37/39-45-61		
042-002-00-4	hexa-μ-oxotétra-μ3-oxodi-μ5-oxotétradécacoocctamolybdate(4-) de tétrakis(diméthyliditradécylammonium)		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	composés du cadmium à l'exclusion du sulfoséniure (xCdS,yCdSe), du sulfure mixte cadmium-zinc (xCdS,yZnS), du sulfure mixte cadmium-mercure (xCdS,yHgS) et de ceux nommément désignés dans cette annexe	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	diformiate de cadmium		224-729-0	4464-23-7	T; R23/25 R33 Xn; R68 N; R50-53	T; N R: 23/25-33-68-50/53 S: (1/2-)22-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/25-33-50/53-68 10 % ≤ C < 25 %: T, N; R23/25-33-51/53-68 2,5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/22-33-51/53-68 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/22-33-52/53-68 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/22-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/22-33-52/53	
048-004-00-1	cyanure de cadmium		208-829-1	542-83-6	T+; R26/27/28 R32 R33 Xn; R68	T+; N R: 26/27/28-32-33-68-50/53 S: (1/2-)7-28-29-45-	C ≥ 25 %: T+, N; R26/27/28-32-33-50/53-68 7 % ≤ C < 25 %: T+, N; R26/27/28-32-33-51/53-68	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
048-005-00-7	hexafluorosilicate(2-) de cadmium		241-084-0	17010-21-8	T; R23/25 R33 Xn; R68 N; R50-53	60-61	2,5 % ≤ C < 7 %: T, N; R23/24/25-32-33-51/53-68 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R23/24/25-32-33-52/53-68 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22-33	
048-006-00-2	fluorure de cadmium	E	232-222-0	7790-79-6	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23/25 N; R50-53	T+; N R: 45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+, N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+, N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R45-46-60-61-22-26-48/23/25-51/53 2,5 % ≤ C < 7 %: T, N; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20/22-48/20/22-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20/22-48/20/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20/22-48/20/22 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
048-007-00-8	iodure de cadmium		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	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
048-008-00-3	chlorure de cadmium	E	233-296-7	10108-64-2	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T+; R26 T; R25-48/23/25 N; R50-53	T+; N R: 45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 S: 53-45-60-61	33-52/53-68 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/22-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/22-33	
048-009-00-9	sulfate de cadmium	E	233-331-6	10124-36-4	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 T; R48/23/25 T+; R26 T; R25 N; R50-53	T+; N R: 45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+; N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-50/53 10 % ≤ C < 25 %: T+; N; R45-46-60-61-25-26-48/23/25-51/53 7 % ≤ C < 10 %: T+; N; R45-46-60-61-22-26-48/23/25-51/53 2,5 % ≤ C < 7 %: T; N; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-46-60-61-22-23-48/20/22-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-60-61-20/22-48/20/22-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-20/22-48/20/22-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-20/22-48/20/22-51/53 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
048-010-00-4	sulfure de cadmium	E	215-147-8	1306-23-6	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68	T; N R: 45-22-48/23/25-62-	C ≥ 25 %: T; R45-22-48/23/25-62-63-68-53	1

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
050-001-00-5	tétrachlorure détain		231-588-9	7646-78-8	C; R34 R52-53	C R: 34-52/53 S: (1/2-)/7/8-26-45-61	10 % ≤ C < 25 %: T; R45-22-48/23/25-62-63-68 5 % ≤ C < 10 %: T; R45-48/20/22-62-63-68 1 % ≤ C < 5 %: T; R45-48/20/22-68 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-48/20/22	
050-005-00-7	composés de triméthylétain à l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe	A	-	-	T+; R26/27/28 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-50/53 S: (1/2-)/26-27-28-45-60-61	C ≥ 25 %: T+; N; R26/27/28-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+; N; R26/27/28-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R23/24/25-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R23/24/25 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22	I
050-006-00-2	composés de triéthylétain à l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe	A	-	-	T+; R26/27/28 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-50/53 S: (1/2-)/26-27-28-45-60-61	C ≥ 25 %: T+; N; R26/27/28-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+; N; R26/27/28-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R23/24/25-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R23/24/25 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22	I
050-007-00-8	composés de tripropylétain à l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe	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	I

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
050-008-00-3	composés de tributylétain à l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe	A	-	-	T; R25-48/23/25 Xn; R21 Xi; R36/38 N; R50-53	T; N R: 21-25-36/38-48/23/25-50/53 S: (1/2-)35-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R21-25-36/38-48/23/25-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R21-25-36/38-48/23/25-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R21-25-36/38-48/23/25-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn; R22-48/20/22-52/53	I
050-009-00-9	fluorotripropylstannane [1] hexapentylidistannoxane [2]		243-546-7 [1] 247-143-7 [2]	20153-49-5 [1] 25637-27-8 [2]	Xn; R20/21/22 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/21/22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20/21/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/21/22-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	I
050-010-00-4	fluorotrihexylstannane		243-547-2	20153-50-8	Xn; R20/21/22 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/21/22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20/21/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/21/22-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	I
050-011-00-X	composés de triphénylétain à l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe	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	I
050-012-00-5	tétracyclohexylstannane [1] chlorotricyclohexylstannane [2] butyltricyclohexylstannane [3]	A	215-910-5 [1] 221-437-5 [2] 230-358-5 [3]	1449-55-4 [1] 3091-32-5 [2] 7067-44-9 [3]	Xn; R20/21/22 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20/21/22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20/21/22-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/21/22-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	I
050-013-00-0	composés de trioctylétain à l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe	A	-	-	Xi; R36/37/38 R53	Xi R: 36/37/38-53 S: (2-)61	C ≥ 25 %: Xi; R36/37/38-53 1 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/37/38	I
051-002-00-3	pentachlorure d'antimoine		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	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
051-003-00-9	composés d'antimoine à l'exclusion du téroxyde (Sb_2O_3), du pentoxyde (Sb_2O_5), du trisulfure (Sb_2S_3), du pentasulfure (Sb_2S_5) et de ceux nommément désignés dans cette annexe	A	-	-	Xn; R20/22 N; R51-53	Xn; N R: 20/22-51/53 S: (2-)-61	5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36/37/38-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: R52/53 C ≥ 25 %: Xn; N; R20/22-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: Xn; R20/22-52/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/22	I
080-002-00-6	composés minéraux du mercure à l'exception du sulfure mercurique (cinabre) et de ceux nommément désignés dans cette annexe	A	-	-	T+; R26/27/28 R33 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-33-50/53 S: (1/2-)-13-28-45-60-61	C ≥ 25 %: T+; N; R26/27/28-33-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+; N; R26/27/28-33-51/53 2 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-33-52/53 0,5 % ≤ C < 2 %: T; R23/24/25-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: Xn; R20/21/22-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22-33	I
080-004-00-7	composés organiques du mercure à l'exception de ceux nommément désignés dans cette annexe	A	-	-	T+; R26/27/28 R33 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-33-50/53 S: (1/2-)-13-28-36-45-60-61	C ≥ 25 %: T+; N; R26/27/28-33-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+; N; R26/27/28-33-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-33-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R23/24/25-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: Xn; R20/21/22-33-52/53 0,05 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20/21/22-33	I
080-007-00-3	diméthylmercure [1] diéthylmercure [2]		209-805-3 [1] 211-000-7 [2]	593-74-8 [1] 627-44-1 [2]	T+; R26/27/28 R33 N; R50-53	T+; N R: 26/27/28-33-50/53 S: (1/2-)-13-28-36-45-60-61	C ≥ 25 %: T+; N; R26/27/28-33-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T+; N; R26/27/28-33-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T+; R26/27/28-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R23/24/25-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R23/24/25-33 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22-33	I

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
082-001-00-6	composés du plomb à l'exception de ceux nommément désignés dans cette annexe	AE	-	-	Repr. Cat. 1; R61 Repr. Cat. 3; R62 Xn; R20/22 R33 N; R50-53	T; N R: 61-20/22-33-62-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T; N; R61-20/22-33-62-50/53 5 % ≤ C < 25 %: T; N; R61-20/22-33-62-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T; N; R61-20/22-33-62-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R61-20/22-33-52/53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R61-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: R52/53	1
082-002-00-1	dérivés alkylés du plomb	AE	-	-	Repr. Cat. 1; R61 Repr. Cat. 3; R62 T+; R26/27/28 R33 N; R50-53	T+; N R: 61-26/27/28-33-62-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T+; N; R61-26/27/28-33-62-50/53 5 % ≤ C < 25 %: T+; N; R61-26/27/28-33-62-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T+; N; R61-26/27/28-33-51/53 0,5 % ≤ C < 2,5 %: T+; R61-26/27/28-33-52/53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R61-26/27/28-33-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R61-23/24/25-33 0,05 % ≤ C < 0,1 %: Xn; R20/21/22-33	1
601-010-00-3	éthylène		200-815-3	74-85-1	F+; R12 R67	F+ R: 12-67 S: (2-)9-16-33-46		
601-014-00-5	isoprène (stabilisé) 2-méthyl-1,3-butadiène	D	201-143-3	78-79-5	F+; R12 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 R52-53	F+; T R: 45-12-68-52/53 S: 53-45-61		
601-017-00-1	cyclohexane		203-806-2	110-82-7	F; R11 Xn; R65 Xi; R38 R67 N; R50-53	F; Xn; N R: 11-38-65-67-50/53 S: (2-)9-16-25-33-60-61-62		4 6
601-020-00-8	benzène	E	200-753-7	71-43-2	F; R11 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46 T; R48/23/24/25 Xn; R65 Xi; R36/38	F; T R: 45-46-11-36/38-48/23/24/25-65 S: 53-45		
601-021-00-3	toluène		203-625-9	108-88-3	F; R11	F; Xn		4, 6

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
601-025-00-5	mésitylène 1,3,5-triméthylbenzène		203-604-4	108-67-8	Repr. Cat. 3; R63 Xn; R48/20-65 Xi; R38 R67	R: 11-38-48/20-63-65-67 S: (2-)36/37-62-46	C ≥ 25 %: Xi, N; R37-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: R52/53	
601-027-00-6	2-phénylpropène		202-705-0	98-83-9	R10 Xi; R37 N; R51-53	Xi; N R: 10-37-51/53 S: (2-)61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: R52/53	
601-028-00-1	2-méthylstyrène 2-vinyltoluène		210-256-7	611-15-4	Xn; R20 N; R51-53	Xn; N R: 20-51/53 S: (2-)24-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R20-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: R52/53	
601-032-00-3	benzo[<i>a</i>]fluoranthène benzo[<i>a</i>]pyrène		200-028-5	50-32-8	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 R43 N; R50-53	T; N R: 45-46-60-61-43-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R43-45-46-50-53-60-61 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R43-45-46-51-53-60-61 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R43-45-46-52-53-60-61 0,5 % ≤ C < 1 %: T; R45-46-52-53-60-61 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; R45-46-52-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-46-52-53 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
601-037-00-0	n-hexane		203-777-6	110-54-3	F; R11 Repr. Cat. 3; R62 Xn; R65-48/20 Xi; R38 R67 N; R51-53	F; Xn; N R: 11-38-48/20-62-65-67-51/53 S: (2-)9-16-29-33-36/37-61-62	C ≥ 25 %: Xn, N; R38-48/20-62-51/53 20 % ≤ C < 25 %: Xn; R38-48/20-62-52/53 5 % ≤ C < 20 %: Xn; R48/20-62-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: R52/53	4 6
601-041-00-2	dibenzo[<i>a,h</i>]anthracène		200-181-8	53-70-3	Carc. Cat. 2; R45 N; R50-53	T; N R: 45-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R45-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R45-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-52/53 0,01 % ≤ C < 0,25 %: T; R45	
601-048-00-0	chrysène		205-923-4	218-01-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 N; R50-53	T; N R: 45-68-50/53 S: 53-45-60-61		
601-052-00-2	naphthalène		202-049-5	91-20-3	Carc. Cat. 3; R40	Xn; N		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
601-053-00-8	nonylphénol [1] 4-nonylphénol, ramifié [2]		246-672-0 [1] 284-325-5 [2]	25154-52-3 [1] 84852-15-3 [2]	Xn; R22 N; R50-53 Repr. Cat. 3; R62 Repr. Cat. 3; R63 Xn; R22 C; R34 N; R50-53	R: 22-40-50/53 S: (2-3)36/37-46-60-61 C; N R: 22-34-62-63-50/53 S: (1/2-2)26-36/37/39-45-46-60-61		
602-003-00-8	dibromométhane		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	tétrachlorure de carbone tétrachlorométhane		200-262-8	56-23-5	Carc. Cat. 3; R40 T; R23/24/25-48/23 R52-53 N; R59	T; N R: 23/24/25-40-48/23-59-52/53 S: (1/2-)23-36/37-45-59-61	C ≥ 25 %: T; N; R23/24/25-40-48/23-52/53-59 1 % ≤ C < 25 %: T; N; R23/24/25-40-48/23-59 0,2 % ≤ C < 1 %: Xn; N; R20/21/22-48/20-59 0,1 % ≤ C < 0,2 %: N; R59	
602-010-00-6	1,2-dibromoéthane	E	203-444-5	106-93-4	Carc. Cat. 2; R45 T; R23/24/25 Xi; R36/37/38 N; R51-53	T; N R: 45-23/24/25-36/37/38-51/53 S: 53-45-61	C ≥ 25 %: T; N; R45-23/24/25-36/37/38-51/53 20 % ≤ C < 25 %: T; N; R45-23/24/25-36/37/38-52/53 2,5 % ≤ C < 20 %: T; N; R45-23/24/25-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23/24/25 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-20/21/22	
602-011-00-1	1,1-dichloroéthane		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-trichloroéthane		201-166-9	79-00-5	Carc. Cat. 3; R40 Xn; R20/21/22 R66	Xn R: 20/21/22-40-66 S: (2-)9-36/37-46	C ≥ 5 %: Xn; R20/21/22	
602-015-00-3	1,1,2,2-tétrachloroéthane		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	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
602-016-00-9	1,1,2,2-tétra bromoéthane		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	pentachloroéthane		200-925-1	76-01-7	Carc. Cat. 3; R40 T; R48/23 N; R51-53	T; N R: 40-48/23-51/53 S: (1/2-)23-36/37-45-61	C ≥ 25 %: T; N; R40-48/23-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T; R40-48/23-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R40-48/23 0,2 % ≤ C < 1 %: Xn; R48/20	
602-019-00-5	1-bromopropane bromure de n-propyle		203-445-0	106-94-5	F; R11 Rep. Cat. 2; R60 Rep. Cat. 3; R63 Xn; R48/20 Xi; R36/37/38 R67	T; F R: 60-11-36/37/38-48/20-63-67 S: 53-45		
602-025-00-8	1,1-dichloroéthylène chlorure de vinylène	D	200-864-0	75-35-4	F; R12 Carc. Cat. 3; R40 Xn; R20	F+; Xn R: 12-20-40 S: (2-)7-16-29-36/37-46	C ≥ 12,5 %: Xn; R20-40 1 % ≤ C < 12,5 %: Xn; R40	
602-026-00-3	1,2-dichloroéthylène [1] <i>cis</i> -dichloroéthylène [2] <i>trans</i> -dichloroéthylène [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-chloropropène chlorure d'allyle	D	203-457-6	107-05-1	F; R11 Carc. Cat. 3; R40 Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20/21/22-48/20 Xi; R36/37/38 N; R50	F; Xn; N R: 11-20/21/22-36/37/38-40-48/20-68-50 S: (2-)16-25-26-36/37-46-61		
602-033-00-1	chlorobenzène		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-dichlorobenzène <i>o</i> -dichlorobenzène		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	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
602-035-00-2	1,4-dichlorobenzène <i>p</i> -dichlorobenzène		203-400-5	106-46-7	Xi; R36 Carc. Cat. 3; R40 N; R50-53	Xn; N R: 36-40-50/53 S: (2-)/36/37-46-60-61	2,5 % ≤ C < 5 %; N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; R52/53	
602-036-00-8	2-chloro-1,3-butadiène chloroprène (stabilisé)	D E	204-818-0	126-99-8	F; R11 Carc. Cat. 2; R45 Xn; R20/22-48/20 Xi; R36/37/38	F; T R: 45-11-20/22-36/37/38-48/20 S: 53-45		
602-039-00-4	biphényles chlorés diphényles chlorés PCB	C	215-648-1	1336-36-3	R33 N; R50-53	Xn; N R: 33-50/53 S: (2-)/35-60-61	C ≥ 25 %; Xn; N; R33-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %; Xn; N; R33-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; Xn; N; R33-52/53 0,005 % ≤ C < 0,25 %; Xn; R33	
602-043-00-6	lindane γ -1,2,3,4,5,6-hexachlorocyclohexane		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-trichloropropane	D	202-486-1	96-18-4	Carc. Cat. 2; R45 Repr. Cat. 2; R60 Xn; R20/21/22	T R: 45-60-20/21/22 S: 53-45		
602-073-00-X	1,4-dichlorobut-2-ène	E	212-121-8	764-41-0	Carc. Cat. 2; R45 T+; R26 T; R24/25 C; R34 N; R50-53	T+; N R: 45-24/25-26-34-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %; T+; N; R45-24/25-26-34-50/53 10 % ≤ C < 25 %; T+; N; R45-21/22-26-34-51/53 7 % ≤ C < 10 %; T+; N; R45-21/22-26-36/37/38-51/53 5 % ≤ C < 7 %; T; N; R45-21/22-23-36/37/38-51/53 3 % ≤ C < 5 %; T; N; R45-21/22-23-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %; T; N; R45-23-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; T; R45-23-52/53	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
603-006-00-7	isomères du pentanol, à l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe	C	250-378-8	30899-19-5	R10 Xn; R20 Xi; R37 R66	Xn R: 10-20-37-66 S: (2-)/46	0,25 % ≤ C < 1 %: T; R45-20-52/53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R45-20 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
603-007-00-2	2-méthyl-2-butanol alcool tert-amylique		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	oxyde de bis-(2-chloroéthyle) éther 2,2'-dichloroéthylrique		203-870-1	111-44-4	R10 Carc. Cat. 3; R40 T+; R26/27/28	T+ R: 10-26/27/28-40 S: (1/2-)/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-aminoéthanol éthanolamine		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-diméthoxyéthane éther diméthylrique d'éthylène-glycol EGDME		203-794-9	110-71-4	Repr. Cat. 2; R60 Repr. Cat. 2; R61 F; R11 R19 Xn; R20	F; T R: 60-61-11-19-20 S: 53-45		
603-054-00-9	oxyde de dibutyle éther n-butylrique		205-575-3	142-96-1	R10 Xi; R36/37/38 R52-53	Xi R: 10-36/37/38-52/53 S: (2-)/61	C ≥ 10 %: Xi; R36/37/38	
603-063-00-8	2,3-époxypropane-1-ol glycidol	E	209-128-3	556-52-5	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 2; R60 T; R23 Xn; R21/22 Xi; R36/37/38	T R: 45-60-21/22-23-36/37/38-68 S: 53-45		
603-066-00-4	1-époxyéthyl-3,4- époxy-cyclohexane diépoxyde de vinylcyclohexène		203-437-7	106-87-6	T; R23/24/25 Xn; R68	T R: 23/24/25-68 S: (1/2-)/23-24-45	C ≥ 1 %: T; R23/24/25-68 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20/21/22	
603-067-00-X	1,2-époxy-3-phénoxypropane oxyde de glycidyle et de phényle	E	204-557-2	122-60-1	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20 Xi; R37/38	T R: 45-20-37/38-43-68-52/53 S: 53-45-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
603-070-00-6	2-amino-2-méthylpropanol		204-709-8	124-68-5	R43 R52-53 Xi; R36/38 R52-53	Xi R: 36/38-52/53 S: (2-)61	C ≥ 25 %: Xi; R36/38-52/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/38	
603-074-00-8	produit de réaction: bisphénol-A-épichlorhydrine résines époxydiques (poids moléculaire moyen ≤ 700)		500-033-5	25068-38-6	Xi; R36/38 R43 N; R51-53	Xi; N R: 36/38-43-51/53 S: (2-)28-37/39-61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/38-43-51/53 5 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/38-43-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi; R43-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43	
603-076-00-9	but-2-yne-1,4-diol 2-butyne-1,4-diol	D	203-788-6	110-65-6	C; R34 T; R23/25 Xi; R21-48/22 R43	C; T R: 21-23/25-34-43-48/22 S: (1/2-)25-26-36/37/39-45-46	C ≥ 50 %: T, C; R21-23/25-34-48/22-43 25 % ≤ C < 50 %: T; R21-23/25-36/38-48/22-43 10 % ≤ C < 25 %: Xn; R20/22-48/22-43 3 % ≤ C < 10 %: Xn; R20/22-43 1 % ≤ C < 3 %: Xi; R43	
603-095-00-2	2-(propyloxy)éthanol éther monopropylique de l'éthylène glycol EGnPE		220-548-6	2807-30-9	Xn; R21 Xi; R36	Xn R: 21-36 S: (2-)26-36/37-46		
603-105-00-5	furane	E	203-727-3	110-00-9	F+; R12 R19 Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20/22-48/22 Xi; R38 R52-53	F+; T R: 45-12-19-20/22-38-48/22-68-52/53 S: 53-45-61		
604-001-00-2	phénol		203-632-7	108-95-2	Muta. Cat. 3; R68 T; R23/24/25 Xn; R48/20/21/22 C; R34	T; C R: 23/24/25-34-48/20/21/22-68 S: (1/2-)24/25-26-28-36/37/39-45	C ≥ 10 %: T; R23/24/25-48/20/21/22-34-68 3 % ≤ C < 10 %: C; Xn; R20/21/22-34-68 1 % ≤ C < 3 %: Xn; R36/38-68	
604-009-00-6	pyrogallol 1,2,3-benzénetriol		201-762-9	87-66-1	Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20/21/22 R52-53	Xn R: 20/21/22-68-52/53 S: (2-)36/37-61	C ≥ 25 %: Xn; R20/21/22-68-52/53 10 % ≤ C < 25 %: Xn; R20/21/22-68 1 % ≤ C < 10 %: Xn; R68	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
604-010-00-1	résorcinol 1,3-benzénédiol		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-chloro- <i>o</i> -crésol 4-chloro-2-méthylphénol		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-tétrachlorophénol		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	chlorocrésol 4-chloro- <i>m</i> -crésol 4-chloro-3-méthylphénol		200-431-6	59-50-7	Xn; R21/22 Xi; R41 R43 N; R50	Xn; N R: 21/22-41-43-50 S: (2-)26-36/37/39-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R21/22-41-43-50 10 % ≤ C < 25 %: Xn; R21/22-41-43 5 % ≤ C < 10 %: Xn; R21/22-36-43 1 % ≤ C < 5 %: Xi; R43	
604-015-00-9	2,2'-méthylène-bis(3,4,6-trichlorophénol) hexachlorophène		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-trichlorophénol		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	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
604-030-00-0	bisphénol A 4,4'-isopropylidènediphénol		201-245-8	80-05-7	Repr. Cat. 3; R62 Xi; R37-41 R43	Xn R: 37-41-43-62 S: (2-)26-36/37-39-46	2,5 % ≤ C < 5 %; N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; R52/53	
605-002-00-0	1,3,5-trioxanne trioxyéthylène		203-812-5	110-88-3	F; R11 Repr. Cat. 3; R63 Xi; R37	F; Xn R: 11-37-63 S: (2-)36/37-46		
605-016-00-7	glyoxal...% éthanedial...%	B	203-474-9	107-22-2	Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20 Xi; R36/38 R43	Xn R: 20-36/38-43-68 S: (2-)36/37	C ≥ 10 %; Xn; R20-36/38-43-68 1 % ≤ C < 10 %; Xn; R43-68	
605-020-00-9	safrôle 5-allyl-1,3-benzodioxole	E	202-345-4	94-59-7	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Xn; R22	T R: 45-22-68 S: 53-45		
605-022-00-X	glutaral glutaraldéhyde 1,5-pentanedial		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	chloroacétaldéhyde		203-472-8	107-20-0	Carc. Cat. 3; R40 T+; R26 T; R24/25 C; R34 N; R50	T+; N R: 24/25-26-34-40-50 S: (1/2-)26-28-36/37/39-45-61	C ≥ 25 %; T+; N; R24/25-26-34-40-50 10 % ≤ C < 25 %; T+; R21/22-26-34-40 7 % ≤ C < 10 %; T+; R21/22-26-36/37/38-40 5 % ≤ C < 7 %; T; R21/22-23-36/37/38-40 3 % ≤ C < 5 %; T; R21/22-23-40 1 % ≤ C < 3 %; T; R23-40 0,1 % ≤ C < 1 %; Xn; R20	
606-037-00-4	triadiméfon (ISO) 1-(4-chlorophénoxy)-3,3-diméthyl-1-(1,2,4-triazole)-1-		256-103-8	43121-43-3	Xn; R22 R43 N; R51-53	Xn; N R: 22-43-51/53 S: (2-)24-37-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
	y)butanone							
606-048-00-4	2'-amino-3'-méthyl-6'-dipentylamino-10'-oxo-10'-H,9'-xanthén)-3-one		406-480-1	-	R53	R: 53 S: 61		
607-004-00-7	acide trichloroacétique		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	chloroformiate de méthyle		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	mécoprop (ISO) et ses sels acide 2-(4-chloro- <i>o</i> -tolylloxy)propionique (RS)-acide 2-(4-chloro- <i>o</i> -tolylloxy)propionique [1] acide 2-(4-chloro-2-méthylphénoxy)propionique [2]		230-386-8 [1] 202-264-4 [2]	7085-19-0 [1] 93-65-2 [2]	Xn; R22 Xi; R38-41 N; R50-53	Xn; N R: 22-38-41-50/53 S: (2-)13-26-37/39-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-38-41-50-53 20 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R38-41-50-53 10 % ≤ C < 20 %: Xi, N; R41-50-53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36-50-53 0,25 % ≤ C < 5 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
607-053-00-4	2,4-MCPB (ISO) acide 4-(4-chloro- <i>o</i> -tolylloxy)butyrique		202-365-3	94-81-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-061-00-8	acide acrylique	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	chloroformiate de benzyle		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	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-072-00-8	acrylate de 2-hydroxyéthyle	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	5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36/37/38-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: R52/53 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	phrlate de diallyle		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	acide trifluoroacétique . . . %	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	acide peracétique . . . %		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	acrylate de 2-éthylhexyle	D	203-080-7	103-11-7	Xi; R37/38 R43	Xi R: 37/38-43 S: (2-)36/37-46		
607-113-00-X	méthacrylate d'isobutyle	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	acrylate de cyclohexyle	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	esters monoalkyles ou monoaryles ou monoalkylaryles d'acide acrylique à l'exclusion de ceux nommément désignés dans cette annexe	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	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-151-00-7	propargite (ISO) sulfite de 2-(4- <i>tert</i> -butylphénoxy)cyclohexyle et de prop-2-ynyle		219-006-1	2312-35-8	Carc. Cat.3; R40 T; R23 Xi; R38-41 N; R50-53	T; N R: 23-38-40-41-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23-38-40-41-50-53 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20-38-40-41-50-53 10 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R20-40-41-50-53 5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20-40-36-50-53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R20-40-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: Xn, N; R40-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn, N; R40-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
607-189-00-4	acide triméthylènediaminotétraacétique		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	acrylate d'isooctyle		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	acrylate de <i>tert</i> -butyle	D	216-768-7	1663-39-4	F; R11 Xn; R20/21/22 Xi; R37/38 R43 N; R52-53	F; Xn R: 11-20/21/22-37/38-43-52/53 S: (2-)16-25-37-61	C > 25 %: Xn; R20/21/22-37/38-43-52-53 20 % ≤ C < 25 %: Xi; R37/38-43 1 % ≤ C < 20 %: Xi; R43	
607-247-00-9	méthacrylate de dodécyle		205-570-6	142-90-5	Xi; 36/37/38 N; R50-53	Xi; N R: 36/37/38-50/53 S: (2-)26-28-60-61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37/38-50/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi, N; R36/37/38-51/53 2,5 % ≤ C < 10 %: N; R51/53 0,25 % ≤ C < 2,50 %: R52/53	
607-249-00-X	diacrylate de (1-méthyl-1,2-éthanediylo)bis(oxy(méthyl-2,1-éthanedyle))		256-032-2	42978-66-5	Xi; R36/37/38 R43 N; R51-53	Xi; N R: 36/37/38-43-51/53 S: (2-)24-37-61	C ≥ 25 %: Xi, N; R36/37/38-43-51/53 10 % ≤ C < 25 %: Xi; R36/37/38-43-52/53 2,5 % ≤ C < 10 %: Xi; R43-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
608-003-00-4	acrylonitrile	D E	203-466-5	107-13-1	F; R11 Carc. Cat. 2; R45 T; R23/24/25 Xi; R37/38-41 R43 N; R51-53	F; T; N R: 45-11-23/24/25-37/38-41-43-51/53 S: 9-16-53-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R45-23/24/25-37/38-41-43-51/53 20 % ≤ C < 25 %: T; R45-23/24/25-37/38-41-43-52/53 10 % ≤ C < 20 %: T; R45-23/24/25-41-43-52/53 5 % ≤ C < 10 %: T; R45-23/24/25-36-43-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T; R45-23/24/25-43-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23/24/25-43 0,2 % ≤ C < 1 %: T; R45-20/21/22 0,1 % ≤ C < 0,2 %: T; R45	
608-006-00-0	bromoxynil (ISO) et ses sels 3,5-dibromo-4- hydroxybenzotrile		216-882-7	1689-84-5	Repr. Cat. 3; R63 T+; R26 T; R25 R43 N; R50-53	T+; N R: 25-26-43-63-50/53 S: (1/2-)27/28-36/37-45-63-60-61	C ≥ 25 %: T+; N; R25-26-43-63-50-53 7 % ≤ C < 25 %: T+; N; R22-26-43-63-50-53 5 % ≤ C < 7 %: T; N; R22-23-43-63-50-53 3 % ≤ C < 5 %: T; N; R22-23-43-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: T; N; R23-43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; N; R23-43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20-51-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20-52-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: R52-53	
608-007-00-6	ioxynil (ISO) et ses sels 4-hydroxy-3,5-diiodobenzotrile		216-881-1	1689-83-4	Repr. Cat. 3; R63 T; R23/25 Xn; R21-48/22 Xi; R36 N; R50-53	T; N R: 21-23/25-36-48/22-63-50/53 S: (1/2-)36/37-45-60-61-63	C ≥ 25 %: T; N; R21-23/25-36-48/22-63-50-53 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20/22-36-48/22-63-50-53 10 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R20/22-48/22-63-50-53 5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/22-63-50-53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R20/22-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: N; R50-53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
608-010-00-2	méthacrylonitrile	D	204-817-5	126-98-7	F; R11 T; R23/24/25	F; T R: 11-23/24/25-43	C ≥ 1 %: T; R23/24/25-43 0,2 % ≤ C < 1 %: Xn;	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
608-014-00-4	chlorothalonil (ISO) tétrachloroisophtalonnitrile		217-588-1	1897-45-6	R43 Carc. Cat. 3; R40 T+; R26 Xi; R41 Xi; R37 R43 N; R50-53	S: (1/2-)9-16-18-29-45 T+; N R: 26-37-40-41-43-50/53 S: (2-)28-36/37/39-45-60-61	R20/21/22-43 C ≥ 20 %: T+, N; R26-37-40-41-43-50-53 10 % ≤ C < 20 %: T+, N; R26-40-41-43-50-53 7 % ≤ C < 10 %: T+, N; R26-40-36-43-50-53 5 % ≤ C < 7 %: T, N; R23-40-36-43-50-53 2,5 % ≤ C < 5 %: T, N; R23-40-43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: T, N; R23-40-43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: Xn, N; R20-51-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: Xn; R20-52-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: R52-53	
608-017-00-0	bromoxynil octanoate (ISO) octanoate de 2,6-dibromo-4-cyanophényle		216-885-3	1689-99-2	Repr. Cat. 3; R63 T; R23 Xn; R22 R43 N; R50-53	T; N R: 22-23-43-63-50/53 S: (1/2-)36/37-45-63-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R22-23-43-63-50-53 5 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R20-43-63-50-53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R20-43-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: Xi, N; R43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi, N; R43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
608-018-00-6	ioxynil octanoate (ISO) octanoate de 4-cyano-2,6-ditiodophényle		223-375-4	3861-47-0	Repr. Cat. 3; R63 T; R25 Xi; R36 R43 N; R50-53	T; N R: 25-36-43-63-50/53 S: (1/2-)26-36/37-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R25-36-43-63-50-53 20 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R22-36-43-63-50-53 5 % ≤ C < 20 %: Xn, N; R22-43-63-50-53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R22-43-50-53 2,5 % ≤ C < 3 %: N; R43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: N; R43-51-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R51-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: R52-53	
608-021-00-2	3-(2-(diaminométhyl)énamino)thiazole-4-ylméthylthio)propionitrile		403-710-2	76823-93-3	Xn; R22 R43	Xn R: 22-43 S: (2-)22-24-37		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
609-007-00-9	2,4-dinitrotoluène dinitrotoluène, qualité technique [1] dinitrotoluène [2]	E	204-450-0 [1] 246-836-1 [2]	121-14-2 [1] 25321-14-6 [2]	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R51-53	T; N R: 45-23/24/25-48/22- 62-68-51/53 S: 53-45-61		
609-023-00-6	dinocap (ISO)	E	254-408-0	39300-45-3	Repr. Cat. 2; R61 Xn; R20-48/22 Xi; R38 R43 N; R50-53	T; N R: 61-20-22-38-43- 48/22-50/53 S: 53-45-60-61		
609-043-00-5	quintozène (ISO) pentachloronitrobenzène		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-dinitrotoluène	E	210-106-0	606-20-2	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 R52-53	T R: 45-23/24/25-48/22- 62-68-52/53 S: 53-45-61		
609-050-00-3	2,3-dinitrotoluène	E	210-013-5	602-01-7	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R50-53	T; N R: 45-23/24/25-48/22- 62-68-50/53 S: 53-45-60-61		
609-051-00-9	3,4-dinitrotoluène	E	210-222-1	610-39-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 N; R51-53	T; N R: 45-23/24/25-48/22- 62-68-51/53 S: 53-45-61		
609-052-00-4	3,5-dinitrotoluène	E	210-566-2	618-85-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22 R52-53	T R: 45-23/24/25-48/22- 62-68-52/53 S: 53-45-61		
609-055-00-0	2,5-dinitrotoluène	E	210-581-4	619-15-8	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62 T; R23/24/25 Xn; R48/22	T; N R: 45-23/24/25-48/22- 62-68-51/53 S: 53-45-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
609-056-00-6	2,2-dibromo-2-nitroéthanol		412-380-9	69094-18-4	N; R51-53 E; R2 Carc. Cat. 3; R40 Xn; R22-48/22 C; R35 R43 N; R50-53	E; C; N R: 2-22-35-40-43-48/22-50/53 S: (1/2-)23-26-35-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %; C, N; R22-35-40-43-48/22-50/53 10 % ≤ C < 25 %; C, N; R22-35-40-43-48/22-51/53 5 % ≤ C < 10 %; C, N; R34-40-43-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %; Xn, N; R36/37/38-40-43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %; Xn; R36/37/38-40-43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %; R52/53	
610-005-00-5	1-chloro-4-nitrobenzène		202-809-6	100-00-5	Carc. Cat. 3; R40 Mut. Cat. 3; R68 T; R23/24/25 Xn; R48/20/21/22 N; R51-53	T; N R: 23/24/25-40-48/20/21/22-68-51/53 S: (1/2-)28-36/37-45-61		
611-001-00-6	azobenzène	E	203-102-5	103-33-3	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20/22-48/22 N; R50-53	T; N R: 45-20/22-48/22-68-50/53 S: 53-45-60-61		
611-060-00-8	Mélange de: 5-[8-[4-[4-[4-17-(3,5-dicarboxylatophénylazo)-8-hydroxy-3,6-disulfonatonaphthalén-1-ylamino]-6-hydroxy-1,3,5-triazin-2-yl]-2,5-diméthylpipérazin-1-yl]-6-hydroxy-1,3,5-triazin-2-ylamino]-1-hydroxy-3,6-disulfonatonaphthalén-2-ylazo]-isophthalate de sodium; 5-[8-[4-[4-17-(3,5-dicarboxylatophénylazo)-8-hydroxy-3,6-disulfonatonaphthalén-1-ylamino]-6-hydroxy-1,3,5-triazin-2-yl]-2,5-diméthylpipérazin-1-yl]-6-hydroxy-1,3,5-triazin-2-ylamino]-1-hydroxy-3,6-disulfonatonaphthalén-2-ylazo]-isophthalate d'ammonium; acide 5-[8-[4-[4-[4-17-(3,5-dicarboxylatophénylazo)-8-hydroxy-3,6-disulfonatonaphthalén-1-ylamino]-6-hydroxy-1,3,5-triazin-2-yl]-2,5-		413-180-4	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
611-063-00-4	diméthylpipérazin-1-yl]-6-hydroxy-1,3,5-triazin-2-ylamino]-1-hydroxy-3,6-disulfonaphthalén-2-ylazo]-isophtalique		413-590-3	164058-22-4	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
612-008-00-7	[4-(8-acétylamino-3,6-disulfonato-2-naphthylazo)-4''-(6-benzoylamino-3-sulfonato-2-naphthylazo)-biphényl-1,3,3'',1''-tétraolato-O,O',O'',O''']leuvre(II) de trisodium		200-539-3	62-53-3	Carc. Cat. 3; R40 Muta. Cat. 3; R68 T; R23/24/25-48/23/24/25 Xi; R41 R43 N; R50	T; N R: 23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-68-50 S: (1/2-)/26-27-36/37/39-45-46-61-63	C ≥ 25 %; T, N; R23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-50-68 10 % ≤ C < 25 %; T; R20/21/22-40-41-43-48/23/24/25-68 1 % ≤ C < 10 %; T; R20/21/22-40-43-48/23/24/25-68 0,2 % ≤ C < 1 %; Xn; R48/20/21/22	
612-009-00-2	sels d'aniline	A	-	-	Carc. Cat. 3; R40 Muta. Cat. 3; R68 T; R23/24/25 Xi; R41 R43 N; R50	T; N R: 23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-68-50 S: (1/2-)/26-27-36/37/39-45-61-63	C ≥ 25 %; T, N; R23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-50-68 10 % ≤ C < 25 %; T; R20/21/22-40-41-43-48/23/24/25-68 1 % ≤ C < 10 %; T; R20/21/22-40-43-48/23/24/25-68 0,2 % ≤ C < 1 %; Xn; R48/20/21/22	
612-010-00-8	Chloroanilines (à l'exclusion de celles nommément désignées dans cette annexe)	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-naphthylamine	E	202-080-4	91-59-8	Carc. Cat. 1; R45 Xn; R22 N; R51-53	T; N R: 45-22-51/53 S: 53-45-61	C ≥ 25 %; T, N; R45-22-51/53 2,5 % ≤ C < 25 %; T; R45-52/53 0,01 % ≤ C < 2,5 %; T; R45	
612-023-00-9	phénylhydrazine [1] chlorure de phénylhydrazinium [2] chlorhydrate de phénylhydrazine [3] sulfate de phénylhydrazinium (1;2)	E	202-873-5 [1] 200-444-7 [2] 248-259-0 [3] 257-622-2 [4]	100-63-0 [1] 59-88-1 [2] 27140-08-5 [3] 52033-74-6 [4]	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 T; R23/24/25-43-48/23/24/25 Xi; R36/38 R43 N; R50	T; N R: 45-23/24/25-36/38-43-48/23/24/25-68-50 S: 53-45-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
612-025-00-X	[4] nitrotoluidines (à l'exclusion de celles nommément désignées dans cette annexe)	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-méthoxyaniline <i>o</i> -anisidine	E	201-963-1	90-04-0	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 T; R23/24/25	T R: 45-23/24/25-68 S: 53-45		
612-042-00-2	benzidine 4,4'-diaminobiphényle	E	202-199-1	92-87-5	Carc. Cat. 1; R45 Xn; R22 N; R50-53	T; N R: 45-22-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R45-22-50/53 2,5 % ≤ C < 25 %: T, N; R45-51/53 0,01 % ≤ C < 2,5 %: T; R45	
612-051-00-1	4,4'-diaminodiphénylméthane 4,4'-méthylènediamiline	E	202-974-4	101-77-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 T; R39/23/24/25 Xn; R48/20/21/22 R43 N; R51-53	T; N R: 45-39/23/24/25-43-48/20/21/22-68-51/53 S: 53-45-61		
612-054-00-8	<i>N,N</i> -diéthylaniline		202-088-8	91-66-7	T; R23/24/25 R33 N; R51-53	T; N R: 23/24/25-33-51/53 S: (1/2-)28-37-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/24/25-33-51/53 5 % ≤ C < 25 %: T; R23/24/25-33-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xn; R20/21/22-33-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xn; R20/21/22-33	
612-056-00-9	<i>N,N</i> -diméthyl- <i>p</i> -toluidine [1] <i>N,N</i> -diméthyl- <i>m</i> -toluidine [2] <i>N,N</i> -diméthyl- <i>o</i> -toluidine [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-diazaoctane-1,8-diamine triéthylènetétramine		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-triazaundécane-1,11-diamine tétraéthylènepentamine		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-	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
612-064-00-2	3,6,9,12-tétraazatétradécane-1,14-diamine pentaéthylènehexamine		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	52/53 1 % ≤ C < 2,5 %; Xi; R43 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	polyéthylèneopolyamines, à l'exclusion de celles nommément désignées dans cette annexe		-	-	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	dicyclohexylamine		202-980-7	101-83-7	Xn; R22 C; R34 N; R50-53	C; N R: 22-34-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %; C; N; R22-34-50/53 10 % ≤ C < 25 %; C; N; R34-51/53 2,5 % ≤ C < 10 %; Xi; N; R36/38-51/53 2 % ≤ C < 2,5 %; Xi; R36/38-52/53 0,25 % ≤ C < 2 %; R52/53	
612-067-00-9	3-aminométhyl-3,5,5-triméthylcyclohexylamine isophoronediamine		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; R34-43-51/53 5 % ≤ C < 10 %; Xi; R36/38-43-52/53 1 % ≤ C < 5 %; Xi; R43	
612-077-00-3	diméthylnitrosoamine N-nitrosodiméthylamine	E	200-549-8	62-75-9	Carc. Cat. 2; R45 T+; R26 T; R25-48/25 N; R51-53	T+; N R: 45-25-26-48/25-51/53 S: 53-45-61	C ≥ 25 %; T+; N; R45-25-26-48/25-51/53 10 % ≤ C < 25 %; T+; R45-22-26-48/25-52/53 7 % ≤ C < 10 %; T+; R45-22-26-48/22-52/53 3 % ≤ C < 7 %; T; R45-22-23-48/22-52/53 2,5 % ≤ C < 3 %; T; R45-23-48/22-52/53	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
612-086-00-2	amitrazé (ISO) <i>N,N</i> -bis(2,4-xylyliminométhyl)méthylamine		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	1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23-48/22 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-20 0,001 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
612-087-00-8	guazatine		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	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	
612-094-00-6	chlorhydrate de 4-(2-chloro-4-trifluorométhyl)phénoxy-2-fluoreaniline		402-190-4	-	T; R48/25 Xn; R22-48/20 Xi; R41 R43 N; R50-53	T; N R: 22-41-43-48/20-48/25-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
612-121-00-1	amines, polyéthylène poly-HEPA		268-626-9	68131-73-7	Xn; R21/22 C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 21/22-34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: C, N; R21/22-34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R34-43-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xi, N; R36/38-43-51/53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi, N; R43-51/53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52/53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52/53	
612-136-00-3	<i>N</i> -isopropyl- <i>N'</i> -phényl- <i>p</i> -phénylène diamine		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	diaminotoluène remi	E	246-910-3 	25376-45-8 	Carc. Cat. 2; R45 T; R25	T; N R: 45-20/21-25-36-43-		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
613-009-00-5	1,1 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine chlorure de cyanuryle		202-453-1 [2] 212-513-9 [3]	95-80-7 [2] 823-40-5 [3]	Xn; R20/21 Xi; R36 R43 N; R51-53	51/53 S: 53-45-61	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	amitrole (ISO) 1,2,4-triazole-3-ylamine aminotriazole		200-521-5	61-82-5	Repr. Cat. 3; R63 Xn; R48/22 N; R51-53	Xn; N R: 48/22-63-51/53 S: (2-)13-36/37-61		
613-033-00-6	2-méthylaziridine propylèneimine	E	200-878-7	75-55-8	F; R11 Carc. Cat. 2; R45 T+; R26/27/28 Xi; R41 N; R51-53	F; T+; N R: 45-11-26/27/28-41-51/53 S: 53-45-61	C > 25 %: T+; N; R45-26/27/28-41-51/53 10 % ≤ C < 25 %: T+; R45-26/27/28-41-52/53 7 % ≤ C < 10 %: T+; R45-26/27/28-36-52/53 5 % ≤ C < 7 %: T; R45-23/24/25-36-52/53 2,5 % ≤ C < 5 %: T; R45-23/24/25-52/53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; R45-23/24/25 0,1 % ≤ C < 1 %: T; R45-20/21/22 0,01 % ≤ C < 0,1 %: T; R45	
613-040-00-4	azacozazole (ISO) 1-[[2-(2,4-dichlorophényl)-1,3-dioxolan-2-yl]méthyl]-1H-1,2,4-triazole		262-102-3	60207-31-0	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)46		
613-043-00-0	Sulfate d'imazalil (ISO) en poudre hydrogénosulfate de 1-[2-(allyloxy)éthyl]-2-(2,4-dichlorophényl)-1H-imidazolium [1] hydrogénosulfate de (±)-1-[2-(allyloxy)éthyl]-2-(2,4-dichlorophényl)-1H-imidazolium		261-351-5 [1] 281-291-3 [2]	58594-72-2 [1] 83918-57-4 [2]	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)24/25-37-46-60-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
613-048-00-8	[2] carbendazime (ISO) benzimidazole-2-ylcarbamate de méthyle		234-232-0	10605-21-7	Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 N; R50-53	T; N R: 46-60-61-50/53 S: 53-45-60-61		
613-049-00-3	bénomyl (ISO) 1-(butylcarbamoyl)benzimidazol-2-ylcarbamate de méthyle		241-775-7	17804-35-2	Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 2; R60-61 Xi; R37/38 R43 N; R50-53	T; N R: 46-60-61-37/38-43-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 20 %: T; N; R46-60-61-37/38-43-50-53 2,5 % ≤ C < 20 %: T; N; R46-60-61-43-50-53 1 % ≤ C < 2,5 %: T; N; R46-60-61-43-51-53 0,5 % ≤ C < 1 %: T; N; R46-60-61-51-53 0,25 % ≤ C < 0,5 %: T; N; R46-51-53 0,1 % ≤ C < 0,25 %: T; R46-52-53 0,025 % ≤ C < 0,1 %: R52-53	
613-051-00-4	molinate (ISO) 1-perihydroazépinecarbothioate de S-éthyle		218-661-0	2212-67-1	Carc. Cat 3; R40 Repr. Cat 3; R62 Xn; R20/22 Xn; R48/22 R43 N; R50-53	T; N R: 20/22-40-43-48/22-63-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61	C ≥ 25 %: Xn; N; R20/22-40-43-48/22-62-50-53 10 % ≤ C < 25 %: Xn; N; R40-43-48/22-62-50-53 5 % ≤ C < 10 %: Xn; N; R40-43-62-50-53 1 % ≤ C < 5 %: Xn; N; R40-43-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-53	
613-058-00-2	3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropanecarboxylate de <i>m</i> -phénoxybenzyle perméthrine (ISO)		258-067-9	52645-53-1	Xn; R20/22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 20/22-43-50/53 S: (2-)13-24-36/37/39-60-61	C ≥ 25 %: Xn; N; R20/22-43-50-53 1 % ≤ C < 25 %: N; R43-50-53 0,025 % ≤ C < 1 %: N; R50-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: N; R51-53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %: R52-53	
613-075-00-5	1,3-dichloro-5-éthyl-5-méthylimidazolidine-2,4-dione		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		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
613-088-00-6	1,2-benzisothiazol-3(2H)-one		220-120-9	2634-33-5	Xn; R22 Xi; R38-41 R43 N; R50	Xn; N R: 22-38-41-43-50 S: (2-)24-26-37/39-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-38-41-43-50 20 % ≤ C < 25 %: Xi; R38-41-43 10 % ≤ C < 20 %: Xi; R41-43 5 % ≤ C < 10 %: Xi; R36-43 0,05 % ≤ C < 5 %: Xi; R43	
613-112-00-5	2-octyl-2H-isothiazole-3-one		247-761-7	26530-20-1	T; R23/24 Xn; R22 C; R34 R43 N; R50-53	T; N R: 22-23/24-34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R22-23/24-34-43-50/53 10 % ≤ C < 25 %: C, N; R20/21-34-43-51/53 5 % ≤ C < 10 %: Xn, N; R20/21-36/38-43-51/53 3 % ≤ C < 5 %: Xn, N; R20/21-43-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: Xi, N; R43-51/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52/53 0,05 % ≤ C < 0,25 %: Xi; R43	
613-124-00-0	fenpropimorph cis-4-[3-(<i>p-tert</i> -butylphényl)-2-méthylpropyl]-2,6-diméthylmorpholine		266-719-9	67564-91-4	Repr. Cat. 3; R63 Xn; R22 Xi; R38 N; R51-53	Xn; N R: 22-38-63-51/53 S: (2-)36/37-46-61		
613-129-00-8	métamitron 4-amino-3-méthyl-6-phényl-1,2,4-triazine-5-one		255-349-3	41394-05-2	Xn; R22 N; R50	Xn; N R: 22-50 S: (2-)61		
613-167-00-5	mélange de: 5-chloro-2-méthyl-2H-isothiazol-3-one No. CE 247-500-7; 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one No. CE 220-239-6 (3:1) mélange de: 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one No. CE 247-500-7 et 2-méthyl-4-isothiazolin-3-one No. CE 220-239-6 (3:1)		-	55965-84-9	T; R23/24/25 C; R34 R43 N; R50-53	T; N R: 23/24/25-34-43-50/53 S: (2-)26-28-36/37/39-45-60-61	C ≥ 25 %: T, N; R23/24/25-34-43-50/53 3 % ≤ C < 25 %: C, N; R20/21/22-34-43-51/53 2,5 % ≤ C < 3 %: C, N; R34-43-51/53 0,6 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R34-43-52/53 0,25 % ≤ C < 0,6 %: Xi; R33/38-43-52/53 0,06 % ≤ C < 0,25 %: Xi; R36/38-43 0,0015 % ≤ C < 0,06 %: Xi; R43	
613-175-00-9	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-3-(2-chlorophényl)-2-(4-fluorophényl)-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)méthylloxirane		406-850-2	133855-98-8	Carc. Cat. 3; R40 Repr. Cat. 3; R62 Repr. Cat. 3; R63	Xn; N R: 40-62-63-51/53 S: (2-)36/37-46-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
615-001-00-7	isocyanate de méthyle		210-866-3	624-83-9	N; R51-53 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	sels de l'acide thiocyanique thiocyanates, sels de l'acide sulfocyanique sulfocyanates	A	-	-	Xn; R20/21/22 R32 R52-53	Xn R: 20/21/22-32-52/53 S: (2-)13-61		
615-006-00-4	diisocyanate de 2-méthyl- <i>m</i> - phénylène 2,4-diisocyanate de toluylène 2,4-TDI [1] diisocyanate de 4-méthyl- <i>m</i> - phénylène 2,6-diisocyanate de toluylène 2,6-TDI [2] diisocyanate de <i>m</i> -tolylidène diisocyanate de toluylène TDI [3]		202-039-0 [1] 209-544-5 [2] 247-722-4 [3]	91-08-7 [1] 584-84-9 [2] 26471-62-5 [3]	Carc. Cat. 3; R40 T+; R26 Xi; R36/37/38 R42/43 R52-53	T+ R: 26-36/37/38-40-42/43-52/53 S: (1/2-)23-36/37-45-61	C ≥ 25 %: T+; R26-36/37/38-40-42/43-52/53 20 % ≤ C < 25 %: T+; R26-36/37/38-40-42/43 7 % ≤ C < 20 %: T+; R26-40-42/43 1 % ≤ C < 7 %: T; R23-40-42/43 0,1 % ≤ C < 1 %: Xn; R20-42	
615-008-00-5	isocyanate de 3- isocyanatométhyl-3,5,5- triméthylcyclohexyle diisocyanate d'isophorone		223-861-6	4098-71-9	T; R23 Xi; R36/37/38 R42/43 N; R51-53	T; N R: 23-36/37/38-42/43-51/53 S: (1/2-)26-28-38-45-61	C ≥ 25 %: T, N; R23-36/37/38-42/43-51/53 20 % ≤ C < 25 %: T; R23-36/37/38-42/43-52/53 2,5 % ≤ C < 20 %: T; R23-42/43-52/53 2 % ≤ C < 2,5 %: T; R23-42/43 0,5 % ≤ C < 2 %: Xn; R20-42/43	2
615-015-00-3	thiocyanatoacétate de exo-1,7,7- triméthylbicyclo[2.2.1]hept-2-yle		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	alachlore (ISO) 2-chloro-2,6'-diéthyl- <i>N</i> - (méthoxyméthyl)acétanilide		240-110-8	15972-60-8	Carc. Cat. 3; R40 Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-40-43-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61	C ≥ 25 %: Xn, N; R22-40-43-50-53 1 % ≤ C < 25 %: Xn, N; R40-43-50-53 0,25 % ≤ C < 1 %: N; R50-53 0,025 % ≤ C < 0,25 %: N; R51-53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %: R52-	

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
616-024-00-5	2-(4,4-diméthyl-2,5-dioxoazolidin-1-yl)-2-chloro-5-(2-(2,4-di-terpentyloxy)butyramido)-4,4-diméthyl-3-oxovaléramide		402-260-4	-	R53	R: 53 S: 61	53	
617-002-00-8	hydroperoxyde de α,α -diméthylbenzyle hydroperoxyde de cumène		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	hydroperoxyde de 1,2,3,4-tétrahydro-1-naphtyle		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	huile de créosote, fraction acénaphthène, exempte d'acénaphthène distillat d'huile de lavage [Huile restant après l'élimination de l'huile acénaphthénique du goudron de houille, par cristallisation, de l'acénaphthène. Se compose principalement de naphthalène et d'alkylnaphtalènes.]	H	292-606-9	90640-85-0	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-080-00-1	résidus (goudron de houille), distillation d'huile de créosote Distillat d'huile de lavage [Résidu de la distillation fractionnée d'huile de rinçage dont le point d'ébullition est compris entre 270°C et 330°C. Se compose principalement d'hydrocarbures hétérocycliques et aromatiques bicycliques.]	H	295-506-3	92061-93-3	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-098-00-X	huile de créosote, fraction	H	292-605-3	90640-84-9	Carc. Cat. 2; R45	T		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
	acénaphthène Huile de lavage [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation de goudron de houille et dont le point d'ébullition est approximativement compris entre 240°C et 280°C. Se compose principalement d'acénaphthène, de naphthalène et d'alkylnaphthalène.]					R: 45 S: 53-45		
648-099-00-5	huile de créosote [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation du goudron de houille. Se compose principalement d'hydrocarbures aromatiques et peut contenir des huiles de goudron acides et des bases de goudron en quantité notable. Son point de distillation se situe approximativement entre 200°C et 325°C.]	H	263-047-8	61789-28-4	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-100-00-9	huile de créosote, distillat à point d'ébullition élevé Huile de lavage [Fraction de distillation, à point d'ébullition élevé, obtenue par carbonisation à haute température de charbon bitumineux, puis raffinée en vue de séparer les sels cristallins en excès. Se compose principalement d'huile de créosote, une partie des sels aromatiques polycycliques entrant normalement dans la composition des distillats de goudron de houille ayant été éliminée. La fraction est exempte de cristaux à partir de 5°C approximativement.]	H	274-565-9	70321-79-8	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-101-00-4	créosote [Distillat de goudron de houille produit par carbonisation à haute température de charbon bitumineux. Se compose principalement d'hydrocarbures aromatiques, d'huiles de goudron	H	232-287-5	8001-58-9	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
648-102-00-X	acides et de bases de goudron.] résidus d'extraction acides (charbon), huile de crésote Résidu d'extraction d'huile de lavage [Combinaison complexe d'hydrocarbures issue de la fraction dépourvue de bases résultant de la distillation du goudron de houille, dont le point d'ébullition se situe approximativement entre 250°C et 280°C. Se compose principalement de biphényle et de diphenylnaphthalènes isomériques.]	H	310-189-4	122384-77-4	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
648-138-00-6	huile de crésote, distillat à bas point d'ébullition Huile de lavage [Fraction de distillation, à bas point d'ébullition, obtenue par carbonisation à haute température de charbon bitumineux, puis raffinée en vue de séparer les sels cristallins en excès. Se compose principalement d'huile de crésote, une partie des sels aromatiques polycycliques entrant normalement dans la composition des distillats de goudron de houille ayant été éliminée. La fraction est exempte de cristaux à partir de 38°C approximativement.]	H	274-566-4	70321-80-1	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-001-00-3	extraits au solvant (pétrole), distillat naphthénique léger	H	265-102-1	64742-03-6	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-002-00-9	extraits au solvant (pétrole), distillat paraaffinique lourd	H	265-103-7	64742-04-7	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-003-00-4	extraits au solvant (pétrole), distillat paraaffinique léger	H	265-104-2	64742-05-8	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-004-00-X	extraits au solvant (pétrole), distillat naphthénique lourd	H	265-111-0	64742-11-6	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-005-00-5	extraits au solvant (pétrole), gazole léger sous vide	H	295-341-7	91995-78-7	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-006-00-0	hydrocarbures en C ₂₆₋₅₅ , riches en aromatiques	H	307-753-7	97722-04-8	Carc. Cat. 2; R45	T R: 45 S: 53-45		
649-062-00-6	gaz de tête (pétrole), dépropanisation du naphta de craquage catalytique, riches en C ₃ et désacidifiés Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures issue du fractionnement d'hydrocarbures de craquage catalytique et soumise à un traitement destiné à éliminer les impuretés acides. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₂ -C ₃ , principalement en C ₃ .]	H K	270-755-0	68477-73-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-063-00-1	gaz (pétrole), craquage catalytique Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation des produits résultant d'un craquage catalytique. Se compose principalement d'hydrocarbures aliphatiques dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ - C ₆ .]	H K	270-756-6	68477-74-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-064-00-7	gaz (pétrole), craquage catalytique, riches en C ₁₋₅ Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation des produits résultant d'un craquage catalytique. Se compose d'hydrocarbures aliphatiques dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₁ à C ₅ .]	H K	270-757-1	68477-75-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-065-00-2	gaz de tête (pétrole), stabilisation de naphta de polymérisation catalytique, riches en C ₃₋₄	H K	270-758-7	68477-76-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-066-00-8	<p>Gaz de pétrole</p> <p>[Combinaison complexe d'hydrocarbures issue de la stabilisation par fractionnement de naphia de polymérisation catalytique. Se compose d'hydrocarbures aliphatiques dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C₂-C₆, principalement en C₂ à C₄.]</p>	H K	270-760-8	68477-79-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-067-00-3	<p>gaz (pétrole), charge d'alkylation oléfinique et paraffinique en C_{3,5}</p> <p>Gaz de pétrole</p> <p>[Combinaison complexe d'hydrocarbures oléfiniques et paraffiniques dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C₃-C₅ et qui sont utilisés comme charge d'alkylation. Les températures ambiantes sont généralement supérieures à la température critique de ces combinaisons.]</p>	H K	270-765-5	68477-83-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-068-00-9	<p>gaz (pétrole), riches en C₄</p> <p>Gaz de pétrole</p> <p>[Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation des produits résultant d'un fractionnement catalytique. Se compose d'hydrocarbures aliphatiques dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C₃-C₅, principalement en C₄.]</p>	H K	270-767-6	68477-85-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-069-00-4	<p>gaz de tête (pétrole), déséthylisateur</p>	H K	270-768-1	68477-86-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-070-00-X	Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation des fractions gaz et essence issues du craquage catalytique. Contient principalement de l'éthane et de l'éthylène.]	H K	270-769-7	68477-87-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-071-00-5	gaz secs (pétrole), dépropaniseur, riches en propène Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation des produits issus des fractions gaz et essence d'un craquage catalytique. Se compose principalement de propylène, avec un peu d'éthane et de propane.]	H K	270-772-3	68477-90-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-072-00-0	gaz de tête (pétrole), dépropaniseur Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation des produits issus des fractions gaz et essence d'un craquage catalytique. Se compose d'hydrocarbures aliphatiques dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₂ -C ₄ .]	H K	270-773-9	68477-91-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-073-00-6	gaz de tête (pétrole), unité de récupération des gaz, dépropaniseur Gaz de pétrole	H K	270-777-0	68477-94-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-074-00-1	[Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par fractionnement de divers mélanges d'hydrocarbures. Se compose principalement d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₁ -C ₄ , du propane en majorité.] gaz (pétrole), charge de l'unité Girbatol Gaz de pétrole	H K	270-778-6	68477-95-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-075-00-7	[Combinaison complexe d'hydrocarbures utilisée comme charge de l'unité Girbatol destinée à l'élimination de l'hydrogène sulfuré. Se compose d'hydrocarbures aliphatiques dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₂ -C ₄ .]	H K	270-782-8	68477-99-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-076-00-2	gaz résiduels (pétrole), huile clarifiée de craquage catalytique et résidu sous vide de craquage thermique, ballon de reflux de fractionnement Gaz de pétrole	H K	270-802-5	68478-21-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-077-00-8	[Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par fractionnement d'huile clarifiée de craquage catalytique et de résidu sous vide de craquage thermique. Se compose principalement d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₆ .]	H K	270-803-0	68478-22-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-078-00-3	d'hydrocarbures résultant de la stabilisation de naphtha de craquage catalytique. Se compose principalement d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₆ .]	H K	270-804-6	68478-24-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-079-00-9	gaz résiduels (pétrole), fractionnement combiné des produits de craquage catalytique, de reformage catalytique et d'hydrodésulfuration Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures issue du fractionnement des produits de craquage catalytique, de reformage catalytique et d'hydrodésulfuration traité pour éliminer les impuretés acides. Se compose principalement d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	270-806-7	68478-26-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-080-00-4	gaz résiduels (pétrole), mélange de l'unité de gaz saturés, riches en C ₄ Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures résultant de la stabilisation du fractionnement de naphtha de distillation directe, de gaz résiduel de distillation et de	H K	270-813-5	68478-32-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-081-00-X	gaz résiduel de stabilisation de naphtha de reformage catalytique. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₃ -C ₆ , principalement du butane et de l'isobutane.]	H K	270-814-0	68478-33-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-082-00-5	gaz résiduels (pétrole), craquage thermique de résidus sous vide Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures résultant du fractionnement de gaz résiduel de distillation, de naphtha de distillation directe et de gaz résiduel de stabilisation de naphtha de reformage catalytique. Se compose principalement d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₁ -C ₅ , en majorité du méthane et de l'éthane.]	H K	270-815-6	68478-34-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-083-00-0	hydrocarbures riches en C ₃₋₄ , distillat de pétrole Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation et condensation du pétrole brut. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₃ -C ₅ , principalement en C ₃ et en C ₄ .]	H K	270-990-9	68512-91-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-084-00-6	gaz résiduels (pétrole), déshexamiseur de naphtha de	H K	271-000-8	68513-15-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-085-00-1	distillation directe à large intervalle d'ébullition Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par fractionnement du naphtha de distillation directe à large intervalle d'ébullition. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₂ -C ₆ .]	H K	271-001-3	68513-16-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	S: 53-45 T R: 45-46 S: 53-45		
649-086-00-7	gaz résiduels (pétrole), dépropaniseur d'hydrocraquage, riches en hydrocarbures Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation des produits résultant d'un hydrocraquage. Se compose principalement d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₄ . Peut aussi contenir de petites quantités d'hydrogène et d'hydrogène sulfuré.]	H K	271-002-9	68513-17-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-087-00-2	résidus (pétrole), séparateur d'alkylation, riches en C ₄ Gaz de pétrole [Résidu complexe issu de la distillation de mélanges provenant de diverses opérations de raffinerie. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme	H K	271-010-2	68513-66-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-088-00-8	C ₄ -C ₅ , principalement du butane, et dont le point d'ébullition est compris approximativement entre -11,7°C et 27,8°C.] hydrocarbures en C ₄₋₄ Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures produite par des opérations de craquage thermique et d'absorption, et par distillation du pétrole brut. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₃ C ₄ et dont le point d'ébullition est compris approximativement entre -164°C et -0,5°C.]	H K	271-032-2	68514-31-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-089-00-3	hydrocarbures en C _{1,4} adoucis Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue en soumettant des gaz hydrocarbures à un adoucissement destiné à convertir les mercaptans ou à éliminer les impuretés acides. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₁ -C ₄ et dont le point d'ébullition est compris approximativement entre -164°C et -0,5°C.]	H K	271-038-5	68514-36-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-090-00-9	hydrocarbures en C _{1,3} Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₁ -C ₃ et dont le point d'ébullition est compris approximativement entre -164°C et -42°C.]	H K	271-259-7	68527-16-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-091-00-4	hydrocarbures en C _{1,4} , fraction débutanisée Gaz de pétrole	H K	271-261-8	68527-19-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-092-00-X	gaz humides en C _{1,5} (pétrole)	H K	271-624-0	68602-83-5	Carc. Cat. 1; R45	T		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
	Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation du pétrole brut et/ou par craquage de gazole de distillation. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₅ .]				Muta. Cat. 2; R46	R: 45-46 S: 53-45		
649-093-00-5	hydrocarbures en C ₂₋₄ Gaz de pétrole	H K	271-734-9	68606-25-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-094-00-0	hydrocarbures en C ₃ Gaz de pétrole	H K	271-735-4	68606-26-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-095-00-6	gaz d'alimentation pour l'alkylation (pétrole) Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures produite par le craquage catalytique du gazole. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₃ -C ₄ .]	H K	271-737-5	68606-27-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-096-00-1	gaz résiduels (pétrole), fractionnement des résidus du dépropaniseur Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par fractionnement des résidus du dépropaniseur. Se compose principalement de butane, d'isobutane et de butadiène.]	H K	271-742-2	68606-34-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-097-00-7	gaz (pétrole), mélange de raffinerie Gaz de pétrole [Combinaison complexe résultant de divers procédés de raffinerie. Se compose d'hydrogène, d'hydrogène sulfuré et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	272-183-7	68783-07-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-098-00-2	gaz (pétrole), craquage catalytique Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation des produits résultant d'un craquage catalytique. Se compose principalement d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₃ -C ₅ .]	H K	272-203-4	68783-64-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-099-00-8	gaz en C ₂₋₄ adoucis (pétrole) Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par adoucissement d'un distillat pétrolier, afin de convertir les mercaptans ou d'éliminer les impuretés acides. Se compose principalement d'hydrocarbures saturés et insaturés dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₂ -C ₄ et dont le point d'ébullition est compris approximativement entre -51°C et -34°C.]	H K	272-205-5	68783-65-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-100-00-1	gaz résiduels (pétrole), fractionnement de pétrole brut Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par fractionnement du pétrole brut. Se compose d'hydrocarbures aliphatiques saturés dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	272-871-7	68918-99-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-101-00-7	gaz résiduels (pétrole), déshexaniseur Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par fractionnement d'un mélange de naphthas. Se compose d'hydrocarbures aliphatiques saturés dont le nombre de carbones se situe principalement	H K	272-872-2	68919-00-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-102-00-2	dans la gamme C ₁ -C ₃ , gaz résiduels de stabilisateur (pétrole), fractionnement de l'essence légère de distillation directe Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par fractionnement d'essence légère de distillation directe. Se compose d'hydrocarbures aliphatiques saturés dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₁ -C ₃ .]	H K	272-878-5	68919-05-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-103-00-8	gaz résiduels de rectification (pétrole), désulfuration Unifining de naphtha Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures produite par désulfuration <{ITA}>Unifining≤{/ITA}> de naphtha et séparée de l'effluent naphtha par rectification. Se compose d'hydrocarbures aliphatiques saturés dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₁ -C ₄ .]	H K	272-879-0	68919-06-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-104-00-3	gaz résiduels (pétrole), reformage catalytique de naphtha de distillation directe Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par reformage catalytique de naphtha de distillation directe et fractionnement de la totalité de l'effluent. Se compose de méthane, d'éthane et de propane.]	H K	272-882-7	68919-09-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-105-00-9	gaz (pétrole), produits de fête du séparateur, craquage catalytique fluide Gaz de pétrole [Combinaison complexe	H K	272-893-7	68919-20-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-106-00-4	d'hydrocarbures produite par fractionnement de la charge du séparateur C ₃ -C ₄ . Se compose principalement d'hydrocarbures en C ₃ .]	H K	272-883-2	68919-10-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45 S: 53-45		
649-107-00-X	gaz (pétrole), débutaniseur de naphtha de craquage catalytique Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par fractionnement de naphtha de craquage catalytique. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₁ -C ₄ .]	H K	273-169-3	68952-76-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-108-00-5	gaz de queue (pétrole), stabilisateur de naphtha et de distillat de craquage catalytique Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par fractionnement de naphtha et de distillat de craquage catalytique. Se compose principalement d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₄ .]	H K	273-170-9	68952-77-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-109-00-0	gaz de queue (pétrole), distillat de craquage thermique, absorbé de gazole et de naphtha Gaz de pétrole	H K	273-175-6	68952-81-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-110-00-6	[Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par séparation de distillats de craquage thermique, de naphtha et de gazole. Se compose principalement d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₆ .]	H K	273-176-1	68952-82-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-111-00-1	gaz légers de vapocraquage (pétrole), concentrés de butadiène Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par stabilisation par fractionnement d'hydrocarbures ayant subi un craquage thermique, issus de la cokéfaction du pétrole. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₆ .]	H K	273-265-5	68955-28-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-112-00-7	gaz de tête du stabilisateur (pétrole), reformage catalytique du naphtha de distillation directe Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par reformage catalytique de naphtha de distillation directe et fractionnement de la totalité de l'effluent. Se compose d'hydrocarbures aliphatiques saturés dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₂ -C ₄ .]	H K	273-270-2	68955-34-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-113-00-2	hydrocarbures en C ₄ Gaz de pétrole	H K	289-339-5	87741-01-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-114-00-8	alcanes en C ₁₋₄ , riches en C ₃ Gaz de pétrole	H K	292-456-4	90622-55-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-115-00-3	gaz de vapocraquage (pétrole), riches en C ₃ Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation des produits résultant d'un vapocraquage. Se compose principalement de propylène et d'un peu de propane; son point d'ébullition est compris approximativement entre -70°C et 0°C.]	H K	295-404-9	92045-22-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-116-00-9	hydrocarbures en C ₄ , distillats de vapocraquage Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation des produits résultant d'un vapocraquage. Se compose principalement d'hydrocarbures en C ₄ , essentiellement du butène-1 et du butène-2, et contient aussi du butane et de l'isobutène; son point d'ébullition est compris approximativement entre -12°C et 5°C.]	H K	295-405-4	92045-23-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-117-00-4	gaz de pétrole liquéfiés, adoucis, fraction en C ₄ Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue en soumettant un mélange de gaz de pétrole liquéfiés à un procédé d'adoucissement destiné à oxyder les mercaptans ou à éliminer les impuretés acides. Se compose principalement d'hydrocarbures saturés et insaturés en C ₄ .]	HKS	295-463-0	92045-80-2	F+; R12 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	F+; T R: 12-45-46 S: 53-45		
649-119-00-5	raffinats en C _{3,5} saturés et	H K	307-769-4	97722-19-5	Carc. Cat. 1; R45	T		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-120-00-0	insaturés (pétrole), exempts de butadiène, extraction à l'acétate d'ammonium cuivreux de la fraction de vapocraquage en C ₄ Gaz de pétrole	H K	270-746-1	68477-65-6	Muta. Cat. 2; R46 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	R: 45-46 S: 53-45 T R: 45-46 S: 53-45		
649-121-00-6	gaz résiduels (pétrole), production du benzène, hydrodésulfuration Gaz de raffinerie [Gaz résiduels de l'unité de production du benzène. Se composent principalement d'hydrogène. Peut aussi contenir du monoxyde de carbone et des hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₃ .]	H K	270-747-7	68477-66-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-122-00-1	gaz de recyclage (pétrole), production du benzène, riches en hydrogène Gaz de raffinerie [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenues par recyclage des gaz de l'unité de production du benzène. Se compose principalement d'hydrogène, avec de petites quantités de monoxyde de carbone et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₁ -C ₆ .]	H K	270-748-2	68477-67-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-123-00-7	gaz d'huile mélangée (pétrole), riches en hydrogène et en azote Gaz de raffinerie [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation d'une huile mélangée. Se compose principalement d'hydrogène et d'azote, avec de petites quantités de monoxyde et de dioxyde de carbone, et d'hydrocarbures aliphatiques dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	270-749-8	68477-68-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-124-00-2	gaz de tête (pétrole), rectification du naphtha de reformage catalytique Gaz de raffinerie [Combinaison complexe d'hydrocarbures issue de la stabilisation de naphtha de reformage catalytique. Se compose d'hydrogène et d'hydrocarbures aliphatiques saturés dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₄ .]	H K	270-759-2	68477-77-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-125-00-8	gaz de recyclage (pétrole), reformage catalytique de charges en C ₆₋₈ Gaz de raffinerie [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation des produits résultant du reformage catalytique de charges en C ₆₋₈ et recyclée pour récupérer l'hydrogène. Se compose principalement d'hydrogène. Peut aussi contenir de petites quantités de monoxyde et de dioxyde de carbone, d'azote et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₆ .]	H K	270-761-3	68477-80-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-126-00-3	gaz (pétrole), reformage catalytique de charges en C ₆₋₈ Gaz de raffinerie [Combinaison complexe	H K	270-762-9	68477-81-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-127-00-9	d'hydrocarbures obtenue par distillation de produits issus de reformage catalytique de charges en C ₆₋₈ . Se compose d'hydrogène et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	270-763-4	68477-82-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-128-00-4	gaz (pétrole), retour en C ₂ Gaz de raffinerie [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par extraction de l'hydrogène dans un mélange gazeux composé principalement d'hydrogène et de petites quantités d'azote, de monoxyde de carbone, de méthane, d'éthane et d'éthylène. Contient principalement des hydrocarbures tels que du méthane, de l'éthane et de l'éthylène, avec de petites quantités d'hydrogène, d'azote et de monoxyde de carbone.]	H K	270-766-0	68477-84-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-129-00-X	gaz acides secs résiduels (pétrole), unité de concentration des gaz Gaz de raffinerie [Combinaison complexe de gaz secs issue d'une unité de concentration des gaz. Se compose d'hydrogène, d'hydrogène sulfuré et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₁ -C ₄ .]	H K	270-774-4	68477-92-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-130-00-5	gaz (pétrole), réabsorbé de concentration des gaz, distillation Gaz de raffinerie [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation des produits tirés de	H K	270-776-5	68477-93-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-131-00-0	divers mélanges gazeux dans un réabsorbant de concentration de gaz. Se compose principalement d'hydrogène, de monoxyde et de dioxyde de carbone, d'azote, d'hydrogène sulfuré et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₁ -C ₃ .]	H K	270-779-1	68477-96-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-132-00-6	gaz (pétrole), riches en hydrogène Gaz de raffinerie [Combinaison complexe obtenue par absorption d'hydrogène dans un mélange riche en hydrogène. Se compose d'hydrogène, de monoxyde de carbone, d'azote et de méthane, avec de petites quantités d'hydrocarbures en C ₂ .]	H K	270-780-7	68477-97-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-133-00-1	gaz de recyclage (pétrole), huile mélangée hydrotraitée, riches en hydrogène et en azote Gaz de raffinerie [Combinaison complexe obtenue par recyclage d'huile mélangée hydrotraitée. Se compose principalement d'hydrogène et d'azote, avec de petites quantités de monoxyde et de dioxyde de carbone, et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	270-781-2	68477-98-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-134-00-7	gaz de recyclage (pétrole), riches en hydrogène Gaz de raffinerie [Combinaison complexe obtenue	H K	270-783-3	68478-00-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-135-00-2	par recyclage des gaz de réacteur. Se compose principalement d'hydrogène, avec de petites quantités de monoxyde et de dioxyde de carbone, d'azote, d'hydrogène sulfuré et d'hydrocarbures aliphatiques saturés dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	270-784-9	68478-01-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-136-00-8	gaz d'appoint (pétrole), reformage, riches en hydrogène: Gaz de raffinerie [Combinaison complexe issue des unités de reformage. Se compose principalement d'hydrogène, avec de petites quantités de monoxyde de carbone et d'hydrocarbures aliphatiques dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	270-785-4	68478-02-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-137-00-3	gaz (pétrole), hydrotraitement du reformage, riches en hydrogène et en méthane Gaz de raffinerie [Combinaison complexe résultant de l'hydrotraitement lors du reformage. Se compose principalement d'hydrogène, de méthane et d'éthane, avec de petites quantités d'hydrogène sulfuré et d'hydrocarbures aliphatiques dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	270-787-5	68478-03-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-138-00-9	carbones se situe en majorité dans la gamme C ₂ -C ₅ . gaz d'appoint (pétrole), hydrotraitement du reformage, riches en hydrogène Gaz de raffinerie [Combinaison complexe résultant de l'hydrotraitement lors du reformage. Se compose principalement d'hydrogène, avec de petites quantités de monoxyde de carbone et d'hydrocarbures aliphatiques dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	270-788-0	68478-04-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-139-00-4	gaz (pétrole), distillation du craquage thermique Gaz de raffinerie [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation des produits résultant d'un craquage thermique. Se compose d'hydrogène, d'hydrogène sulfuré, de monoxyde et de dioxyde de carbone, et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₆ .]	H K	270-789-6	68478-05-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-140-00-X	gaz résiduels (pétrole), refractionnement du craquage catalytique, absorbeur Gaz de raffinerie [Combinaison complexe d'hydrocarbures issue du refractionnement des produits d'un craquage catalytique. Se compose d'hydrogène et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₃ .]	H K	270-805-1	68478-25-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-141-00-5	gaz résiduels (pétrole), séparateur de napha de reformage catalytique Gaz de raffinerie [Combinaison complexe d'hydrocarbures résultant du	H K	270-807-2	68478-27-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-142-00-0	reformage catalytique de naphtha de distillation directe. Se compose d'hydrogène et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₆ .]	H K	270-808-8	68478-28-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-143-00-6	gaz résiduels (pétrole), stabilisateur de naphtha de reformage catalytique Gaz de raffinerie [Combinaison complexe d'hydrocarbures résultant de la stabilisation du naphtha de reformage catalytique. Se compose d'hydrogène et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₆ .]	H K	270-809-3	68478-29-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-144-00-1	gaz résiduels (pétrole), séparateur de naphtha de distillation directe hydrodésulfuré Gaz de raffinerie [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par hydrodésulfuration de naphtha de distillation directe. Se compose d'hydrogène et d'hydrocarbures aliphatiques saturés dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₆ .]	H K	270-810-9	68478-30-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-145-00-7	gaz (pétrole), reformage catalytique de naphtha de	H K	270-999-8	68513-14-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-146-00-2	distillation directe, produits de tête du stabilisateur Gaz de raffinerie [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par reformage catalytique de naphtha de distillation directe, puis fractionnement de la totalité de l'effluent. Se compose d'hydrogène, de méthane, d'éthane et de propane.]	H K	271-003-4	68513-18-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	S: 53-45 T R: 45-46 S: 53-45		
649-147-00-8	gaz résiduels (pétrole), effluent de reformage, ballon de détente à haute pression Gaz de raffinerie [Combinaison complexe produite par détente à haute pression de l'effluent du réacteur de reformage. Se compose principalement d'hydrogène, avec de petites quantités de méthane, d'éthane et de propane.]	H K	271-005-5	68513-19-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-148-00-3	gaz résiduels (pétrole), distillation des gaz de raffinage de l'huile Gaz de raffinerie [Combinaison complexe séparée par distillation d'un mélange gazeux contenant de l'hydrogène, du monoxyde et du dioxyde de carbone, et des hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₁ -C ₆ , ou bien obtenue par craquage de l'éthane et du propane. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en	H K	271-258-1	68527-15-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-149-00-9	majorité dans la gamme C ₁ -C ₂ , d'hydrogène, d'azote et de monoxyde de carbone.] gaz (pétrole), unité de production du benzène, hydrotraitement, produits de tête du dépentaniseur Gaz de raffinerie [Combinaison complexe produite par traitement de la charge issue de l'unité de production du benzène avec de l'hydrogène en présence d'un catalyseur, puis par dépentanisation. Se compose principalement d'hydrogène, d'éthane et de propane, avec de petites quantités d'azote, de monoxyde et de dioxyde de carbone, et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₆ . Peut contenir des traces de benzène.]	H K	271-623-5	68602-82-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-150-00-4	gaz résiduels (pétrole), absorbeur secondaire, fractionnement des produits de tête du craquage catalytique fluide Gaz de raffinerie [Combinaison complexe produite par fractionnement des produits de tête résultant du procédé de craquage catalytique dans le réacteur de craquage catalytique fluide. Se compose d'hydrogène, d'azote et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₃ .]	H K	271-625-6	68602-84-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-151-00-X	produits pétroliers, gaz de raffinerie Gaz de raffinerie [Combinaison complexe constituée principalement d'hydrogène, avec des petites quantités de méthane, d'éthane et de propane.]	H K	271-750-6	68607-11-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-152-00-5	gaz (pétrole), séparateur à basse pression, hydrocraquage	H K	272-182-1	68783-06-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-153-00-0	Gaz de raffinerie [Combinaison complexe obtenue par séparation liquide-vapeur de l'effluent du réacteur d'hydrocraquage. Se compose principalement d'hydrogène et d'hydrocarbures saturés dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₃ .]					S: 53-45		
649-154-00-6	gaz de raffinerie (pétrole) Gaz de raffinerie [Combinaison complexe obtenue par divers procédés de raffinage du pétrole. Se compose d'hydrogène et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₁ -C ₃ .]	H K	272-338-9	68814-67-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-155-00-1	gaz résiduels (pétrole), séparateur de produits de plateforme Gaz de raffinerie [Combinaison complexe obtenue lors du reformage chimique de naphthènes aromatiques. Se compose d'hydrogène et d'hydrocarbures aliphatiques saturés dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₂ -C ₄ .]	H K	272-343-6	68814-90-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-156-00-7	gaz (pétrole), kérosène sulfureux hydrotraité, stabilisateur du dépentaniseur Gaz de raffinerie [Combinaison complexe issue de la stabilisation des produits de dépentanisation de kérosène hydrotraité. Se compose principalement d'hydrogène, de méthane, d'éthane et de propane, avec de petites quantités d'azote, d'hydrogène sulfuré, de monoxyde de carbone et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₄ -C ₅ .]	H K	272-775-5	68911-58-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-156-00-7	gaz (pétrole), kérosène sulfureux	H K	272-776-0	68911-59-1	Carc. Cat. 1; R45	T		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-157-00-2	hydrotraité, ballon de détente Gaz de raffinerie [Combinaison complexe issue de l'unité assurant l'hydrogénation catalytique de kérosène sulfureux. Se compose principalement d'hydrogène et de méthane, avec de petites quantités d'azote, de monoxyde de carbone et d'hydrocarbures dont le nombre de carbonés se situe en majorité dans la gamme C ₂ -C ₅ .]				Muta. Cat. 2; R46	R: 45-46 S: 53-45		
649-158-00-8	gaz résiduels de rectification (pétrole), désulfuration Unifining de distillats Gaz de raffinerie [Combinaison complexe séparée par rectification du produit liquide de la désulfuration <[ITA]>Unifining.</[ITA]> Se compose d'hydrogène sulfuré, de méthane, d'éthane et de propane.]	H K	272-873-8	68919-01-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-159-00-3	gaz résiduels de fractionnement (pétrole), craquage catalytique fluide Gaz de raffinerie [Combinaison complexe produite par fractionnement du produit de tête résultant du craquage catalytique fluide. Se compose d'hydrogène, d'hydrogène sulfuré, d'azote et d'hydrocarbures dont le nombre de carbonés se situe principalement dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	272-874-3	68919-02-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-160-00-9	gaz résiduels d'absorber secondaire (pétrole), lavage des gaz de craquage catalytique fluide Gaz de raffinerie [Combinaison complexe produite par lavage du gaz de tête issu du réacteur de craquage catalytique fluide. Se compose d'hydrogène, d'azote, de méthane, d'éthane et de propane.]	H K	272-875-9	68919-03-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-160-00-9	gaz résiduels de rectification	H K	272-876-4	68919-04-0	Carc. Cat. 1; R45	T		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-161-00-4	(pétrole), désulfuration par hydrotraitement de distillat lourd Gaz de raffinerie [Combinaison complexe séparée par rectification du produit liquide résultant de la désulfuration par hydrotraitement d'un distillat lourd. Se compose d'hydrogène, d'hydrogène sulfuré et d'hydrocarbures aliphatiques saturés dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₇ -C ₅ .]	H K	272-880-6	68919-07-3	Muta. Cat. 2; R46 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	R: 45-46 S: 53-45 T R: 45-46 S: 53-45		
649-162-00-X	gaz résiduels de prédistillation (pétrole), distillation du pétrole brut Gaz de raffinerie [Combinaison complexe produite par la première tour utilisée dans la distillation du pétrole brut. Se compose d'azote et d'hydrocarbures aliphatiques saturés dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₇ -C ₅ .]	H K	272-881-1	68919-08-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-163-00-5	gaz résiduels (pétrole), séparation du goudron Gaz de raffinerie [Combinaison complexe obtenue par fractionnement de pétrole brut réduit. Se compose d'hydrogène et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₁	H K	272-884-8	68919-11-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
	- C ₄]							
649-164-00-0	gaz résiduels (pétrole), rectificateur de l'unité Unifining Gaz de raffinerie [Combinaison d'hydrogène et de méthane obtenue par fractionnement des produits issus de l'unité <[ITA]>Unifining</[ITA]>.]	H K	272-885-3	68919-12-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-165-00-6	gaz de queue (pétrole), séparateur de naphtha d'hydrodésulfuration catalytique Gaz de raffinerie [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par hydrodésulfuration catalytique du naphtha. Se compose d'hydrogène, de méthane, d'éthane et de propane.]	H K	273-173-5	68952-79-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-166-00-1	gaz de queue (pétrole), hydrodésulfuration de naphtha de distillation directe Gaz de raffinerie [Combinaison complexe obtenue par hydrodésulfuration de naphtha de distillation directe. Se compose d'hydrogène et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	273-174-0	68952-80-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-167-00-7	gaz résiduels d'absorbeur (pétrole), fractionnement des produits de tête de craquage catalytique fluide et de désulfuration du gazole Gaz de raffinerie [Combinaison complexe obtenue par fractionnement des produits de l'unité de craquage catalytique fluide et de l'unité de désulfuration du gazole. Se compose d'hydrogène et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme	H K	273-269-7	68955-33-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-168-00-2	C ₁ -C ₄ . gaz (pétrole), distillation de pétrole brut et craquage catalytique Gaz de raffinerie [Combinaison complexe obtenue par distillation de pétrole brut et craquage catalytique. Se compose principalement d'hydrogène, de sulfure d'hydrogène, d'azote, de monoxyde de carbone et d'hydrocarbures paraffiniques et oléfiniques dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₁ -C ₆ .]	H K	273-563-5	68989-88-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-169-00-8	gaz résiduels (pétrole), lavage de gazole à la diéthanolamine Gaz de raffinerie [Combinaison complexe produite par désulfuration des gazoles à la diéthanolamine. Se compose principalement d'hydrogène sulfuré, d'hydrogène et d'hydrocarbures aliphatiques dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	295-397-2	92045-15-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-170-00-3	gaz (pétrole), hydrodésulfuration du gazole, effluent Gaz de raffinerie [Combinaison complexe obtenue par séparation de la phase liquide dans l'effluent issu de la réaction d'hydrogénation. Se compose principalement d'hydrogène, d'hydrogène sulfuré et d'hydrocarbures aliphatiques dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₃ .]	H K	295-398-8	92045-16-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-171-00-9	gaz (pétrole), hydrodésulfuration du gazole, purge Gaz de raffinerie [Combinaison complexe de gaz provenant de l'unité de reformage et des purges du réacteur d'hydrogénation. Se compose principalement d'hydrogène et	H K	295-399-3	92045-17-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-172-00-4	d'hydrocarbures aliphatiques dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₄ .] gaz résiduels (pétrole), effluent du réacteur d'hydrogénation, ballon de détente Gaz de raffinerie [Combinaison complexe de gaz obtenue par détente des effluents après la réaction d'hydrogénation. Se compose principalement d'hydrogène et d'hydrocarbures aliphatiques dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₆ .]	H K	295-400-7	92045-18-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-173-00-X	gaz résiduels haute pression (pétrole), vapocraquage du naphtha Gaz de raffinerie [Combinaison complexe, mélange des parties non condensables du produit résultant du vapocraquage du naphtha et des gaz résiduels résultant de la préparation des produits en aval. Se compose principalement d'hydrogène et d'hydrocarbures paraffiniques et oléfiniques dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₅ , auxquels du gaz naturel peut se trouver mélangé.]	H K	295-401-2	92045-19-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-174-00-5	gaz résiduels (pétrole), viscosité de résidus Gaz de raffinerie [Combinaison complexe obtenue par viscosité de résidus dans un four. Se compose principalement d'hydrogène sulfuré et d'hydrocarbures paraffiniques et oléfiniques dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	295-402-8	92045-20-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-177-00-1	gaz en C ₃ -C ₄ (pétrole) Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures produite par distillation des produits résultant	H K	268-629-5	68131-75-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-178-00-7	du craquage de pétrole brut. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₃ -C ₄ , principalement du propane et du propylène, et dont le point d'ébullition est compris approximativement entre -51°C et -1°C.]	H K	269-617-2	68307-98-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-179-00-2	gaz de queue (pétrole), craquage catalytique de distillat et de naphtha, absorbant de colonne de fractionnement Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures résultant de la distillation des produits de craquage catalytique de distillats et de naphtha. Se compose principalement d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₁ -C ₄ .]	H K	269-618-8	68307-99-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-180-00-8	gaz de queue (pétrole), exempts d'hydrogène sulfuré, reformage catalytique de naphtha, stabilisateur de colonne de fractionnement Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par stabilisation des produits de la colonne de fractionnement dans le processus de reformage catalytique du naphtha, et dont on	H K	269-619-3	68308-00-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-181-00-3	a éliminé l'hydrogène sulfuré par traitement aux amines. Se compose principalement d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₄ .]	H K	269-620-9	68308-01-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-182-00-9	gaz de queue (pétrole), exempts d'hydrogène sulfuré, hydrodésulfuration de distillat direct Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par traitement de distillats de craquage thermique à l'hydrogène en présence d'un catalyseur. Se compose principalement d'hydrocarbures saturés dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₆ .]	H K	269-630-3	68308-10-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-183-00-4	gaz de queue (pétrole), craquage catalytique de gazole, absorbeur Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation de produits résultant du craquage catalytique du gazole. Se compose principalement d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	269-623-5	68308-03-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-184-00-X	gaz de queue (pétrole), unité de récupération des gaz Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation des produits de diverses charges d'hydrocarbures. Se compose principalement d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	269-624-0	68308-04-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-185-00-5	gaz de queue (pétrole), unité de récupération des gaz, déséthamiseur Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation des produits de diverses charges d'hydrocarbures. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₄ .]	H K	269-625-6	68308-05-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-186-00-0	gaz de queue (pétrole) désacidifiés, hydrodésulfuration de distillat et de naphtha, colonne de fractionnement Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par fractionnement de naphtha et de distillats hydrodésulfurés, et soumise à un traitement destiné à éliminer les impuretés acides. Se compose principalement d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₅ .]	H K	269-626-1	68308-06-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-187-00-6	gaz de queue (pétrole) exempts d'hydrogène sulfuré, rectificateur de gazole sous vide hydrodésulfuré Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures résultant de la stabilisation par rectification de gazole sous vide ayant subi une hydrodésulfuration catalytique, et	H K	269-627-7	68308-07-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-188-00-1	dont on a éliminé l'hydrogène sulfuré par traitement aux amines. Se compose principalement d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₆ .]	H K	269-629-8	68308-09-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-189-00-7	gaz de queue (pétrole), exempts d'hydrogène sulfuré, stabilisateur de naphtha léger de distillation directe. Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par fractionnement et stabilisation de naphtha léger de distillation directe, et dont on a éliminé l'hydrogène sulfuré par traitement aux amines. Se compose principalement d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ C ₅ .]	H K	269-631-9	68308-11-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-190-00-2	gaz de queue (pétrole) exempts d'hydrogène sulfuré, hydrodésulfuration de gazole sous vide Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par hydrodésulfuration catalytique de gazole sous vide et dont on a éliminé l'hydrogène sulfuré par traitement aux amines. Se compose principalement	H K	269-632-4	68308-12-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-191-00-8	d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₆ .] gaz (pétrole), craquage catalytique, produits de tête Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures produite par distillation des produits résultant d'un craquage catalytique. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₃ -C ₅ et dont le point d'ébullition est approximativement compris entre -48°C et 32°C.]	H K	270-071-2	68409-99-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-193-00-9	alcanes en C ₁₋₂ Gaz de pétrole	H K	270-651-5	68475-57-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-194-00-4	alcanes en C ₂₋₃ Gaz de pétrole	H K	270-652-0	68475-58-1	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-195-00-X	alcanes en C ₃₋₄ Gaz de pétrole	H K	270-653-6	68475-59-2	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-196-00-5	alcanes en C ₄₋₃ Gaz de pétrole	H K	270-654-1	68475-60-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-197-00-0	gaz combustibles Gaz de pétrole [Combinaison de gaz légers. Se compose principalement d'hydrogène et/ou d'hydrocarbures de faible poids moléculaire.]	H K	270-667-2	68476-26-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-198-00-6	gaz combustibles, distillats de pétrole brut Gaz de pétrole [Combinaison complexe de gaz légers résultant de la distillation du pétrole brut et du reformage catalytique du napha. Se compose d'hydrogène et d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₁ -C ₄ et dont le	H K	270-670-9	68476-29-9	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
	point d'ébullition est compris approximativement entre -217°C et -12°C.]							
649-199-00-1	hydrocarbures en C ₃₋₄ Gaz de pétrole	H K	270-681-9	68476-40-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-200-00-5	hydrocarbures en C ₄₋₅ Gaz de pétrole	H K	270-682-4	68476-42-6	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-201-00-0	hydrocarbures en C ₂₋₄ , riches en C ₃ Gaz de pétrole	H K	270-689-2	68476-49-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-202-00-6	gaz de pétrole liquéfiés Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation du pétrole brut. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₃ -C ₇ et dont le point d'ébullition est compris approximativement entre -40 °C et 80 °C.]	HKS	270-704-2	68476-85-7	F+; R12 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	F+; T R: 12-45-46 S: 53-45		
649-203-00-1	gaz de pétrole liquéfiés adoucis Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue en soumettant un mélange de gaz de pétrole liquéfiés à un procédé d'adoucissement, afin de convertir les mercaptans ou d'éliminer les impuretés acides. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₃ -C ₇ et dont le point d'ébullition est compris approximativement entre -40 °C et 80 °C.]	HKS	270-705-8	68476-86-8	F+; R12 Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	F+; T R: 12-45-46 S: 45-53		
649-204-00-7	gaz en C ₃₋₄ (pétrole), riches en isobutane Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures issue de la distillation d'hydrocarbures saturés et insaturés dont le	H K	270-724-1	68477-33-8	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-205-00-2	nombre de carbones varie habituellement de C ₃ à C ₆ , principalement du butane et de l'isobutane. Se compose d'hydrocarbures saturés et insaturés dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₃₋₄ , de l'isobutane en majorité.]	H K	270-726-2	68477-35-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-206-00-8	gaz de tête (pétrole), colonne de séparation du butane Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures issue de la distillation d'hydrocarbures aliphatiques saturés et insaturés dont le nombre de carbones varie habituellement de C ₃ à C ₆ . Se compose d'hydrocarbures saturés et insaturés dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₃ à C ₆ , des pipérylènes en majorité.]	H K	270-750-3	68477-69-0	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-207-00-3	gaz en C ₂₋₃ (pétrole) Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation des produits résultant d'un fractionnement catalytique. Contient principalement de l'éthane, de l'éthylène, du propane et du propylène.]	H K	270-751-9	68477-70-3	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-208-00-9	gaz de fond (pétrole), dépropanisation de gazole de craquage catalytique, riches en C ₄ et désacidifiés: Gaz de pétrole [Combinaison complexe	H K	270-752-4	68477-71-4	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
649-209-00-4	d'hydrocarbures obtenue par fractionnement d'un mélange de gazole de craquage catalytique et soumise à un traitement destiné à éliminer l'hydrogène sulfuré et d'autres composants acides. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe dans la gamme C ₃ -C ₅ , principalement en C ₄ .]	H K	270-754-5	68477-72-5	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-210-00-X	gaz de queue (pétrole), isomérisation de naphta, stabilisateur de colonne de fractionnement Gaz de pétrole [Combinaison complexe d'hydrocarbures issue de la stabilisation du naphta de craquage catalytique. Se compose d'hydrocarbures aliphatiques dont le nombre de carbones se situe en majorité dans la gamme C ₃ -C ₅ .]	H K	269-628-2	68308-08-7	Carc. Cat. 1; R45 Muta. Cat. 2; R46	T R: 45-46 S: 53-45		
649-224-00-6	combustibles, diesels Gazole - non spécifié [Combinaison complexe d'hydrocarbures obtenue par distillation du pétrole brut. Se compose d'hydrocarbures dont le nombre de carbones se situe principalement dans la gamme C ₉ - C ₂₀ et dont le point d'ébullition est compris approximativement entre 163°C et 357°C.]	H N	269-822-7	68334-30-5	Carc. Cat. 3; R40	Xn R: 40 S: (2-)36/37		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
005-009-00-3	butyltriphénylborate de tétrabutylammonium		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	tétrakis(pentafluorophényl)borate de N,N-diméthylammonium		422-050-6	118612-00-3	Carc. Cat.3; R40 Xn; R22 Xi; R38-41	Xn R: 22-38-40-41 S: (2-)22-26-36/37/39		
005-012-00-X	butyltriphénylborate(1-) de diéthyl[4-11,5,5-tris-(4-diéthylaminophényl)penta-2,4-diénylidène]cyclohexa-2,5-diénylidène]ammonium		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	propoxycarbazone de sodium		-	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61	C ≥ 2,5 %; N; R50/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; N; R51/53 0,025 ≤ C < 0,25 %; R52/53	
013-009-00-X	(n-butyl) x (éthyl) y-1,5-dihydro)aluminat de sodium x = 0,5 y = 1,5		418-720-2	-	F; R11 R14/15 R 17 Xn; R20 C; R35	F; C R: 11-14/15-17-20-35 S: (1/2-)6-16-26-30-36/37/39-43-45		
014-026-00-5	dichloro(3-(3-chloro-4-fluorophényl)propyl)méthylsilane		407-180-3	-	C; R35	C R: 35 S: (1/2-)26-36/37/39-45		
014-027-00-0	chloro(3-(3-chloro-4-fluorophényl)propyl)diméthylsilane		410-270-5	-	C; R35	C R: 35 S: (1/2-)8-26-28-36/37/39-45		
014-028-00-6	α-[3-(1-oxoprop-2-ényl)-1-oxopropyl]diméthoxysilyloxy-ω-[3-(1-oxoprop-2-ényl)-1-oxopropyl]diméthoxysilyl poly(diméthylsiloxane)		415-290-8	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
014-029-00-1	O,O'-(éthényl)méthylsilène)di[(4-méthylpentan-2-one)oxime]		421-870-1	-	Repr. Cat.3; R62 Xn; R22-48/22	Xn R: 22-48/22-62 S: (2-)36/37		
014-030-00-7	[(diméthylsilène)bis(1,2,3,3a,7a-n)-1H-indén-1-ylidène)diméthyl]hafnium		422-060-0	137390-08-0	T+; R28	T+ R: 28 S: (1/2-)6-22-28-36/37-45		
014-031-00-2	bis(1-méthyléthyl)diméthoxysilane		421-540-7	18230-61-0	R 10 Xi; R38 R43 R 52-53	Xi R: 10-38-43-52/53 S: (2-)24-37-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
014-032-00-8	dicyclopentyl diméthoxysilane		404-370-8	126990-35-0	Xi; R38-41 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-50/53 S: (2-)26-37/39-60-61		
015-180-00-6	[R*(R*,S*)]-[12-méthyl-1-(1-oxopropoxy)propoxy]-(4-phénylbutyl)phosphoryl acétate de (-)-cinchonidine (1:1)		415-820-8	137590-32-0	Xi; R41 R43 R52-53	Xi R: 41-43-52/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
015-181-00-1	phosphine		232-260-8	7803-51-2	F+; R12 R17 T+; R26 C; R34 N; R50	F+; T+; N R: 12-17-26-34-50 S: (1/2-)28-36/37-45-61-63		
015-184-00-8	sels de glyphosate, à l'exception de ceux nommément désignés dans cette annexe		-	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
015-186-00-9	chlorpyrifos-méthyl		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	Mélange de : N-oxyde((2-hydroxyéthyl)imino)bis(méthylène)bisphosphonate de tétrasodium; N-oxyde, P-oxyde((tétrahydro-2-hydroxy-4H-1,4,2-oxazaphosphorin-4-yl)-méthyl)phosphonate de trisodium		417-540-1	-	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
015-189-00-5	oxyde de bis(2,4,6-triméthylbenzoyl)phénylphosphine		423-340-5	162881-26-7	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)22-24-37-61		
016-086-00-8	10-amino-6,13-dichloro-3-(4-(2,5-disulfonatoamino)-6-fluoro-1,3,5-triazin-2-ylamino)prop-3-ylamino)-5,12-dioxa-7,14-diazapentacène-4,11-disulfonate de tétrasodium		402-590-9	109125-56-6	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
016-087-00-3	Mélange de : bishexafluorophosphate de thio-bis(4,1-phénylène)-S,S',S'		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		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
016-088-00-9	tétraphényldisulfonium hexafluorophosphate de diphenyl(4-phénylthiophényl)sulfonium carbonate de propylène		407-280-7	71297-11-5	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
016-089-00-4	acide 4-(bis(4-(diéthylamino)phényl)méthyl)benzène-1,2-diméthanesulfonique		413-840-1	-	E; R2 F; R11 R 53	E R: 2-11-53 S: (2-)33-35-40-61		
016-090-00-X	Mélange d' esters obtenus à partir de 5,5',6,6',7,7'-hexahydroxy-3,3',3',3'-tétraméthyl-1,1'-spirobi-indane et d'acide 6-diazo-5,6-dihydro-5-oxo-1-naphthalènesulfonique		415-040-8	14653-91-9	Xn; R22 Xi; R37-41	Xn R: 22-37-41 S: (2-)26-39		
016-091-00-5	4-méthyl-N-(méthylsulfonyl)benzènesulfonamide		414-110-5	-	Xi; R41 N; R50-53	Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
016-093-00-6	Mélange (2:1) de: tris(6-diazo-5,6-dihydro-5-oxonaphthalène-1-sulfonate de 4-(7-hydroxy-2,4,4-triméthyl-2-chromanyl)résorcinol-4-yle bis-(6-diazo-5,6-dihydro-5-oxonaphthalène-1-sulfonate de 4-(7-hydroxy-2,4,4-triméthyl-2-chromanyl)résorcinol		414-770-4	140698-96-0	F; R11 Carc.Cat.3; R40	F; Xn R: 11-40 S: (2-)7-36/37		
016-095-00-7	Mélange de: produit de réaction de 4,4'-méthylènebis[2-(4-hydroxybenzyl)-3,6-diméthylphénol] et de l'acide 6-diazo-5,6-dihydro-5-oxonaphthalènesulfonique (1:2) Produit de réaction de 4,4'-méthylènebis[2-(4-hydroxybenzyl)-3,6-diméthylphénol] et de l'acide 6-diazo-5,6-dihydro-5-oxonaphthalènesulfonique (1:3)		417-980-4	-	F; R11 Carc.Cat.3; R40	F; Xn R: 11-40 S: (2-)7-36/37		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
016-096-00-2	thiènsulfuron méthyl		-	79277-27-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
017-015-00-3	chlorhydrate de chlorure de (2-aminométhyl)phényl)acétyle		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	chlorure de méthyltriphénylphosphonium		418-400-2	1031-15-8	Xn; R21/22 Xi; R38-41 N; R51-53	Xn; N R: 21/22-38-41-51/53 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
017-017-00-4	chlorure de (Z)-13-docosényl-N,N-bis(2-hydroxyéthyl)-N-méthylammonium		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	chlorure de N,N,N-triméthyl-2,3-bis(stéaroyloxy)propylammonium		405-660-7	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
017-019-00-5	chlorhydrate de (R)-1,2,3,4-tétrahydro-6,7-diméthoxy-1-vératrylisoquinoline		415-110-8	54417-53-7	Xn; R22 R52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		
017-020-00-0	chlorure d'éthylpropoxyaluminium		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	chlorure de béhénamidopropylidiméthyl(dihydroxypropyl) ammonium		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	Mélange de: (bis(2-hydroxy-5-tétrapropénylphényl)méthyl)méthylamine)dihydroxyde de dicalcium (tris(2-hydroxy-5-tétrapropénylphényl)méthyl)méthylamine)trihydroxyde de tricalcium poly calcium ((2-hydroxy-5-tétrapropénylphényl)méthyl)méthylamine)hydroxyde de calcium]		420-470-4	-	Xi; R36/38 R43	Xi R: 36/38-43 S: (2-)24-26-37		
024-019-00-9	Composant principal : acide acétoacétique anilide/ 3-amino-hydroxybenzène (ATAN-MAP) : {6-(2 ou 3 ou 4)-amino-(4 ou 5 ou 6)-hydroxyphénylazo]-5-(phénylsulfamoyl)-3-sulfonatonaphthalén-2-		419-230-1	-	R 43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
024-020-00-4	azobenzène-1,2'-diolato)-{6-[1-(phénylcarbamoylethylazo)-5''-(phénylsulfamoyl)-3''-sulfonatophthalène-2''-azobenzène-1'',2''-diolato]chromate (III) de trisodium produit secondaire 1 : acide acétoacétique anilide / acide acétoacétique amilide (ATAN-ATAN) ; bis[6-[1-(phénylcarbamoylethylazo)-5''-(phénylsulfonyl)-3-sulfonatophthalén-2-azobenzène-1,2'-diolato]chromate (III) de trisodium produit secondaire 2 : 3-amino-1-hydroxybenzène / 3-amino-1-hydroxybenzène (MAP-MAP) ; bis[6-[2 ou 3 ou 4)-amino-(4 ou 5 ou 6)-hydroxyphénylazo]-5''-(phénylsulfamoyl)-3-sulfonatophthalén-2-sulfonatophthalén-2-azobenzène-1,2'-diolato]chromate (III) de trisodium ;		418-220-4	-	R43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-22-24-37-61		
025-005-00-5	Mélange de : [29H, 31H-phthalocyanine-C,C,C-trisulfonato (6-)-N29,N30,N31,N32]manganate(3-) de trisodium [29H, 31H-phthalocyanine-C,C,C-tétrasilfonato (6-)-N29,N30,N31,N32]manganate (3-) de tétrasodium [29H, 31H-phthalocyanine-C,C,C,C-pentasilfonato (6-)-N29,N30,N31,N32]manganate (3-) de pentasodium		417-660-4	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
029-012-00-4	((N-(3-triméthylammonio)propyl)sulfamo		407-340-2	124719-24-0	Xi; R41	Xi R: 41		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
029-013-00-X	y) méthylsulfonatophthalocyanin ato) cuivre(II) de sodium		407-580-8	130201-51-3	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)24-37-61		
030-011-00-6	(2-(α-(3-(4-chloro-6-(2-(2-(vinylsulfonyl)éthoxy)éthylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino)-2-oxido-5-sulfonatophénylazo)benzyl)idènehydrazino)-4-sulfonatobenzoato)cuivre(II) de trisodium		231-944-3	7779-90-0	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
030-013-00-7	oxyde de zinc		215-222-5	1314-13-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
034-003-00-3	sélénite de sodium		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	tétrakis (pentafluorophényl)borate (1-) de (4-(1-méthyléthyl)phényl)(4-méthylphényl)iodonium		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	Mélange d'isomères de: méthylidiphénylméthane diméthyl(diphényl)méthane		405-470-4	-	Xi; R38 N; R50-53	Xi; N R: 38-50/53 S: (2-)37-60-61		
601-057-00-X	tosylate de N-dodécyl-1,3-(4-diméthylamino)benzamido)-propyl(diméthylammonium		421-130-8	156679-41-3	Xi; R41 R43 N; R50-53	Xi; N R: 41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
601-058-00-5	di-L-P-menthène		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	2-benzylidène-3-oxobutyrate de méthyle		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	sels de x-sodium et de y-potassium de 1,2-bis-(4-fluoro-6-(4-sulfo-5-(2-(4-sulfonaphalén-3-ylazo)-1-hydroxy-3,6-disulfo-8-aminonaphalén-7-		417-610-1	155522-09-1	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
601-061-00-1	ylazo(phénylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino]éthane; x = 7,755 y = 0,245		418-960-8	-	C; R34 R 43 N; R51-53	C; N R: 34-43-51/53 S: (1/2-)26-28-36/37/39-45-61		
601-062-00-7	(éthyl-1,2-éthanediyl)-2[[[(2-hydroxyéthyl)méthylamino]acétylpropyle [o-(nonylphénoxy)poly]oxy(méthyl-1,2-éthanediyle)		417-030-9	151006-59-6	R 53	R: 53 S: 61		
601-063-00-2	Mélange de : triacontane ramifié dotriacontane ramifié tétratriacontane ramifié hexatriacontane ramifié		417-060-2	151006-61-0	Xn; R20 R53	Xn R: 20-53 S: (2-)61		
601-064-00-8	hexatriacontane ramifié		417-070-7	151006-62-1	R53	R: 53 S: 61		
601-065-00-3	Mélange de : (1'- α ,3'- α ,6'- α -2,2,3',7',7'-pentaméthylspiro(1,3-dioxane-5,2'-norcarane) (1 α ,3 β ,6 α)-2,2,3',7',7'-pentaméthylspiro(1,3-dioxane-5,2'-norcarane)		416-930-9	-	Xn; R48/22 Xi; R41 N; R51-53	Xn; N R: 41-48/22-51/53 S: (2-)22-26-37/39-61		
601-066-00-9	1-(4-(trans-4-heptylcyclohexyl)phényl)éthane		426-820-2	78531-60-9	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
601-067-00-4	arséniate de triéthyle		427-700-2	15606-95-8	Carc.Cat.1; R45 T; R23/25 N; R50-53	T; N R: 45-23/25-50/53 S: 53-45-60-61		
601-068-00-X	1,2-diacétoxybut-3-ène		421-720-5	18085-02-4	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)		
601-069-00-5	bromure de 2-éthyl-1-(2-(1,3-dioxanyl)éthyl)pyridinium		422-680-1	-	R52-53	R: 52/53 S: 61		
601-071-00-6	1-diméthoxyméthyl-2-nitrobenzène		423-830-9	20627-73-0	R43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		
601-073-00-7	1-bromo-3,5-difluorobenzène		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		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
601-074-00-2	Mélange de : 4-(2,2,3-triméthylcyclohex-3-én-1-yl)-1-méthyl-2-oxabicyclo[2,2,2]octane; 1-(2,2,3-triméthylcyclohex-3-én-1-yl)-5-méthyl-6-oxabicyclo[3,2,1]octane; spiro[cyclohex-3-én-1-yl-(4,5,6,6a-tétrahydro-3,6',6'a-tétraméthyl)-1,3'(3'aH)-2H]cyclopenta[b]furane]; spiro[cyclohex-3-én-1-yl-(4,5,6,6a-tétrahydro-4,6',6'a-tétraméthyl)-1,3'(3'aH)-2H]cyclopenta[b]furane]		422-040-1	-	Xi; R36/38 N; R51-53	Xi; N R: 36/38-51/53 S: (2-)26-37-61		
602-093-00-9	$\alpha,\alpha,\alpha,4$ -tétrachlorotoluène <i>p</i> -chlorophényltrichlorométhane	E	226-009-1	5216-25-1	Carc. Cat.2; R45 Repr. Cat.3; R62 T; R48/23 Xn; R21/22 Xi; R37/38	T R: 45-21/22-37/38-48/23-62 S: 53-45		
602-094-00-4	oxyde de diphenyle, dérivé octabromé		251-087-9	32536-52-0	Repr. Cat.2; R61 Repr. Cat.3; R62	T R: 61-62 S: 53-45		
602-096-00-5	chlorhydrate de vert malachite ; C.I. Basic Green 4 [1] oxalate de vert malachite [2]		209-322-8 [1] 219-441-7 [2]	569-64-2 [1] 18015-76-4 [2]	Xn; R22 Xi; R41 Repr. Cat. 3; R63 N; R50-53	Xn; N R: 22-41-63-50/53 S: (2-)26-36/37-39-46-60-61		
602-097-00-0	1-bromo-9-(4,4,5,5-pentafluoropentylthio)nonane		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'-tétra-tert-butylbiphényl-2,2'-diol		407-920-5	6390-69-8	R 53	R: 53 S: 61		
603-168-00-9	3-(2-éthylhexyloxy)propane-1,2-diol		408-080-2	70445-33-9	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
603-169-00-4	(+/-) trans-4-(4-fluorophényl)-3-hydroxyméthyl-N-méthylpipéridine		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	Mélange de: 2-méthyl-1-(6-méthylbicyclo[2.2.1]hept-5-én-2-yl)pent-1-én-3-ol 2-méthyl-1-(1-méthylbicyclo[2.2.1]hept-5-én-2-		415-990-3	67739-11-1	Xi; R36 N; R51-53	Xi; N R: 36-51/53 S: (2-)26-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
603-171-00-5	y)-pent-1-én-3-ol 2-méthyl-1-(5-méthylbicyclo[2.2.1]hept-5-én-2-yl)pent-1-én-3-ol		414-780-9	38585-74-9	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
603-172-00-0	trans-butène dioate de mono-2-[2-(4-dibenzol[b,f][1,4]thiazépin-1-yl)pipérazinium-1-yl]éthoxyéthanol		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-diméthyl-3,5,8-trioxabicyclo[5.1.0]octane		421-750-9	57280-22-5	Xi; R36 R 43	Xi R: 36-43 S: (2-)26-36/37		
603-174-00-1	4-cyclohexyl-2-méthyl-2-butanol		420-630-3	83926-73-2	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
603-175-00-7	2-(2-hexyloxyéthoxy)éthanol DEGHE éther monohexylique du diéthylène glycol 3,6-dioxa-1-dodécanol hexyl carbitol		203-988-3	112-59-4	Xn; R21 Xi; R41	Xn R: 21-41 S: (2-)26-36/37-46		
603-176-00-2	1,2-bis(2-méthoxyéthoxy)éthane TEGDME éther méthylique du triéthylène glycol triglyme		203-977-3	112-49-2	R19 Repr. Cat.2; R61 Repr. Cat.3; R62	T R: 61-19-62 S: 53-45		
603-177-00-8	1-éthoxypropan-2-ol 2PGIEE 1-éthoxy-2-propanol éther éthylique du propylène glycol éther monoéthylique du propylène glycol acétate de 2-éthoxy-1-méthyléthyle; //acétate d'éther monométhylique du propylène glycol 2PGIEEA 2		216-374-5 1 259-370-9 2	1569-02-4 1 54839-24-6 2	R10 R67	R: 10-67 S: (2-)24		
603-178-00-3	2-hexyloxyéthanol éther monohexylique de l'éthylène glycol		203-951-1	112-25-4	Xn R21/22 C; R34	C R: 21/22-34 S: (1/2-)26-36/37/39-		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
	n-hexylglycol					45		
603-179-00-9	ergocalciférol		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	colécalciférol		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	oxyde de <i>tert</i> -butyle et de méthyle MTBE 2-méthoxy-2-méthylpropane		216-653-1	1634-04-4	F; R11 Xi; R38	F; Xi R: 11-38 S: (2-)9-16-24		
603-183-00-0	2-[2-(2-butoxyéthoxy)éthoxy]éthanol TEGEBE éther monobutylique du triéthylène glycol butoxytriéthylène glycol		205-592-6	143-22-6	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39-46	C ≥ 30 %; Xi; R41 20 % ≤ C < 30 %; Xi; R36	
603-184-00-6	2-(hydroxyméthyl)-2-[2-hydroxy-3-(isooctadécyloxy)propoxy]méthyl-1,3-propanediol		416-380-1	146925-83-9	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
603-185-00-1	2,4-dichloro-3-éthyl-6-nitrophénol		420-740-1	99817-36-4	T; R25 Xi; R41 R43 N; R50-53	T; N R: 25-41-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
603-186-00-7	trans-(5RS,6SR)-6-amino-2,2-diméthyl-1,3-dioxépan-5-ol		419-050-3	79944-37-9	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24/25-26-37		
603-187-00-2	dichlorure de 4,4'-(6-bis(2-hydroxyéthyl)amino)-1,3,5-triazine-2,4-diylo)bis(imino-4,1-phénylène-2,1-éthènediyl))bis(1-méthylpyridinium)		419-360-9	163661-77-6	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
603-189-00-3	Mélange de: complexe de titane de 2,2'-oxydiéthanol, lactate d'ammonium, nitritotris(2-propanol) et d'éthylèneglycol		405-250-8	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
603-191-00-4	2-(4,6-bis(2,4-diméthylphényl)-1,3,5-triazin-2-yl)-5-(3-((2-éthylhexyloxy)-2-hydroxypropoxy)phénol		419-740-4	137658-79-8	R53	R: 53 S: 61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
603-195-00-6	2-[4-(4-méthoxyphényl)-6-phényl-1,3,5-triazin-2-yl]phénol		430-810-3	154825-62-4	R52-53	R: 52/53 S: 61		
603-196-00-1	2-(7-éthyl-1H-indol-3-yl)éthanol		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-chlorophényl)-4,4-diméthyl-3-(1,2,4-triazol-1-yl)méthylpentan-3-ol		403-640-2	107534-96-3	Repr. Cat. 3; R63 Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53-63 S: (2-)22-36/37-61		
603-199-00-8	étozazole		-	153233-91-1	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61	C ≥ 0,25 %; N; R50/53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; N; R51/53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; R52/53	
604-065-00-1	4,4',4''-(1-méthylpropan-1-yl-3-ylidène)tris(2-cyclohexyl-5-méthylphénol)		407-460-5	111850-25-0	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
604-066-00-7	Mélange de : 6-(1,1-diméthyléthyl)-4-tétrapropyl-2-[(2-hydroxy-5-tétrapropylphényl)méthyl]phénol (composé en C41) et 2,2-bis[6-(1,1-diméthyléthyl)-1-hydroxy-4-tétrapropylphényl]méthane (composé en C45) 2,6-bis(1,1-diméthyléthyl)-4-tétrapropylphénol et 2-(1,1-diméthyléthyl)-4-tétrapropylphénol 2,6-bis(6-(1,1-diméthyléthyl)-1-hydroxy-4-tétrapropylphényl)méthyl-4-tétrapropylphénol et 2-[(6-(1,1-diméthyléthyl)-1-hydroxy-4-tétrapropylphényl)méthyl]-6-[(1-hydroxy-4-tétrapropylphényl)méthyl]-4-tétrapropylphénol		414-550-8	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
604-067-00-2	Mélange de : 2,2'[(2-hydroxyéthyl)imino]bis(méthylène)bis[4-dodécylphénol] formaldéhyde, oligomère avec 4-dodécylphénol et 2-aminoéthanol(n = 2) formaldéhyde, oligomère avec 4-		414-520-4	-	Xi; R38-41 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-50/53 S: (2-)26-37/39-60-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
604-068-00-8	dodécylphénol et 2-aminoéthanol(n = 3, 4 et plus)		415-170-5	99095-19-9	Xn; R20/22 R 43	Xn R: 20/22-43 S: (2-)24-26-37		
604-069-00-3	chlorhydrate de (+/-)-4-[2-[[3-(4-hydroxyphényl)-1-méthylpropyl]amino]-1-hydroxyéthyl]phénol		421-740-4	51390-14-8	C; R34 N; R51-53	C; N R: 34-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		
604-070-00-9	tricolosan		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	Mélange de : 2,2-diméthoxyéthanal (ce composant est considéré anhydre du point de vue de son identité, de sa structure et de sa composition. Cependant, le 2,2-diméthoxyéthanal existera sous une forme hydratée, 60% anhydre équivalent à 70,4% hydraté); eau (comprenant l'eau libre et l'eau du 2,2-diméthoxyéthanal hydraté)		421-890-0	-	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
606-062-00-0	tétrahydrothiopyrane-3-carboxaldéhyde		407-330-8	61571-06-0	Repr. Cat.2; R61 Xi; R41 R 52-53	T R: 61-41-52/53 S: 53-45-61		
606-063-00-6	(E)-3-(2-chlorophényl)-2-(4-fluorophényl)propénal		410-980-5	112704-51-5	Xi; R36 R 43	Xi R: 36-43 S: (2-)24-26-37		
606-064-00-1	prégn-5-ène-3,20-dione bis(éthylène acétal)		407-450-0	7093-55-2	R 53	R: 53 S: 61		
606-065-00-7	1-(4-morpholinophényl)butan-1-one		413-790-0	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
606-066-00-2	trans-5-[(4-chlorophényl)méthylène]-2,2-diméthylcyclopentanone		410-440-9	131984-21-9	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
606-067-00-8	Mélange de: 1-(2,3,6,7,8,9-hexahydro-1,1-diméthyl-1H-benz(g)indén-4-yl)éthanone 1-(2,3,5,6,7,8-hexahydro-1,1-diméthyl-1H-benz(f)indén-4-yl)éthanone 1-(2,3,6,7,8,9-hexahydro-1,1-diméthyl-1H-benz(g)indén-5-yl)éthanone 1-(2,3,6,7,8,9-hexahydro-3,3-diméthyl-1H-benz(g)indén-5-yl)éthanone		414-870-8	96792-67-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-068-00-3	2,7,11-triméthyl-13-(2,6,6-triméthylcyclohex-1-én-1-yl)tridécahéxaén-2,4,6,8,10,12-al		415-770-7	1638-05-7	Xn; R48/22 R 43 R 52-53	Xn R: 43-48/22-52/53 S: (2-)22-36/37-61		
606-069-00-9	spiro[1,3-dioxolane-2,5'-(4',4',8',8'-tétraméthylhexahydro-3,9'-méthanonaphthalène)]		415-460-1	154171-77-4	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24-61		
606-070-00-4	5-(3-butyl-2,4,6-triméthylphényl)-2-[1-(éthoxymino)propyl]-3-hydroxycyclohex-2-én-1-one		414-790-3	138164-12-2	Repr.Cat.3; R62-63 Xn; R22 Xi; R38 N; R50-53	Xn; N R: 22-38-62-63-50/53 S: (2-)22-36/37-60-61		
606-071-00-X	17-spiro[5,5-diméthyl-1,3-dioxan-2-yl]androsta-1,4-dién-3-one		421-050-3	13258-43-0	N; R50-53	N R: 50/53 S: 22-60-61		
606-072-00-5	3-acétyl-1-phényl-pyrrolidine-2,4-dione		421-600-2	719-86-8	Xn; R48/22 N; R51-53	Xn; N R: 48/22-51/53 S: (2-)22-36/37-61		
606-073-00-0	4,4'-bis(diméthylamino)benzophénone cétone de Michler		202-027-5	90-94-8	Carc.Cat.2; R45 Muta.Cat.3; R68 Xi; R41	T R: 45-41-68 S: 53-45		
606-075-00-1	1-benzyl-5-éthoxyimidazolidine-2,4-dione		417-340-4	65855-02-9	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)22		
606-076-00-7	1-(2-quinolinylecarbonyloxy)-2,5-pyrrolidinedione		418-630-3	136465-99-1	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)24-26-37/39		
606-077-00-2	(3S,4S)-3-hexyl-4-[(R)-2-hydroxytriécyl]-2-oxétanone		418-650-2	104872-06-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-078-00-8	1-octylazépin-2-one		420-040-6	59227-88-2	C; R34 R 43 N; R51-53	C; N R: 34-43-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
606-079-00-3	2-n-butyl-1-benzol d'isothiazol-3-one		420-590-7	-	C; R34 R43 N; R50-53	45-61 C; N R: 34-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
606-080-00-9	Produit de réaction de : 3-hydroxy-5,7-di-tert-butylbenzofuran-2-one avec o-xylène		417-100-9	-	R 53	R: 53 S: 61		
606-081-00-4	(3 β , 5 α , 6 β)-3-(acétyloxy)-5-bromo-6-hydroxyandrostan-17-one		419-790-7	4229-69-0	R43 R52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-36/37-61		
606-082-00-X	Mélange de: butan-2-oneoxime syn-O'-di(butan-2-oneoxime)diéthoxysilane		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-chloro-5-sec-hexadécylhydroquinone		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-méthoxy-5-benzofuranyl)-3-phényl-1,3-propanedione		414-540-3	484-33-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-085-00-6	(1R,4S)-2-azabicyclo[2.2.1]hept-5-én-3-one		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-diméthylcyclohexyl)pent-4-én-1-one		422-330-8	56973-87-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
606-087-00-7	6-éthyl-5-fluoro-4(3H)-pyrimidone		422-460-5	137234-87-8	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)60-61		
606-088-00-2	2,4,4,7-tétraméthyl-6-océtén-3-one		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	Mélange de : 1,4-diamino-2-chloro-3-phénoxyanthraquinone 1,4-diamino-2,3-bis-phénoxyanthraquinone		423-220-2	12223-77-7	R53	R: 53 S: 61		
606-091-00-9	6-chloro-5-(2-chloroéthyl)-1,3-dihydroindol-2-one		421-320-0	118289-55-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
606-092-00-4	Mélange de : (E)-oxacyclohexadec-12-én-2-one (E)-oxacyclohexadec-13-én-2-		422-320-3	111879-80-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-379-00-7	one a (Z)-oxacyclohexadec-(12)-én-2-one et (Z)-oxacyclohexadec-(13)-én-2-one		401-230-8	55349-70-7	R52-53	R: 52/53 S: 61		
607-380-00-2	Mélange de: stéarate de 2-[N-(2-hydroxyéthyl)stéaramido]éthyle bis[2-(stéaroyloxyéthyl)amino]méthylsulfonate de sodium bis(2-hydroxyéthyl)amino]méthylsulfonate de sodium N,N-bis(2-hydroxyéthyl)stéaramide		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	Mélange de triesters obtenus à partir de 2,2-bis(hydroxyméthyl)butanol et des acides C7-alcanolique et 2-éthylhexanoïque		413-710-4	-	R 53	R: 53 S: 61		
607-382-00-3	acide 2-(4-amino-2-nitrophényl)amino)benzoïque		411-260-3	117907-43-4	Xi; R41 R 43 R 52-53	Xi R: 41-43-52/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
607-383-00-9	Mélange de: hexadécanoate de 2,2,6,6-tétraméthylpipéridin-4-yle octadécanoate de 2,2,6,6-tétraméthylpipéridin-4-yle		415-430-8	86403-32-9	Xi; R41 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-384-00-4	Mélange d'esters :3,5-bis(1,1-diméthyléthyl)-4-hydroxybenzènepropanoate d'alkyles en C14-C15 ramifiés 3,5-bis(1,1-diméthyléthyl)-4-hydroxybenzènepropanoate d'alkyles en C15 ramifié et linéaire		413-750-2	171090-93-0	R 53	R: 53 S: 61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-385-00-X	3,5-bis(1,1-diméthyléthyl)-4-hydroxybenzènepropanoate d'alkyles en C13 ramifié et linéaire		414-590-6	125229-74-5	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-386-00-5	Copolymère d'alcool vinylique et d'acétate de vinyle partiellement acétalisé avec le méthylsulfate de 4-(2-(4-formylphényl)éthényl)-1-méthylpyridinium		412-580-6	174591-51-6	Xi; R38-41 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-387-00-0	Mélange de: acide tétradécanoïque (42,5-47,5%) esters de poly(1-7)lactate de l'acide tétradécanoïque (52,5-57,5%);		412-590-0	58856-63-6	Xi; R38-41 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-388-00-6	Mélange de: acide dodécanoïque (35-40%) esters de poly(1-7)lactate de l'acide dodécanoïque (60-65%);		412-090-2	2788-74-1	Xn; R22 R 43 R 52-53	Xn R: 22-43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		
607-389-00-1	acide 4-éthylamino-3-nitrobenzoïque		414-130-4	119710-96-2	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)22		
607-390-00-7	N,N-bis(carboxyméthyl)-3-amino-2-hydroxypropionate de trisodium		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	1,2,3,4-tétrahydro-6-nitroquinoxaline		414-240-2	6914-71-2	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-392-00-8	cyclopropane-1,1-dicarboxylate de diméthyle		414-260-1	88938-37-8	R 53	R: 53 S: 61		
607-393-00-3	4-(5-cyano-1,6-dihydro-2-hydroxy-1,4-diméthyl-6-oxo-3-pyridinyl)azobenzène de 2-phénoxyéthyle		415-750-8	106447-44-3	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-394-00-9	acide 3-(cis-1-propényl)-7-amino-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ène-2-carboxylique		413-260-9	5521-55-1	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
	acide 5-méthylpyrazine-2-carboxylique							

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-395-00-4	Mélange de: 1-tridécyl-4-allyl-(2 ou 3)-sulfobutanedioate de sodium 1-dodécyl-4-allyl-(2 ou 3)-sulfobutanedioate de sodium		410-230-7	-	C; R34 R 43 N; R51-53	C; N R: 34-43-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		
607-396-00-X	2-(4-méthoxybenzylidène)malonate de bis(1,2,2,6,6-pentaméthyl-4-pipéridinyle)		414-840-4	147783-69-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 22-60-61		
607-397-00-5	Mélange de: salicylates de calcium (alkylés ramifiés en C10-14 et C18-30) phénates de calcium (alkylés ramifiés en C10-14 et C18-30) phénates de calcium sulfurés (alkylés ramifiés en C10-14 et C18-30)		415-930-6	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)36/37		
607-398-00-0	N-(5-chloro-3-(4-(diéthylamino)-2-méthylphénylimino)-4-méthyl-6-oxo-1,4-cyclohexadiényl)carbamate d'éthyle		414-820-5	125630-94-6	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-399-00-6	2,2-diméthylpropanoate de 3-méthyl-3-butényle		415-610-6	104468-21-5	Xi; R38 R52-53	Xi R: 38-52/53 S: (2-)37-61		
607-400-00-X	3-[[[(dibutylamino)thioxométhyl]thio]propanoate de méthyle		414-400-1	32750-89-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-401-00-5	3-hydroxy-5-oxo-3-cyclohexène-1-carboxylate d'éthyle		414-450-4	88805-65-6	Xi; R38-41 R 43	Xi R: 38-41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-402-00-0	N-(phényloxy-carbonyl)-L-valinate de méthyle		414-500-5	153441-77-1	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-403-00-6	Mélange de: succinate de bis(1S,2S,4S)-(1-benzyl-4-tert-butoxycarboxamido-2-hydroxy-5-phényl)pentylammonium alcool isopropylique		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	Mélange de: acide ((Z)-3,7-diméthyl-2,6-octadiényl)oxycarbonylpropanoïque		415-190-4	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-405-00-7	butanedioate de di-((E)-3,7-diméthyl-2,6-octadiényle) butanedioate de di-((Z)-3,7-diméthyl-2,6-octadiényle) butanedioate de (Z)-3,7-diméthyl-2,6-octadiényle acide ((E)-3,7-diméthyl-2,6-octadiényl)oxycarbonylpropanoïque		415-380-7	148348-12-3	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-406-00-2	p-hydroxybenzoate de 2-hexyldécyle 2,5-dichlorobenzoate de potassium		415-700-5	-	Xn; R22 Xi; R41	Xn R: 22-41 S: (2-)26-39		
607-407-00-8	2-carboxy-3-(2-thiényl)propionate d'éthyle		415-680-8	143468-96-6	Xi; R38-41 R 43	Xi R: 38-41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-408-00-3	N-(4-fluorophényl)glycinate de potassium		415-710-1	-	Xn; R48/22 Xi; R41 R 43 R 52-53	Xn R: 41-43-48/22-52/53 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
607-409-00-9	Mélange de : acide (3R)-11S-(1 α , 2 α , 6 β)-((2S)-2-méthyl-1-oxo-butoxy)-8 α -gamma.) hexahydro-2,6-diméthyl-1-naphthalène]-3,5-dihydroxyheptanoïque biomasse inerte de Aspergillus terreus		415-840-7	-	R 43 R 52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)36/37-61		
607-410-00-4	2-(hexadéc-2-ényl)butanedioate de monol 2-(diméthylamino)éthyle et/ou 3-(hexadéc-2-ényl)butanedioate de monol 2-(diméthylamino)éthyle]		415-880-5	-	Xi; R38-41 R 43 N; R50-53	Xi; N R: 38-41-43-50/53 S: (2-)24-26-37/39-60-61		
607-411-00-X	4-méthylbenzènesulfonate de (S)-oxyranéméthanol		417-210-7	70987-78-9	Carc.Cat.2; R45 Muta.Cat.3; R68 Xi; R41 R43 N; R51-53	T; N R: 45-41-43-51/53 S: 53-45-61		
607-412-00-5	2-(1-cyanocyclohexyl)acétate d'éthyle		415-970-4	133481-10-4	Xn; R22-48/22 R 52-53	Xn R: 22-48/22-52/53 S: (2-)36/37-61		
607-413-00-0	trans-4-phényl-L-proline		416-020-1	96314-26-0	Repr.Cat.3; R62 R 43	Xn R: 43-62		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-414-00-6	4,4',4''-(1,3,5-triazine-2,4,6-triyltriamino)tris(benzoate de 2-éthylhexyle)		402-070-1	88122-99-0	R53	S: (2-)22-36/37 R: 53 S: 61		
607-415-00-1	poly-(méthacrylate de méthyle)-co-(méthacrylate de butyle)-co-(4-acryloxybutyl isoprényle-.alpha.,.alpha.-diméthylbenzyle carbamate)-co-(anhydride maléique)		419-590-1	-	F; R11 R 43	F; Xi R: 11-43 S: (2-)24-37-43		
607-416-00-7	4-(2-carboxyméthylthio)éthoxy-1-hydroxy-5-isobutyloxy-carbonylamino-N-(3-dodécyloxypropyl)-2-naphtamide		420-730-7	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-418-00-8	4-aminobenzoate de 2-éthylhexyle		420-170-3	26218-04-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-419-00-3	acide (3'-carboxyméthyl-5-(2-(3-éthyl-3H-benzothiazol-2-ylidène)-1-méthyléthylidène)-4,4'-dioxo-2'-thioxo-(2,5)bitiazolidinylidène-3-yl)acétique		422-240-9	166596-68-5	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)26-36/37/39		
607-420-00-9	acide 2,2-bis(hydroxyméthyl)butanoïque		424-090-1	10097-02-6	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
607-421-00-4	cyperméthrine cis/trans +/- 40/60 (RS)- α -cyano-3-phénoxybenzyl (1RS,3RS;1RS,3SR)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropanecarboxylate		257-842-9	52315-07-8	Xn; R20/22 Xi; R37 N; R50-53	Xn; N R: 20/22-37-50/53 S: (2-)24-36/37/39-60-61		
607-422-00-X	α -cyperméthrine		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	esters de mecoprop et de mecoprop-P		-	-	Xn; R22 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)13-36/37-60-61		
607-424-00-0	trifloxistrobine (E)-méthoxymino-((E)- α -[1-(α,α -trifluoro-m-tolyl)éthylidèneaminoxy]]-o-		-	141517-21-7	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-46-60-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
	tolyl]acétate de méthyle							
607-425-00-6	métalaxyl (ISO) N-(2,6-diméthylphényl)-N-(méthoxyacétyl)-DL-alaninate de méthyle		260-979-7	57837-19-1	Xn; R22 R43 R52-53	Xn R: 22-43-52/53 S: (2-)13-24-37-46-61		
607-426-00-1	ester dipentyle (ramifié et linéaire) de l'acide 1,2-benzène dicarboxylique [1] phthalate de n-pentyle et d'isopentyle [2] phthalate de di-n-pentyle [3] phthalate de diisopentyle [4]		284-032-2 [1] - [2] 205-017-9 [3] 210-088-4 [4]	84777-06-0 [1] - [2] 131-18-0 [3] 605-50-5 [4]	Repr. Cat. 2; R60-61 N; R50	T; N R: 60-61-50 S: 53-45-61		
607-427-00-7	Heptanoate de bromoxynile (ISO) heptanoate de 2,6-dibromo-4-cyanophényle		260-300-4	56634-95-8	Repr. Cat.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	BBP Phthalate de butyle benzyle		201-622-7	85-68-7	Repr. Cat.2; R61 Repr. Cat.3; R62 N; R50-53	T; N R: 61-62-50/53 S: 53-45-60-61		
607-431-00-9	praléthrine ETOC 2,2-diméthyl-3-(2-méthylprop-1-enyl)cyclopropanecarboxylate de 2-méthyl-4-oxo-3-(prop-2-ynyl)cyclopent-2-én-1-yle		245-387-9	23031-36-9	T; R23 Xn; R22 N; R50-53	T; N R: 22-23-50/53 S: (1/2-)45-60-61		
607-432-00-4	S-metolachlor Mélanges de (S)-2-chloro-N-(2-éthyl-6-méthylphényl)-N-(2-méthoxy-1-méthylethyl)-acétamide (80-100%) [1] S-metolachlor (R)-2-chloro-N-(2-éthyl-6-méthylphényl)-N-(2-méthoxy-1-méthylethyl)-acétamide (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	cyperméthrine cis/trans +/- 80/20 (IRS; 3RS; IRS; 3SR)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropanecarboxylate		257-842-9	52315-07-8	Xn; R22 Xi; R37/38 R43 N; R50-53	Xn; N R: 22-37/38-43-50/53 S: (2-)36/37/39-60-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-434-00-5	de (RS)-alpha-cyano-3-phénoxybenzyle		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	Mecoprop-P [1] et ses sels Acide (R)-2-(4-chloro-2-méthylphénoxy)propionique		416-810-6	111969-64-3	Xn; R22 Xi; R41 N; R51-53	Xn; N R: 41-48/22-51/53 S: (2-)22-26-36/39-61		
607-436-00-6	2,2-dihydroxyacétate de 2S-isopropyl-5R-méthyl-1R-cyclohexyle		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	acide 3-(4-aminophényl)-2-cyano-propén-2-oiqne		417-480-6	-	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-438-00-7	2-[(aminosulfonyl)méthyl]benzoate de méthyle		419-010-5	-	Xn; R22 Xi; R36	Xn R: 22-36 S: (2-)22-26		
607-439-00-2	tétrahydro-2-furanecarboxylate de méthyle		420-670-1	37443-42-8	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-440-00-8	2-aminosulfonyl-6-(trifluorométhyl)pyridine-3-carboxylate de méthyle		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	acide 3-[3-(2-dodécyloxy-5-méthylphényl)carbamoyl]-4-hydroxy-1-naphthylthio]propionique		421-490-6	167684-63-1	R53	R: 53 S: 57-61		
607-442-00-9	[hydroxy(4-phénylbutyl)phosphinyl]acétate de benzyle		416-050-5	87460-09-1	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-36/39		
607-443-00-4	bis(2,4-di-tert-butyl-6-méthylphényl)éthylphosphate		416-140-4	145650-60-8	R 53	R: 53 S: 61		
607-444-00-X	Mélange de: dibenzoate de cis-1,4-diméthylcyclohexyle dibenzoate de trans-1,4-diméthylcyclohexyle		416-230-3	35541-81-2	R 53	R: 53 S: 61		
607-445-00-5	tris(4-méthylbenzènesulfonate)ferrique (III)		420-960-8	77214-82-5	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)24-26-39		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-446-00-0	2-[4-(2-chloro-4-nitrophénylazo)-3-(1-oxopropyl)amino]phénylaminopropionate de méthyle		416-240-8	155522-12-6	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)22-24-37-61		
607-447-00-6	4-[4-(4-hydroxyphénylazo)phénylamino]-3-nitrobenzènesulfonate de sodium		416-370-5	156738-27-1	R 43 R 52-53	Xi R: 43-52/53 S: (2-)22-24-37-61		
607-448-00-1	acide 2,3,5,6-tétrafluorobenzoïque		416-800-1	652-18-6	Xi; R38-41	Xi R: 38-41 S: (2-)22-26-37/39		
607-449-00-7	Mélange de : tri[bis(2-méthylpropyl)naftalènesulfonate] de 4',4''-(2,4,6-trioxo-1,3,5(2H,4H,6H)-triazine-1,3,5-triyl)tris[méthylène(3,5,5-triméthyl-3,1-cyclohexanedyl)iminocarbonyloxy-2,1-éthanedyl(éthyl)amino]trisbenzénediazonium tétra[bis(2-méthylpropyl)naftalènesulfonate] de 4',4''-(1,5,5'-carbonylbis[imino(1,5,5-triméthyl-3,1-cyclohexanedyl)méthylène]-2,4,6-trioxo-1,3,5(2H,4H,6H)triazine-1,1',3,3'-tétrayl)tétrakis[méthylène(3,5,5,5-triméthyl-3,1-cyclohexanedyl)iminocarbonyloxy-2,1-éthanedyl(éthyl)amino]tétrakisbenzénediazonium		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	(Z)-2-((1-(2-amino-4-thiazolyl)-2-(2-benzothiazolylthio)-2-oxoéthylidène)amino)oxy-2-méthylpropanoate de tert-butyle		419-040-9	89604-92-2	R 53	R: 53 S: 61		
607-451-00-8	acide 4-[4-amino-5-hydroxy-3-(4-(2-sulfoxyéthylsulfonyl)phénylazo)-2,7-disulfonaphth-6-ylazo]-6-[3-(4-amino-5-hydroxy-3-(4-(2-sulfoxyéthylsulfonyl)phénylazo)-2,7-disulfonaphth-6-ylazo)]-6-phénylazo]-2,7-disulfonaphth-6-ylazo]-6-[3-(4-amino-5-hydroxy-3-(4-(2-sulfoxyéthylsulfonyl)phénylazo)-2,7-disulfonaphth-6-ylazo)]-6-phénylazo]-2,7-disulfonaphth-6-ylazo]		417-640-5	161935-19-9	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/59		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-453-00-9	ylazo phényl carbonyl amino benzènesulfonique, sel de x-sodium		418-100-1	172964-15-7	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
607-454-00-4	2,2'-diméthyl octanoate de ((phényl méthyl)imino)bis(3,1-(2-hydroxypropanediyle))		418-170-3	-	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)25-26-39-61		
607-455-00-X	acide 1-amino-4-(3-[4-chloro-6-(2,5-di-sulfophényl)amino]-1,3,5-triazin-2-ylamino)-2,2-diméthylpropylamino anthraquinone-2-sulfonique, sel de sodium/lithium		419-520-8	172890-93-6	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-456-00-5	ester hexadécylique de l'acide 3-amino-4-chlorobenz oïque		419-700-6	143269-74-3	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-457-00-0	dihydrogène - 1,1"-di hydroxy-8,8"- p-phényl bis(imino)[6-[4-(2-aminoéthyl)pipérazin-1-yl]-1,3,5-triazine-4,2-diyldimino]]bis(2,2'-azonaphthalène-1',3,6-trisulfonate) de sodium		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	Mélange de : propénoate de 2-[2,6-dibromo-4-[1-[3,5-dibromo-4-(2-hydroxyéthoxy)phényl]-1-méthyléthyl]phénoxy]éthyle dipropénoate de 2,2'-diéthyl-[4,4'-bis(2,6-dibromophénoxy)-1-méthyléthyl]idène 2,2'-[1-(méthyléthylidène)bis[2,6-dibromo-4,1-phenylene]oxy]éthanol		420-850-1	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-459-00-1	4-[2-[5-cyano-1,2,3,6-tétrahydro-1-(2-isopropoxyéthoxy)carbonyl méthyl]-4-méthyl-2,6-dioxo-3-pyridylidène hydrazino]benzoate d'isopentyle		418-930-4	-	R 53	R: 53 S: 61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-460-00-7	9-octadécénoate de 3-tridécyloxypropylammonium		418-990-1	-	Xn; R48/22 Xi; R36/38 N; R50-53	Xn; N R: 36/38-48/22-50/53 S: (2-)23-26-37/39-60-61		
607-461-00-2	Mélange de : 2-[4-[3-méthyl-4-[6-sulfonato-4-(2-sulfonatophénylazoo)naphthalén-1-ylazo]phénylamino]-6-[3-(2-sulfatoéthanesulfonyl)phénylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino]benzène-1,4-disulfonate de pentasodium 2-[4-[3-méthyl-4-[7-sulfonato-4-(2-sulfonatophénylazoo)naphthalén-1-ylazo]phénylamino]-6-[3-(2-sulfatoéthanesulfonyl)phénylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino]benzène-1,4-disulfonate de pentasodium		421-160-1	-	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-462-00-8	Mélange de : acétate d'1-hexyle acétate de 2-méthyl-1-pentyle acétate de 3-méthyl-1-pentyle acétate de 4-méthyl-1-pentyle autres mélanges d'acétates d'alkyles en C6 linéaires et ramifiés		421-230-1	88230-35-7	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-463-00-3	acide 3-(phénothiazin-10-yl)propionique		421-260-5	362-03-8	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24/25-61		
607-464-00-9	Mélange de : acide 7-chloro-1-éthyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-quinoléine-3-carboxylique acide 5-chloro-1-éthyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-quinoléine-3-carboxylique		421-280-4	68077-26-9	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-465-00-4	7-[4-[4-(2-cyanoamino-4-hydroxy-6-oxypyrimidin-5-ylazo)benzamido]-2-éthoxyphénylazo]naphthalène-1,3-disulfonate de tris(2-hydroxyéthyl) ammonium		421-440-3	-	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
607-466-00-X	Mélange de : 1-(1-[2-chloro-5-(hexadécyloxy-carbonyl)phényl-carbamoyl]-3,3-diméthyl-2-oxobutyl)-1H-2,3,3a,7a-		421-480-1	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 37/39-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-467-00-5	tétrahydrobenzotriazol-5-carboxylate de phényle 2-(1-(2-chloro-5-(hexadécyloxy-carbonyl)phényl-carbamoyl)-3,3-diméthyl-2-oxobutyl)-1H-2,3,3a,7a-tétrahydrobenzotriazol-5-carboxylate de phényle 3-(1-(2-chloro-5-(hexadécyloxy-carbonyl)phényl-carbamoyl)-3,3-diméthyl-2-oxobutyl)-1H-2,3,3a,7a-tétrahydrobenzotriazol-5-carboxylate de phényle		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	Mélange de : 4-(4-(5-sulfonato-2-méthoxyphénylamino)-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-2-((1,4-diméthyl-6-oxido-2-oxo-5-sulfonatométhyl-1,2-dihydropyridin-3-yl)azo)benzènesulfonate de monosodium 4-((4-(5-sulfonato-2-méthoxyphénylamino)-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-2-((1,4-diméthyl-6-oxido-2-oxo-5-sulfonatométhyl-1,2-dihydropyridin-3-yl)azo)benzènesulfonate de disodium 4-((4-(5-sulfonato-2-méthoxyphénylamino)-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-2-((1,4-diméthyl-6-oxido-2-oxo-5-sulfonatométhyl-1,2-dihydropyridin-3-yl)azo)benzènesulfonate de trisodium 4-((4-(5-sulfonato-2-méthoxyphénylamino)-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-2-((1,4-diméthyl-6-oxido-2-oxo-5-sulfonatométhyl-1,2-dihydropyridin-3-yl)azo)benzènesulfonate de tétrasodium		419-450-8	-	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-469-00-6	7-((4,6-bis(3-		419-460-2	120029-06-3	R52-53			

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-470-00-1	diéthylaminopropylamino)-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-4-hydroxy-3-(4-(4-sulfonatophénylazo)phénylazo)-2-naphtalènesulfonate de disodium		414-100-0	-	Xi; R41 R52-53	R: 52/53 S: 61 Xi R: 41-52/53 S: (2-)39-22-26-61		
607-472-00-2	6,1,3-dichloro-3,10-bis[2-[4-[3-(2-hydroxysulfonyloxyéthanesulfon yl)phénylamino]-6-(2,5-disulfonatophénylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino]éthylamino]benzo[5,6]1,4loxazino[2,3-b]phénoxazine-4,11 disulfonate de potassium et de sodium		400-660-3	111687-36-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-474-00-3	acide 4-(4-(4-diméthylaminobenzylidén-1-yl)-3-méthyl-5-oxo-2-pyrazolin-1-yl)benzoïque		410-430-4	117573-89-4	R53	R: 53 S: 61		
607-475-00-9	Mélange (50/50) de: 7-(4-[4-chloro-6-[méthyl-(3-sulfonatophénylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino]-2-uréidophénylazo]naphtalène-1,3,6-trisulfonate de tétrasodium 7-(4-[4-chloro-6-[méthyl-(4-sulfonatophénylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino]-2-uréidophényl-azo]naphtalène-1,3,6-trisulfonate de tétrasodium		412-940-2	148878-18-6	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
607-476-00-4	N,N-bis(carboxyméthyl)-β-alanine de trisodium		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	hydrogénophthalate de tétraméthylammonium		416-900-5	79723-02-7	T; R25 Xn; R48/22 N; R50	T; N R: 25-48/22-50 S: (1/2-)25-36-45-61		
607-479-00-0	4-chloro-3-[2-(5,5-diméthyl-2,4-dioxo-1,3-oxazolidin-3-yl)-4-		418-550-9	168689-49-4	R53	R: 53		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-480-00-6	diméthyl-3-oxopentamido benzoate d'hexadécyle		271-084-6	68515-42-4	Repr. Cat. 2; R61 Repr. Cat. 3; R62	T R: 61-62 S: 53-45		
607-487-00-4	Mélange de: 4-(3-éthoxycarbonyl-4-(5-(3-éthoxycarbonyl-5-hydroxy-1-(4-sulfonatophényl)pyrazol-4-yl)pent-2,4-diénylidène)-4,5-dihydro-5-oxopyrazol-1-yl)benzènesulfonate de disodium 4-(3-éthoxycarbonyl-4-(5-(3-éthoxycarbonyl-5-oxido-1-(4-sulfonatophényl)pyrazol-4-yl)pent-2,4-diénylidène)-4,5-dihydro-5-oxopyrazol-1-yl)benzènesulfonate de trisodium		402-660-9	-	Repr. Cat. 2; R61 R52-53	T R: 61-52/53 S: 53-45-61		
607-488-00-X	(2-acétylamino-5-fluoro-4-isothiocyanatophénoxy)acétate d'éthyle		414-210-9	147379-38-2	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-489-00-5	Mélange de: linoléate, linoléate et oléate de 2-éthylhexyle époxyoléate de 2-éthylhexyle diépoxy linoléate de 2-éthylhexyle triépoxy linoléate de 2-éthylhexyle		414-890-7	71302-79-9	R43	Xi R: 43 S: (2-)24-37		
607-490-00-0	N-(2-hydroxy-3-(C12-16-alkyloxy)propyl)-N-méthylglycine		415-060-7	-	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-492-00-1	propanoate de 2-(1-(3',3'-diméthyl-1'-cyclohexyl)déthoxy)-2-méthylpropyle		415-490-5	141773-73-1	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
607-493-00-7	(3aR,4R,7aR)-2-méthyl-4-(1S,2R,3'-triacétoxypropyl)-3a,7a-dihydro-4H-pyranol[3,4-d]oxazole-6-carboxylate de méthyle		415-670-3	78850-37-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
607-494-00-2	octylphosphonate de bis-(2-éthylhexyle)		417-170-0	52894-02-7	N; R50-53	N R: 50/53		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-495-00-8	4-sulfophényl-6-(1-oxononyl)amino)hexanoate de sodium		417-550-6	168151-92-6	R43	S: 60-61 Xi R: 43 S: (2-)24-37		
607-496-00-3	phosphite de 2,2-méthylène bis(4,6-di-tert-butylphényle) et de 2-éthylhexyle		418-310-3	126050-54-2	R53	R: 53 S: 61		
607-497-00-9	isostéarate d'oxyde de cérium		419-760-3	-	R53	R: 53 S: 61		
607-498-00-4	hexadécanoate de (E)-3,7-diméthyl-2,6-octadiényle		421-370-3	3681-73-0	Xi; R38 R53	Xi R: 38-53 S: (2-)37-61		
607-499-00-X	1,2-éthanediylbis(2-hexadécénylsuccinate) de bis(diméthyl(2-hydroxyéthyl)ammonium)		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	2,2-bis[(5-tétrapropylène-2-hydroxy)phényl]éthaneate de calcium		421-670-4	-	Xi; R38 N; R50-53	Xi; N R: 38-50/53 S: (2-)37-60-61		
607-501-00-9	Mélange de : triphénylthiophosphate et de dérivés de phényles tertiaires butylés		421-820-9	-	R53	R: 53 S: 61		
607-502-00-4	4-dodécylbenzènesulfonate de (N-benzyl-N,N-tributyl)ammonium		422-200-0	-	C; R34 Xi; R22 N; R51-53	C; N R: 22-34-51/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-61		
607-503-00-X	2,4,6-tri-n-propyl-2,4,6-trioxo-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphorinane		422-210-5	68957-94-8	C; R34	R: 34 S: (1/2-)26-36/37/39-45		
607-505-00-0	7-(4-(4-(5-amino-4-sulfonato-2-(4-(2-(sulfonatoéthoxy)sulfonyl)phényl)azo)phénylamino)-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino-2-uréidophénylazo)naphthalène-1,3,6-trisulfonate de pentasodium		422-930-1	171599-84-1	R52-53	R: 52/53 S: 22-61		
607-506-00-6	Mélange de: (4-chloro-2-(4,5-dihydro-3-méthyl-5-oxo-1-(3-sulfonatophényl)-1H-pyrazol-4-yl)azo)-5-		422-970-8	136248-04-9	N; R51-53	N R: 51/53 S: 22-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-507-00-1	méthylbenzènesulfonate de strontium (4-chloro-2-((4,5-dihydro-3-méthyl-5-oxo-1-(3-sulfonatophényl)-1H-pyrazol-4-yl)azo)-5-méthylbenzènesulfonate de disodium		422-980-2	187026-95-5	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
607-508-00-7	3,3'-iminobis(sulfonyl-4,1-phénylène-(5-hydroxy-3-méthylpyrazole-1,4-diy)azo-4,1-phénylènesulfonylimino-(4-amino-6-hydroxypyrimidine-2,5-diy)azo-4,1-phénylènesulfonylimino(4-amino-6-hydroxypyrimidine-2,5-diy)azo]bis(benzènesulfonate)] de disodium		423-110-4	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
607-512-00-9	2,4-diamino-3,5-bis-[4-(2-sulfonatoéthoxy)sulfonyl]phénylazo]benzènesulfonate de trisodium		423-970-0	182926-43-8	R52-53	R: 52/53 S: 22-61		
607-513-00-4	Mélange de : 4-benzoylamino-6-(6-éthènesulfonyl-1-sulfatonaftalène-2-ylazo)-5-hydroxynaphtalène-2,7-disulfonate de trisodium sel de sodium de l'acide 5-(benzoylamino)-4-hydroxy-3-((1-sulfo-6-(2-(sulfooxyéthyl)sulfonyl)-2-naphthyl)azo)naphthalène-2,7-disulfonique acide 5-(benzoylamino)-4-hydroxy-3-((1-sulfo-6-(2-(sulfooxyéthyl)sulfonyl)-2-naphthyl)azo)naphthalène-2,7-disulfonique		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	Mélange de : disulfonate		429-650-7	147732-60-3	Xi; R36	Xi; N		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
607-516-00-0	disodique d'éther d'hexyldiphényle disulfonate disodique d'éther de dihexyldiphényle				N; R51-53	R: 36-51/53 S: (2-)26-61		
607-517-00-6	N,N'-bis(trifluoroacétyl)-S,S'-bis-L-homocystéine		429-670-6	105996-54-1	Xi; R41 R43	Xi R: 41-43 S: (2-)24-26-37/39		
607-526-00-5	cartap 1,3-bis(carbamoylthio)-2-(diméthylamino)propane		-	15263-53-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
607-527-00-0	Mélange de : 1-(1'H,1'H,2'H,2'H-tridécafluoroocetyl) 12-tridécafluoroocetyl) 12-tridécafluoroocetyl)dodécane dioate 1-(1'H,1'H,2'H,2'H-tridécafluoroocetyl) 12-tridécafluoroocetyl) 12-(1''H,1''H,2''H,2''H-heptadécafluoroocetyl)dodécane dioate 1-(1'H,1'H,2'H,2'H-tridécafluoroocetyl) 12-tridécafluoroocetyl) 12-(1''H,1''H,2''H,2''H-heptadécafluoroocetyl)dodécane dioate 1-(1'H,1'H,2'H,2'H-tridécafluoroocetyl) 12-tridécafluoroocetyl) 12-(1''H,1''H,2''H,2''H-pentacosafuoroocetyl)dodécane dioate 1-(1'H,1'H,2'H,2'H-tridécafluoroocetyl) 12-tridécafluoroocetyl) 12-(1''H,1''H,2''H,2''H-heptadécafluoroocetyl)dodécane dioate 1-(1'H,1'H,2'H,2'H-tridécafluoroocetyl) 12-tridécafluoroocetyl) 12-(1''H,1''H,2''H,2''H-heptadécafluoroocetyl)dodécane dioate		423-180-6	-	Xn; R48/22	Xn R: 48/22 S: (2-)36		
608-031-00-7	2-benzyl-2-méthyl-3-buténitrile		407-870-4	97384-48-0	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
608-033-00-8	N-butyl-3-(2-chloro-4-nitrophénylhydrazono)-1-cyano-2-méthylprop-1-ène-1,3-dicarboximide		407-970-8	75511-91-0	R 43 R 52-53	S: (2-)61 Xi R: 43-52/53 S: (2-)24-37-61		
608-034-00-3	chlorfenapyr 4-bromo-2-(4-chlorophényl)-1-éthoxyméthyl-5-trifluorométhylpyrrole-3-carbonitrile		-	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-acétyl-5-méthylphénylamino)-2,6-dichlorobenzèneacétonitrile		419-290-9	-	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
608-036-00-4	3-(2-(4-(2-(4-cyanophényl)viny phényl viny)benzonitrile		419-060-8	79026-02-1	R 53	R: 53 S: 61		
608-037-00-X	Mélange de: (E)-2,12-tridécadiénitrile (E)-3,12-tridécadiénitrile (Z)-3,12-tridécadiénitrile		422-190-8	124071-40-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
608-038-00-5	2,2,4-triméthyl-4-phénylbutanenitrile		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-phénylhexanenitrile		423-460-8	3508-98-3	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)23-60-61		
608-040-00-6	4,4'-dithiobis(5-amino-1-(2,6-dichloro-4-(trifluorométhyl)phényl)-1H-pyrazole-3-carbonitrile)		423-490-1	130755-46-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
608-041-00-1	4'-(2-butyl-4-oxo-1,3-diazaspiro[4.4]non-1-én-3-yl)méthyl(1,1'-biphényl)-2-carbonitrile		423-500-4	138401-24-8	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
608-043-00-2	3-(cis-3-hexényloxy)propanenitrile		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	mesotrione 2-[4-(méthylsulfonyl)-2-nitrobenzoyl]-1,3-cyclohexanedione		-	104206-82-8	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
609-066-00-0	3-amino-10-[4-(10-amino-6,13-dichloro-4,11-disulfonatobenzol[5,6][1,4]oxazin-2,3-biphénoxazin-3-ylamino)-6-méthyl-(2-sulfonatoéthyl)amino]-1,3,5-triazin-2-ylamino)-6,13-dichlorobenzol[5,6][1,4]oxazinol[2,3-biphénoxazine-4,11-disulfonate de lithium et de sodium		418-870-9	154212-58-5	Xn; R20/21/22-68/20/21/22 N; R50-53	Xn R: 20/21/22-68/20/21/22 S: (2-)36/37		
609-067-00-6	sels de sodium et potassium de 4-(3-aminopropylamino)-2,6-bis[3-(4-méthoxy-2-sulfophénylazo)-4-hydroxy-2-sulfo-7-naphtylamino]-1,3,5-triazine		416-280-6	156769-97-0	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
609-068-00-1	Musc- xylène 5- <i>tert</i> -butyl-2,4,6-trinitro- <i>m</i> -xylène		201-329-4	81-15-2	Carc. Cat. 3; R40 E; R2 N; R50-53	E; Xn; N R: 2-40-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		
609-070-00-2	1,4-dichloro-2-(1,1,2,3,3,3-hexafluoropropoxy)-5-nitrobenzène		415-580-4	130841-23-5	Xn; R22 R 43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)36/37/39-60-61		
609-071-00-8	Mélange de : 2-méthylsulfanyl-4,6-bis-(2-hydroxy-4-méthoxyphényl)-1,3,5-triazine 2-(4,6-bis-méthylsulfanyl-1,3,5-triazin-2-yl)-5-méthoxyphénol		423-520-3	156137-33-6	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-099-00-0	dichlorhydrate de dichlorure de (méthylènebis(4,1-phénylèneazo(1-(3-(diméthylamino)propyl)-1,2-dihydro-6-hydroxy-4-méthyl-2-oxopyridine-5,3-diy)))-1,1-dipyridinium		401-500-5	-	Carc.Cat.2; R45 N; R51-53	T; N R: 45-51/53 S: 53-45-61		
611-100-00-4	3,3'-(3(ou4)-méthyl-1,2-phénylènebis(timino(6-chloro)-1,3,5-triazine-4,2-diy)limino(2-acétamido-5-méthoxy)-4,1-phénylèneazo)dinaphtalène-1,5-disulfonate de potassium et de sodium		403-810-6	140876-13-7	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
611-101-00-X	2-(4-chloro-3-cyano-5-formyl-2-thiénylazo)-5-diéthylaminocétanilide		405-200-5	104366-25-8	R43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-103-00-0	(1-(3-carboxylato-2-oxido-5-sulfonatophénylazo)-5-hydroxy-7-sulfonatophthalén-2-amido)nickel(II) de trisodium		407-110-1	-	Xi; R41 R 43 N; R51-53	Xi; N R: 41-43-51/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
611-104-00-6	Mélange de: (2,4(ou 2,6 ou 4,6)-bis(3,5-dinitro-2-oxodiphénylazo)-5-hydroxyphénolato)(2(ou 4 ou 6)-(3,5-dinitro-2-oxodiphénylazo)-5-hydroxy-4(ou 2 ou 6)-(4-(4-nitro-2-sulfonatoamino)phénylazo)phénolato)ferrate(1-) de trisodium bis(2,4(ou 2,6 ou 4,6) bis(3,5-dinitro-2-oxodiphénylazo)-5-hydroxyphénolato)ferrate(1-) de trisodium (2,4(ou 2,6 ou 4,6) bis(3,5-dinitro-2-oxodiphénylazo)-5-hydroxyphénolato)(2(ou 4 ou 6)-(3,5-dinitro-2-oxodiphénylazo)-5-hydroxy-4(ou 2 ou 6)-(4-nitro-2-sulfonatophénylazo)phénolato)ferrate(1-) de trisodium (2,4(ou 2,6 ou 4,6) bis(3,5-dinitro-2-oxodiphénylazo)-5-hydroxyphénolato)(2(ou 4 ou 6)-(3,5-dinitro-2-oxodiphénylazo)-5-hydroxy-4(ou 2 ou 6)-(3-sulfonatophénylazo)phénolato)ferrate(1-) de trisodium 3,3'-(2,4-dihydroxy-1,3(ou 1,5 ou 3,5)phénylènediazo)dibenzènesulfonate de disodium		406-870-1	-	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		
611-105-00-1	4-(4-chloro-6-(N-éthylamino)-1,3,5-triazine-2-ylamino)-2-(1-(2-chlorophényl)-5-hydroxy-3-méthyl-1H-pyrazole-4-ylazo)benzènesulfonate de sodium		407-800-2	136213-75-7	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)22-24-37-61		
611-106-00-7	4,4'-dihydroxy-3,3'-bis[2-		410-180-6	-	Xi; R41	Xi		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
611-107-00-2	sulfonato-4-(4-sulfonatophénylazo)phénylazo]-7,7-[p-phénylènebis(imino(6-chloro-1,3,5-triazine-4,2-diy)imino)]dinaphthalène-2-sulfonate d'hexasodium		412-490-7	-	R 43	R: 41 S: (2-)26-39		
611-108-00-8	4-(4-chloro-6-(3,6-disulfonato-7-(5,8-disulfonato-naphthalén-2-ylazo)-8-hydroxy-naphthalén-1-ylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino)-5-hydroxy-6-(4-(2-sulfatoéthanesulfonyl)phénylazo)-naphthalène-1,7-disulfonate de potassium et de sodium		413-600-6	6527-62-4	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
611-109-00-3	Produits de réaction de: sulfate de cuivre(II) et 2,4-bis[6-(2-méthoxy-5-sulfonatophénylazo)-5-hydroxy-7-sulfonato-2-naphtylamino]-6-(2-hydroxyéthylamino)-1,3,5-triazine de tétrasodium (2:1)		407-710-3	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
611-110-00-9	4,4'-bis-(8-amino-3,6-disulfonato-1-naphтол-2-ylazo)-3-méthylazobenzène de tétrasodium/lithium		408-210-8	124605-82-9	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-28-37-61		
611-111-00-4	2-[4-(2-chloroéthylsulfonyl)phényl]-(2-hydroxy-5-sulfo-3-[3-[2-(2-(sulfooxyéthylsulfonyl)éthylazo]-4-sulfobenzato(3-)-cuprate(1-)] de disodium		414-230-8	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-112-00-X	4-hydroxy-5-[4-[3-(2-sulfatoéthanesulfonyl)phénylamino]-6-morpholin-4-yl]-1,3,5-triazin-2-ylamino]-3-(1-sulfatonaphthalén-2-ylazo)naphthalène-2,7-disulfonate de tétrasodium		413-070-6	-	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
611-113-00-5	(2-((5-(2,5-dichlorophényl)azo)-2-hydroxyphényl)méthylène)amino)benzoato(2-))((4,5-dihydro-3-méthyl-5-oxo-1-phényl-1H-pyrazol-4-yl)azo)-5-sulfobenzoato(3-))chromate(2-) de lithium et de sodium		414-280-0	149626-00-6	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24/25-61		
611-114-00-0	(4-((5-chloro-2-hydroxyphényl)azo)-2,4-dihydro-5-méthyl-3H-pyrazol-3-onato(2-))((3-((4,5-dihydro-3-méthyl-1-(4-méthylphényl)-5-oxo-1H-pyrazol-4-yl)azo)-4-hydroxy-5-nitrobenzènesulfonato(3-))chromate(2-) de lithium et de sodium		414-250-7	149564-66-9	Xn; R22 Xi; R41 R 52-53	Xn R: 22-41-52/53 S: (2-)22-26-39-61		
611-115-00-6	bis(4-(4-(diéthylamino)-2-hydroxyphényl)azo)-3-hydroxy-1-naphthalènesulfonato(3-))chromate(3-) de trilitium		414-290-5	149564-65-8	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		
611-116-00-1	Mélange de : 5-[4-chloro-6-[2-(2,6-dichloro-5-cyanopyrimidin-4-ylamino)propylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino]-4-hydroxy-3-(1-sulfonatonaftalén-2-ylazo)naphthalène-2,7-disulfonate de trisodium 5-[4-chloro-6-[2-(2,6-dichloro-5-cyanopyrimidin-4-ylamino)-1-méthyléthylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino]-4-hydroxy-3-(1-sulfonatonaftalén-2-ylazo)naphthalène-2,7-disulfonate de trisodium 5-[4-chloro-6-[2-(4,6-dichloro-5-cyanopyrimidin-2-ylamino)propylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino]-4-hydroxy-3-(1-sulfonatonaftalén-2-ylazo)naphthalène-2,7-disulfonate de trisodium 5-[4-chloro-6-[2-(4,6-dichloro-5-cyanopyrimidin-2-ylamino)-1-méthyléthylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino]-4-hydroxy-3-(1-sulfonatonaftalén-2-ylazo)-		414-620-8	-	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
611-117-00-7	naphthalène-2,7-disulfonate de trisodium		415-100-3	149850-29-3	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-118-00-2	sel de sodium et de lithium du 1,3-bis-[6-fluoro-4-[1,5-disulfo-4-(3-aminocarbonyl-1-éthyl)-6-hydroxy-4-méthyl-pyrid-2-one-5-ylazo]phényl]-2-ylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino]propane		413-990-8	149850-31-7	R 43	Xi R: 43 S: (2-)22-24-37		
611-119-00-8	4-[4-chloro-6-(4-méthyl-2-sulfo-phénylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino]-6-(4,5-diméthyl-2-sulfo-phénylazo)-5-hydroxynaphthalène-2,7-disulfonate de tétrasodium		415-400-4	148878-22-2	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-120-00-3	sel de sodium de l'acide 5-[4-[5-amino-2-[4-(2-(sulfoxyéthyl)sulfonyl]phénylaz-ol-4-sulfo-phénylamino]-6-chloro-1,3,5-triazin-2-ylamino]-4-hydroxy-3-(1-sulfonaphthalén-2-ylazo)naphthalène-2,7-disulfonique		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	Composant principal 6 (isomère): complexe asym. 1:2 Cr(III) de : A : 3-hydroxy-4-(2-hydroxynaphthalén-1-ylazo)naphthalène-1-sulfonate de sodium et B : 1-[2-hydroxy-5-(4-méthoxyphénylazo)phénylazo]naphthalén-2-ol		417-280-9	30785-74-1	Xi; R41 N; R50-53	Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
611-122-00-4	Composant principal 8 (isomère): complexe asym. 1:2 Cr. de : A: 3-hydroxy-4-(2-hydroxynaphthalén-1-ylazo) naphthalène-1-sulfonate de sodium et B : 1-[2-hydroxy-5-(4-méthoxyphénylazo)phénylazo] naphthalène-2-ol		417-250-5	151436-99-6	Xi; R41	Xi		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
611-123-00-X	méthyl-1-phénylpyrazol-4-yl-azo)-2,4-disulfo-anilino]-6-chloro-1,3,5-triazin-2-ylamino]phénylsulfamoyl[(di-sulfo)phthalocyaninato)nickel d'hexasodium				R 43	R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-124-00-X	3-(2,4-bis(4-(5-(4,6-bis(2-aminopropylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino)-4-hydroxy-2,7-disulfonaphthalén-3-yl)azo)phénylamino)-1,3,5-triazin-6-ylamino)propyl-diéthyl-lactate d'ammonium		424-310-4	178452-66-9	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
611-124-00-5	Mélange de : 5-amino-3-(5-(4-chloro-6-[4-(2-sulfoxyéthoxysulfonato)phénylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino)-2-sulfonato)phénylazo)-6-[5-(2,3-dibromopropionylamino)-2-sulfonato)phénylazo]-4-hydroxynaphthalène-2,7-disulfonate de pentasodium 5-amino-6-[5-(2-bromoacryloylamino)-2-sulfonato)phénylazo]-3-(5-(4-chloro-6-[4-(2-sulfoxyéthoxysulfonato)phénylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino)-2-sulfonato)phénylazo)-4-hydroxynaphthalène-2,7-disulfonate de pentasodium (vinylsulfonyl)phénylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino)-2-sulfonato)phénylazo]-6-[5-(2,3-dibromopropionylamino)-2-sulfonato)phénylazo]-4-hydroxynaphthalène-2,7-disulfonate de tétrasodium		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	Mélange de : sel disodique du complexe 6-[3-carboxy-4,5-dihydro-5-oxo-4-sulfonato)phényl]pyrazolin-4-ylazo]-3,2-oxido-4-(éthènesulfonyl)-5-méthoxyphénylazo]-4-		423-940-7	-	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
	oxydonaphthalène-2-sulfonate de cuivre (II) sel disodique du complexe 6-[3-carboxy-4,5-dihydro-5-oxo-4-sulfatophényl]pyrazolin-4-ylazo]-3-[2-oxido-4-(2-hydroxyéthylsulfonyl)-5-méthoxyphénylazo]-4-oxydonaftalène-2-sulfonate de cuivre(II)		424-120-1	174514-06-8	Xi; R41 N; R50-53	Xi; N R: 41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
611-126-00-6	dichlorure de 2,6-bis-(2-(4-(4-amino-phénylamino)phénylazo)-1,3-diméthyl-3H-imidazolium)-4-diméthylamino-1,3,5-triazine		423-790-2	-	R 5 Xi; R41 R 43 R 52-53	Xi R: 5-41-43-52/53 S: (2-)22-26-36/37/39-41-61		
611-127-00-1	4-amino-6-(5-(4-(2-éthylphénylamino)-6-(2-sulfatoéthanesulfonyl)-1,3,5-triazin-2-ylamino)-2-sulfatophénylazo)-5-hydroxy-3-(4-(2-sulfatoéthanesulfonyl)phénylazo)naphthalène-2,7-disulfonate de pentasodium		419-500-9	171599-85-2	Xi; R41 R 43	Xi R: 41-43 S: (2-)22-24-26-37/39		
611-128-00-7	sel de sodium de l'acide N,N'-bis[6-chloro-4-[6-(4-vinylsulfonylphénylazo)-2,7-disulfonique-5-hydroxy-naph-4-ylamino]-1,3,5-triazin-2-yl]-N-(2-hydroxyéthyl)éthane-1,2-diamine		418-230-9	163879-69-4	E; R2 Repr.Cat.3; R62 Xn; R48/22 R 43 N; R51-53	E; Xn; N R: 2-43-48/22-62-51/53 S: (2-)26-35-36/37-61		
611-129-00-2	Mélange de: acide 5-[(4-[(7-amino-1-hydroxy-3-sulfo-2-naphyl)azo]-2,5-diéthoxyphényl)azo]-2-[(3-phosphonophényl)azo]benzoïque acide 5-[(4-[(7-amino-1-hydroxy-3-sulfo-2-naphyl)azo]-2,5-diéthoxyphényl)azo]-3-[(3-phosphonophényl)azo]benzoïque		418-520-5	183130-96-3	Xi; R36 N; R50-53	Xi; N R: 36-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
611-130-00-8	2-[6-[7-(2-carboxylatophénylazo)-8-hydroxy-3,6-di-sulfonato-1-naphtylamino]-4-hydroxy-1,3,5-triazin-2-ylamino]benzoate de							

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
	tétrammonium							
611-131-00-3	2-[2-hydroxy-3-(2-chlorophényl)carbamoyl-1-naphtylazo]-7-[2-hydroxy-3-(3-méthylphényl)carbamoyl-1-naphtylazo]fluorén-9-one		420-580-2	-	Repr. Cat.2; R61 R 53	T R: 61-53 S: 53-45-61		
611-132-00-9	bis[7-[4-(1-butyl-5-cyano-1,2-dihydro-2-hydroxy-4-méthyl-6-oxo-3-pyridylazo)phénylsulfonylamino]disulfonatonaphthalén-2-azobenzène-1,2'-diolato]chromate (III) de pentasodium		419-210-2	-	Xi; R41 R 52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		
611-133-00-4	Complexe de fer produit lors de la fabrication de colorants azo obtenus en couplant un mélange de 2-amino-1-hydroxybenzène-4-sulfamide diazoté et 2-amino-1-hydroxybenzène-4-sulfonamide avec du résorcinol, le mélange obtenu étant ensuite soumis à une deuxième réaction de couplage avec un mélange d'acide 3-aminobenzène-1-sulfonique(acide méthanique)diazoté et d'acide 4-amino-4-nitro-1,1'-diphénylamine-2-sulfonique et métallisation avec du chlorure ferrique, sel sodique		419-260-5	-	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)26-39-61		
611-134-00-X	2-[α[2-hydroxy-3-[4-chloro-6-[4-(2,3-dibromopropionylamino)-2-sulfonatophénylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino]-5-sulfonatophénylazo]-benzylidène]hydrazino-4-sulfonatobenzate de trisodium, complexe de cuivre		423-770-3	-	Xi; R41 N; R51-53	Xi; N R: 41-51/53 S: (2-)22-26-39-61		
611-135-00-5	Produits de réaction de : acide 2-[[4-amino-2-urédophénylazo]-5-[(2-(sulfoxyéthyl)sulfonyl]benzène-sulfonique avec 2,4,6-trifluoropyrimidine, suivi d'une		424-250-9	-	Xi; R41 R52-53	Xi R: 41-52/53 S: (2-)26-39-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
611-136-00-0	hydrolyse partielle et obtention de sels doubles de potassium/sodium formiate de 2-(4-(2-ammoniopropylamino)-6-[4-hydroxy-3-(5-méthyl-2-méthoxy-4-sulfamoylphénylazo)-2-sulfonatonaphte-7-ylamino]-1,3,5-triazin-2-ylamino]-2-aminopropyle		424-260-3	-	Repr. Cat. 3; R62 Xi; R41 N; R51-53	Xn; N R: 41-62-51/53 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
611-137-00-6	6-tert-butyl-7-chloro-3-tridécyl-7,7a-dihydro-1H-pyrazolo[5,1-c]-1,2,4-triazole		419-870-1	159038-16-1	R 53	R: 53 S: 61		
611-138-00-1	2-(4-aminophényl)-6-tert-butyl-1H-pyrazolo[1,5-b][1,2,4]triazole		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	azafénidin		-	68049-83-2	T; R48/22 Repr. Cat. 2; R61 Repr. Cat. 3; R62 N; R50-53	T; N R: 61-48/22-62-50/53 S: 53-45-60-61	C ≥ 0,025 %; N; R50/53 0,0025 % ≤ C < 0,025 %; N; R51/53 0,00025 % ≤ C < 0,0025 %; R52/53	
612-184-00-5	6'-(di-butylamino)-3'-méthyl-2-(phénylamino)spiro[isobenzofuran-1(3H),9-(9H)-xanthén]-3-one		403-830-5	89331-94-2	R 52-53	R: 52/53 S: 61		
612-185-00-0	iodure de 1-[3-[4-((heptadécafluorononyloxy)benzamidopropyl]-N,N,N-triméthylammonium		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	sulfate de bis(N-(7-hydroxy-8-méthyl-5-phénylphénazin-3-ylidène)diméthylammonium)		406-770-8	149057-64-7	Xn; R48/22 Xi; R41 R 43 N; R50-53	Xn; N R: 41-43-48/22-50/53 S: (2-)22-26-36/37/39-60-61		
612-187-00-1	2,3,4-trifluoroaniline		407-170-9	3862-73-5	Xn; R21/22-48/22 Xi; R38-41 N; R51-53	Xn; N R: 21/22-38-41-48/22-51/53 S: (2-)23-26-36/37/39-61		
612-188-00-7	4,4'-(9H-fluorén-9-ylidène)bis(2-chloroaniline)		407-560-9	107934-68-9	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
612-189-00-2	dichlorhydrate de 4-amino-2-(aminométhyl)phénol		412-510-4	135043-64-0	Xn; R22 R 43 N; R50-53	Xn; N R: 22-43-50/53 S: (2-)22-24-37-60-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
612-190-00-8	4,4'-méthylènebis-(2-isopropyl-6-méthylamine)		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	Polymère d'hydrochlorure d'allylamine		415-050-2	71550-12-4	Xn; R22 R43	Xn R: 22-43 S: (2-)36/37		
612-192-00-9	2-isopropyl-4-(N-méthyl)aminométhylthiazole		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-méthylaminométhylphénylamine		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	chlorure de 2-hydroxy-3-(2-hydroxyéthyl)-[2-(1-oxotétradécyl)amino]éthylamino [N,N,N-triméthyl-1-propanammonium]		414-670-0	141890-30-4	Xn; R22 Xi; R41 N; R50-53	Xn; N R: 22-41-50/53 S: (2-)26-39-60-61		
612-195-00-5	1,5-naphthalèneedisulfonate de bis(tributyl(4-méthylbenzyl)ammonium]		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-chloro- <i>o</i> -toluidine [1] hydrochlorure de 4-chloro- <i>o</i> -toluidine [2]	E	202-441-6 [1] 221-627-8 [2]	95-69-2 [1] 3165-93-3 [2]	Carc. Cat.2; R45 Muta. Cat.3; R68 T; R23/24/25 N; R50-53	T; N R: 45-23/24/25-68-50/53 S: 53-45-60-61		
612-197-00-6	2,4,5-triméthylamine [1] hydrochlorure de 2,4,5-triméthylamine [2]	E	205-282-0 [1] - [2]	137-17-7 [1] 21436-97-5 [2]	Carc. Cat.2; R45 T; R23/24/25 N; R51-53	T; N R: 45-23/24/25-51/53 S: 53-45-61		
612-198-00-1	4,4'-thiodianiline [1] et ses sels	E	205-370-9	139-65-1	Carc. Cat.2; R45 Xn; R22 N; R51-53	T; N R: 45-22-51/53 S: 53-45-61		
612-199-00-7	4,4'-oxydianiline [1] et ses sels p-aminophényl éther	E	202-977-0	101-80-4	Carc. Cat.2; R45 Muta. Cat.2; R46 Repr. Cat.3; R62 T; R23/24/25 N; R51-53	T; N R: 45-46-23/24/25-62-51/53 S: 53-45-61		
612-200-00-0	2,4-diaminoisole 4-méthoxy- <i>m</i> -phénylènediamine [1]		210-406-1 [1] 254-323-9 [2]	615-05-4 [1] 39156-41-7 [2]	Carc. Cat.2; R45 Muta. Cat.3; R68 Xn; R22	T; N R: 45-22-68-51/53 S: 53-45-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
	sulfate de 2,4-diaminoanisole [2]		[2]		N; R51-53			
612-201-00-6	N,N,N',N'-tetraméthyl-4,4'-méthylène diamine		202-959-2	101-61-1	Carc.Cat.2; R45 N; R50-53	T; N R: 45-50/53 S: 53-45-60-61		
612-202-00-1	3,4-dichloroaniline		202-448-4	95-76-1	T; R23/24/25 Xi; R41 R43 N; R50-53	T; N R: 23/24/25-41-43-50/53 S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61		
612-204-00-2	C.I. Violet Base 3 Chlorure de 4-[4,4'-bis(diméthylamino)benzylidène]cyclohexa-2,5-dien-1-ylidène diméthylammonium		208-953-6	548-62-9	Carc.Cat.3; R40 Xn; R22 Xi; R41 N; R50-53	Xn; N R: 22-40-41-50/53 S: (2-)26-36/37/39-46-60-61		
612-205-00-8	C.I. Violet Base 3 avec $\geq 0,1\%$ de cétone de Michler (CE no. 202-027-5)	E	208-953-6	548-62-9	Carc.Cat.2; R45 Xn; R22 Xi; R41 N; R50-53	T; N R: 45-22-41-50/53 S: 53-45-60-61		
612-206-00-3	famoxadone 3-anilino-5-méthyl-5-(4-phénoxyphényl)-1,3-oxazolidine-2,4-dione		-	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-méthoxy- <i>m</i> -toluidine <i>p</i> -crésidine	E	204-419-1	120-71-8	Carc.Cat.2; R45 Xn; R22	T R: 45-22 S: 53-45		
612-210-00-5	5-nitro- <i>o</i> -toluidine [1] hydrochlorure de 5-nitro- <i>o</i> -toluidine [2]		202-765-8 [1] 256-960-8 [2]	99-55-8 [1] 51085-52-0 [2]	Carc.Cat.3; R40 T; R23/24/25 R52-53	T R: 23/24/25-40-52/53 S: (1/2-)36/37-45-61		
612-211-00-0	N-[(benzotriazol-1-yl)méthyl]-4-carboxybenzènesulfonamide		416-470-9	-	Xi; R36 N; R51-53	Xi; N R: 36-51/53 S: (2-)26-61		
612-212-00-6	2,6-dichloro-4-trifluorométhylaniline		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	isobutylidène-(2-(2-isopropyl-4,4-diméthyl-oxazolidin-3-yl)-1,1-diméthyléthyl)amine		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-diphényléthényl)-N,N-diphénylbenzénamine		421-390-2	89114-90-9	R 53	R: 53		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
612-215-00-2	3-chloro-2-(isopropylthio)aniline		421-700-6	179104-32-6	Xi; R38 N; R51-53	S; 61 Xi; N R: 38-51/53 S: (2-)37-61		
612-217-00-3	1-méthoxy-2-propylamine		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-diméthyl-perhydro-pyrimidin-2-one α -(4-trifluorométhylstyryl)- α -(4-trifluorométhyl)cinnamylidènehydrazone		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	chlorure de 1-(1-naphthylméthyl)quinoléinium		406-220-7	65322-65-8	Carc. Cat.3; R40 Muta. Cat.3; R68 Xn; R22 Xi; R38-41 R 52-53	Xn R: 22-38-40-41-52/53-68 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
613-183-00-2	Mélange de: 5-(N-méthyl-perfluorooctylsulfonamido)méthyl-1,3-octadécyl-1,3-oxazolidin-2-one 5-(N-méthylperfluorohéptylsulfonamido)méthyl-1,3-octadécyl-1,3-oxazolidin-2-one		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	2-éthylhexanoate de nitrilotriéthylèneammoniopropan-2-ol		413-670-8	-	Xi; R36 R 43	Xi R: 36-43 S: (2-)24-26-37		
613-185-00-3	2,3,5,6-tétrahydro-2-méthyl-2H-cyclopental[d]-1,2-thiazol-3-one		407-630-9	82633-79-2	T; R25 Xi; R41 R 43 N; R50-53	T; N R: 25-41-43-50/53 S: (1/2-)22-26-36/37/39-45-60-61		
613-186-00-9	acétate de (2R,3R)-3-((R)-1-tert-butyl(diméthylsiloxy)éthyl)-4-oxazétidin-2-yle		408-050-9	76855-69-1	Xi; R36 R 43 N; R51-53	Xi; N R: 36-43-51/53 S: (2-)24-26-37-61		
613-188-00-X	1-(3-(4-fluorophénoxy)propyl)-3-méthoxy-4-pipéridinone		411-500-7	116256-11-2	Xn; R22 Xi; R41 R 43 N; R51-53	Xn; N R: 22-41-43-51/53 S: (2-)22-24-26-37/39-61		
613-189-00-5	1,4,7,10-tétrakis(p-		414-030-0	52667-88-6	R 43	Xi; N		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
613-190-00-0	toluènesulfonyl-1,4,7,10-tétrazacyclododécane		414-040-5	149530-93-8	N; R50-53 Xn; R22 R43	R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61 Xn R: 22-43 S: (2-)22-24-37		
613-191-00-6	1-amino-4-[[2-[(5-chloro-2,6-difluoro-4-pyrimidinyl)amino]méthyl]-4-méthyl-6-sulfonatophényl]amino]-9,10-dihydro-9,10-dioxanthracène-2-sulfonate de disodium		421-150-7	143860-04-2	Repr. Cat.2; R60 C; R34 N; R50-53	T; N R: 60-34-50/53 S: 53-45-60-61		
613-193-00-7	heptalactate de pentakis[3-(diméthylammonio)propylsulfamoyl][(6-hydroxy-4,4,8,8-tétraméthyl-4,8-diazoniaundécane-1,11-diylsulfamoyl)di]phthalocyanine cuivre(II)]		414-930-3	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
613-194-00-2	sel de sodium/lithium de l'acide 6,13-dichloro-3,10-bis-[2-(4-fluoro-6-(2-sulphénylamino)-1,3,5-triazin-2-ylamino)propylamino]benzol[5,6][1,4]oxazino[2,3-b]phénoxazine-4,11-disulfonique		418-000-8	163062-28-0	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
613-195-00-8	2,2-(1,4-phénylène)bis[(4H-3,1-benzoxazin-4-one)		418-280-1	18600-59-4	R43 R53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
613-196-00-3	sel de sodium de l'acide 5-[4-chloro-6-[[2-[[4-fluoro-6-[[5-hydroxy-6-[(4-méthoxy-2-sulphényl)azo]-7-sulfo-2-naphthalényl]amino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-1-méthyléthyl]amino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]-3-[[4-(éthénylsulfonyl)phényl]azo]-4-hydroxy naphthalène-2,7-disulfonique		418-380-5	168113-78-8	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
613-197-00-9	Mélange de: 2,4,6-tri[(butylcarbamoyl)-1,3,5-triazine		420-390-1	187547-46-2	R43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
613-199-00-X	2,4,6-tri(méthylcarbamoyl)-1,3,5-triazine [(2-butyl-4,6-diméthyl)tricarbamoyl]-1,3,5-triazine [(2,4-dibutyl-6-méthyl)tricarbamoyl]-1,3,5-triazine		421-550-1	-	Carc. Cat.2; R45 Repr. Cat.2; R61 R 43 R 52-53	S: (2-)24-37-61		
613-200-00-3	Mélange de: 1,3,5-tris(3-aminométhylphényl)-1,3,5-(1H,3H,5H)-triazine-2,4,6-trione Mélange d' oligomères de 3,5-bis(3-aminométhylphényl)-1-poly[3,5-bis(3-aminométhylphényl)-2,4,6-trioxo-1,3,5-(1H,3H,5H)-triazin-1-yl]-1,3,5-(1H,3H,5H)-triazine-2,4,6-trione		420-980-7	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)22-26-39		
613-201-00-9	Produit de réaction de : cuivre, (29H,31H-phthalocyaninato(2-)-N29,N30,N31,N32), acide chlorosulfurique et 3-(2-sulfoxyéthylsulfon)aniline, sels de sodium		422-390-5	143322-57-0	Repr. Cat.3; R62 T: R39-48/25 Xn; R20/22 Xi; R41 R 43 N; R50-53	T; N R: 20/22-39-41-43-48/25-62-50/53 S: (1/2-)53-45-60-61		
613-202-00-4	pymétroline (E)-4,5-dihydro-6-méthyl-4-(3-pyridyl)méthylèneamino-1,2,4-triazin-3(2H)-one		-	123312-89-0	Carc. Cat3; R40 R52-53	Xn R: 40-52/53 S: (2-)36/37-61		
613-203-00-X	pyraflufen-éthyl [1] pyraflufen [2]		- [1] - [2]	129630-19-9 [1] 129630-17-7 [2]	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-204-00-5	oxadiargyl 3-[2,4-dichloro-5-(2-propynyloxy)phényl]-5-(1,1-diméthyléthyl)-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-one		254-637-6	39807-15-3	Repr. Cat3; R63 Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-63-50/53 S: (2-)36/37-46-60-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
613-205-00-0	5- <i>tert</i> -butyl-3-[2,4-dichloro-5-(prop-2-ynyloxy)phényl]-1,3,4-oxadiazol-2(3 <i>H</i>)-one		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	propiconazole (+)-1-[2-(2,4-dichlorophényl)-4-propyl-1,3-dioxolan-2-ylméthyl]-1 <i>H</i> -1,2,4-triazole		-	161326-34-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-207-00-1	Sulfate d'imazalil, solution aqueuse hydrogénosulfate de 1-[2-(allyloxy)éthyl]-2-(2,4-dichlorophényl)]-1 <i>H</i> -imidazolium hydrogénosulfate de (±)-1-[2-(allyloxy)éthyl]-2-(2,4-dichlorophényl)]-1 <i>H</i> -imidazolium		261-351-5 281-291-3	58594-72-2 83918-57-4	Xn; R22 C; R34 R43 N; R50-53	C; N R: 22-34-43-50/53 S: (2-)26-36/37/39-45-60-61	C > 50 %: C, Xn, N; R22-34-43-50-53 30 % < C ≤ 50 %: Xn, N; R22-38-41-43-50-53 25 % ≤ C ≤ 30 %: Xn, N; R22-41-43-50-53 15 % < C < 25 %: Xi, N; R41-43-51-53 5 % ≤ C ≤ 15 %: Xi, N; R36-43-51-53 2,5 % ≤ C < 5 %: Xi, N; R43-51-53 1 % ≤ C < 2,5 %: Xi; R43-52-53 0,25 % ≤ C < 1 %: R52-53	
613-208-00-7	imazamox		-	114311-32-9	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-209-00-2	chlorhydrate de cis-1-(3-chloropropyl)-2,6-diméthylpipéridine		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-chloropropyl)-2,5,5-triméthyl-1,3-dioxane		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	méthylsulfate de N-méthyl-4-(p-formylstyril)pyridinium		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-éthylhexyloxy)phényl](1,4-thiazinane-1,1-dioxyde)		418-320-8	133467-41-1	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)22-60-61		
613-213-00-4	(cis)-1-benzoyl-4-[4-		416-040-0	120807-02-5	R 52-53			

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
613-214-00-X	méthylsulfonyleoxy]-L-proline N,N-di-n-butyl-2-(1,2-dihydro-3-hydroxy-6-isopropyl-2-quinolylidène)-1,3-dioxoindane-5-carboxamide		416-260-7	147613-95-4	R 53	R: 53 S: 61		
613-215-00-5	chlorure de 2-chlorométhyl-3,4-diméthoxyypyridinium		416-440-5	72830-09-2	Xn; R21/22-48/22 Xi; R38-41 R43 N; R51-53	Xn; N R: 21/22-38-41-43-48/22-51/53 S: (2-)26-36/37/39-61		
613-216-00-0	6-tert-butyl-7-(6-diéthylamino-2-méthyl-3-pyridylimino)-3-(3-méthylphényl)pyrazolo[3,2-c][1,2,4]triazole		416-490-8	-	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-217-00-6	4-[3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphényl)propionyloxy]-1-[2-[3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphényl)propionyloxy]éthyl]-2,2,6,6-tétraméthylpiperidine		416-770-1	73754-27-5	R 53	R: 53 S: 61		
613-218-00-1	6-hydroxyindole		417-020-4	2380-86-1	Xn; R22 Xi; R41 R43 N; R51-53	Xn; N R: 22-41-43-51/53 S: (2-)24-26-37/39-61		
613-219-00-7	7a-éthyl-3,5-bis(1-méthyléthyl)-2,3,4,5-tétrahydro-oxazolol[3,4-c]-2,3,4,5-tétrahydro-oxazole		417-140-7	79185-77-6	Xi; R38 N; R51-53	Xi; N R: 38-51/53 S: (2-)37-61		
613-220-00-2	trans-(4S,6S)-5,6-dihydro-6-méthyl-4H-thiéno[2,3-b]thiopyran-4-ol, 7,7-dioxyde		417-290-3	147086-81-5	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)36		
613-221-00-8	2-chloro-5-méthylpyridine		418-050-0	18368-64-4	Xn; R21/22 Xi; R38 R52-53	Xn R: 21/22-38-52/53 S: (2-)23-25-36/37-61		
613-222-00-3	4-(1-oxo-2-propényl)morpholine		418-140-1	5117-12-4	Xn; R22-48/22 Xi; R41 R43	Xn R: 22-41-43-48/22 S: (2-)23-26-36/37/39		
613-223-00-9	N-isopropyl-3-(4-fluorophényl)-1H-indole		418-790-4	93957-49-4	R 53	R: 53 S: 61		
613-224-00-4	2,5-dimercaptométhyl-1,4-dithiane		419-770-8	136122-15-1	Xn; R22 C; R34	C; N R: 22-34-43-50/53		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
613-225-00-X	Mélange de : 1-(2-(antraquinon-1-ylamino)-6-(5-benzoylamino)-antraquinon-1-ylamino)-4-phényl-1,3,5-triazine 2,6-bis-(5-benzoylamino)-antraquinon-1-ylamino)-4-phényl-1,3,5-triazine.		421-290-9	-	R43 N; R50-53 Xn; R48/22 R53	S: (1/2-)26-36/37/39-45-60-61 Xn R: 48/22-53 S: (2-)22-36-61		
613-226-00-5	dichlorure de 1-(2-(éthyl(4-(4-(4-(éthyl(2-pyridinoéthyl)amino)-2-méthylphénylazo)benzoylamino)phénylazo)-3-méthylphényl)amino)éthylpyridinium		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* et (R*, S*)) 6-fluoro-3,4-dihydro-2-oxiranyl-2H-1-benzopyrane		419-600-2	-	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-28-36/37-61		
613-228-00-6	(+/-) (R*, S*) 6-fluoro-3,4-dihydro-2-oxiranyl-2H-1-benzopyrane		419-630-6	-	N; R51-53	N R: 51/53 S: 24-61		
613-230-00-7	florasulam 2',6',8'-trifluoro-5-méthoxy-5-triazolo[1,5-c]pyrimidine-2-sulfonamide		-	145701-23-1	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
613-233-00-3	4,4'-(oxy-(bisméthylène))bis-1,3-dioxolane		423-230-7	56552-15-9	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
614-028-00-1	Mélange de: mono-D-glucopyranoside de 2-éthylhexyle di-D-glucopyranoside de 2-éthylhexyle		414-420-0	-	Xi; R41	Xi R: 41 S: (2-)26-39		
614-029-00-7	isomères constitutionnels de penta-O-allyl-β-D-fructofuranosyl-α-D-glucopyranoside isomères constitutionnels de hexa-O-allyl-β-D-fructofuranosyl-α-D-glucopyranoside isomères constitutionnels de		419-640-0	68784-14-5	Xn; R22	Xn R: 22 S: (2-)		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
615-030-00-5	hepta-O-allyl-β-D-fructofuranosyl-α-D-glucopyranoside		-	-	Xn; R20/21/22 R32 R52-53	Xn R: 20/21/22-32-52/53 S: (2-)13-61		
615-031-00-0	alcali, sels de terre alcaline et autres sels d'acide thiocyanique à l'exception de ceux nommément désignés dans cette annexe	A	-	-	Xn; R20/21/22 R32 R52-53	Xn R: 20/21/22-32-52/53 S: (2-)13-61		
615-032-00-6	Sel de thallium de l'acide thiocyanique	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		
616-092-00-6	Sel métallique d'acide thiocyanique à l'exception de ceux nommément désignés dans cette annexe	A	-	-	Xn; R20/21/22 R32 N; R50-53	Xn; N R: 20/21/22-32-50/53 S: (2-)13-60-61		
616-093-00-1	Polymère obtenu par réaction de bicyclo[2.2.1]hepta-2,5-diène, éthène, 1,4-hexadiène, 1-propène avec N,N-di-2-propénylformamide		404-035-6	-	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
616-094-00-7	Produit de réaction formé par réaction de: condensation d'aniline, de téréphthalaldéhyde et d'o-toluidine avec l'anhydride maléique		406-620-1	129217-90-9	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)24-37-61		
616-095-00-2	3,3'-dicyclohexyl-1,1'-méthylènebis(4,1-phénylène)diurée		406-370-3	58890-25-8	R 43 R 53	Xi R: 43-53 S: (2-)24-37-61		
616-096-00-8	3,3'-dioctadécyl-1,1'-méthylènebis(4,1-phénylène)diurée		406-690-3	43136-14-7	R 53	R: 53 S: 61		
616-097-00-3	N-(3-hexadécyloxy-2-hydroxyprop-1-yl)-N-(2-hydroxyéthyl)palmitamide		408-110-4	110483-07-3	R 53	R: 53 S: 61		
616-098-00-9	N,N'-1,4-phénylènebis(2-((2-méthoxy-4-nitrophényl)azo)-3-oxobutanamide		411-840-6	83372-55-8	R 53	R: 53 S: 61		
616-099-00-9	1-[4-chloro-3-(2,2,3,3,3-pentafluoropropoxy)méthyl]phényl-5-phényl-1H-1,2,4-triazole-3-		411-750-7	119126-15-7	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
	carboxamide							
616-099-00-4	2-[4-(4-hydroxyphényl)sulfonyl]phénoxy]-4,4-diméthyl-N-[5-(méthylsulfonyl)amino]-2-[4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl)phénoxy]phényl]-3-oxopentanamide		414-170-2	135937-20-1	R 53	R: 53 S: 61		
616-100-00-8	1,3-diméthyl-1,3-bis(triméthylsilyl)urée		414-180-7	10218-17-4	Xn; R22 Xi; R38	Xn R: 22-38 S: (2-)36/37		
616-101-00-3	(S)-N-tert-butyl-1,2,3,4-tétrahydro-3-isoquinolinecarboxamide		414-600-9	149182-72-9	Xn; R22 R 52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)61		
616-102-00-9	Mélange de : α -[3-(3-mercaptopropanoxy)carbonyl]amino]méthylphényl]aminocarbonyl]- ω -[3-(3-mercaptopropanoxy)carbonyl]amino]méthylphényl]aminocarbonyl]oxypropylène) 1,2-(ou 1,3)-bis[α -(3-mercaptopropanoxy)carbonyl]amino]méthylphényl]aminocarbonyl]- ω -oxy-poly(oxyéthylène-co-oxypropylène)]-3-(ou 2-)propanol 1,2,3-tris[α -(3-mercaptopropanoxy)carbonyl]amino]méthylphényl]aminocarbonyl]- ω -oxy-poly(oxyéthylène-co-oxypropylène)]propane]		415-870-0	-	R 43 N; R51-53	Xi; N R: 43-51/53 S: (2-)36/37-61		
616-103-00-4	(S,S)-trans-4-(acétylamino)-5,6-dihydro-6-méthyl-7,7-dioxo-4H-thiéno[2,3-b]thiopyrane-2-sulfonamide		415-030-3	120298-38-6	R43 N; R50-53	Xi; N R: 43-50/53 S: (2-)24-37-60-61		
616-104-00-X	benalaxyl méthyl N-(2,6-diméthylphényl)-N-(phénylacétyl)-DL-alaninate		275-728-7	71626-11-4	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-105-00-5	chlorotoluron 3-(3-chloro- <i>p</i> -tolyl)-1,1-diméthylurée		239-592-2	15545-48-9	Carc. Cat. 3; R40 Repr. Cat. 3; R63 N; R50-53	Xn; N R: 40-63-50/53 S: (2-)36/37-26-46-60-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
616-106-00-0	phenmedipham (ISO) méthyl 3-(3-méthylcarbamioloxycarbanilate		237-199-0	13684-63-4	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-108-00-1	iodosulfuron-méthyl-sodium		-	144550-36-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-109-00-7	sulfosulfuron 1-(4,6-diméthoxypyrimidin-2-yl)- 3-(2-éthylsulfonylimidazol-1,2- alpyridin-3-yl)sulfonylurée		-	141776-32-1	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-110-00-2	Cyclamilde acide 1-(2,4-dichloroamino-carbonyl)cyclopropanecarboxylique		419-150-7	113136-77-9	Xn; R22 N; R51-53	Xn; N R: 22-51/53 S: (2-)61		
616-111-00-8	fenhexamide N-(2,3-dichloro-4-hydroxyphényl)-1-méthylecyclohexanecarboxamide		422-530-5	126833-17-8	N; R51-53	N R: 51/53 S: 61		
616-112-00-3	oxasulfuron oxetan-3-yl 2-[(4,6-diméthylpyrimidine-2-yl)- carbamoylsulfamoyl]benzoate		-	144651-06-9	Xn; R48/22 N; R50-53	Xn; N R: 48/22-50/53 S: (2-)46-60-61		
616-113-00-9	desmedipham éthyl 3- phénylcarbamioloxycarbanilate		237-198-5	13684-56-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61	C ≥ 2,5 %; N; R50/53 0,25 % ≤ C < 2,5 %; N; R51/53 0,025 % ≤ C < 0,25 %; R52/53	
616-114-00-4	N,N'-(9,9',10,10'-tétrahydro- 9,9',10,10'-tétraoxo(1,1'- bianthracène)-4,4'- diyl)bisdodécaneamide		418-010-2	136897-58-0	R53	R: 53 S: 22-61		
616-115-00-X	N-(3-acétyl-2-hydroxyphényl)-4-(4-phénylbutoxy)benzamide		416-150-9	136450-06-1	R 53	R: 53 S: 61		
616-116-00-5	N-(4-diméthylaminopyridinium)- 3-méthoxy-4-(1-méthyl-5- nitroindol-3-ylméthyl)-N-(o- tolylsulfonyl)benzamide		416-790-9	-	R 53	R: 53 S: 61		
616-117-00-0	N-[2-(3-acétyl-5-nitrothiophén-2- ylazo)-5- diéthylaminophényl]acétamide		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		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
616-118-00-6	chlorhydrate de N-(2',6'-diméthylphényl)pipéridine-2-carboxamide		417-950-0	65797-42-4	Xn; R22 R52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		
616-119-00-1	2-(1-butyl-3,5-dioxo-2-phényl-(1,2,4)-triazolidin-4-yl)-4,4-diméthyl-3-oxo-N-(2-méthoxy-5-(2-(dodécyl-1-sulfonyl)propionylamino)-phényl)-pentanamide		418-060-5	118020-93-2	R 53	R: 53 S: 61		
616-120-00-7	Mélange de : N-(3-diméthylamino-4-méthylphényl)benzamide N-(3-diméthylamino-2-méthylphényl)benzamide N-(3-diméthylamino-3-méthylphényl)benzamide		420-600-1	-	Xn; R48/22 N; R51-53	Xn; N R: 48/22-51/53 S: (2-)36/37-61		
616-121-00-2	2,4-dihydroxy-N-(2-méthoxyphényl)benzamide		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-(diéthylamino)-2-méthylphényl]imino]-6-oxo-1,4-cyclohexadiényl]acétamide		414-740-0	96141-86-5	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-124-00-9	bis(trifluorométhylsulfonyl)imide de lithium		415-300-0	90076-65-6	T; R24/25 C; R34 R 52-53	T R: 24/25-34-52/53 S: (1/2-)22-26-36/37/39-45-61		
616-125-00-4	3-cyano-N-(1,1-diméthyléthyl)androstane-3,5-diène-17-β-carboxamide		415-730-9	151338-11-3	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-127-00-5	Mélange de : N,N'-éthane-1,2-diylbis(décaneamide) 1,2-hydroxy-N-[2-[1-oxydécyl]amino]éthyl]octadécaneamide N,N'-éthane-1,2-diylbis(12-hydroxyoctadécaneamide)		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-allyl)-4,5-dicyanoimidazol-2-ylazo)-5-(dipropylamino)phényl)acétamide		417-530-7	123590-00-1	R53	R: 53 S: 61		
616-129-00-6	N,N'-bis(2,2,6,6-tétraméthyl-4-pipéridyl)isophthalamide		419-710-0	42774-15-2	Xn; R22 Xi; R36	Xn R: 22-36 S: (2-)22-25-26		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
616-130-00-1	N-(3-(2-(4,4-diméthyl-2,5-dioxoimidazolin-1-yl)-4,4-diméthyl-3-oxo-pentanoylamino)-4-méthoxyphényl)octadécaneamide		421-780-2	150919-56-5	R53	R: 53 S: 61		
616-132-00-2	N-[4-(4-cyano-2-furfurylidène-2,5-dihydro-5-oxo-3-furyl)phényl]butane-1-sulfonamide		423-250-6	130016-98-7	N; R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		
616-133-00-8	N-cyclohexyl-S,S-dioxobenzolb[tiophène-2-carboxamide		423-990-1	149118-66-1	Xn; R22 Xi; R41 N; R50-53	Xn; N R: 22-41-50/53 S: (2-)22-26-39-60-61		
616-134-00-3	3,3'-bis(dioctyloxyphosphinothioylthio)-N,N'-oxybis(méthylène)diprotonamide		401-820-5	-	R52-53	R: 52/53 S: 61		
616-135-00-9	(3S,4aS,8aS)-2-[(2R,3S)-3-amino-2-hydroxy-4-phénylbutyl]-N-(tert-butyl)décahydroisoquinoléine-3-carboxamide		430-230-0	136522-17-3	Xn; R22 R52-53	Xn R: 22-52/53 S: (2-)22-61		
616-142-00-7	1,3-bis(vinylsulfonylacétamido)propane		428-350-3	93629-90-4	Muta.Cat.3; R68 Xi; R41 R 43 R 52-53	Xn R: 41-43-68-52/53 S: (2-)22-26-36/37/39-61		
616-143-00-2	N,N'-dihexadécyl-N,N'-bis(2-hydroxyéthyl)propanediamide		422-560-9	149591-38-8	Xn; Repr. Cat. 3; R62 Xi; R36 R53	Xn R: 62-36-53 S: (2-)26-36/37-61		
617-018-00-5	Mélange de: peroxyde de 1-méthyl-1-(3-(1-méthyléthyl)phényl)éthyl-1-méthyl-1-phényléthyle, 63% en poids peroxyde de 1-méthyl-1-(4-(1-méthyléthyl)phényl)éthyl-1-méthyl-1-phényléthyle, 31% en poids		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	acide 6-(phtalimido)peroxyhexanoïque		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		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
617-020-00-6	bis(neodécanylperoxyde) de 1,3-di(prop-2,2-dityl)benzène		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	Produit de réaction de : polyéthylène-polyamine-alkylamidés en (C16-C18) avec phosphonates de monothio-(C2)-alkyle		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	Produit de réaction de : acide 3,5-bis-tert-butylsilylylique et sulfate d'aluminium		420-310-3	-	Xn; R22 N; R50-53	Xn; N R: 22-50/53 S: (2-)22-56-60-61		
650-044-00-5	mélange d'alcools éthoxylés linéaires et ramifiés en C14-15, produit de réaction avec l'épichlorohydrine		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	Produit de réaction de : ester diéthylique de l'acide 2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylique (32074-56-9), 1-propanol (71-23-8) et tétra-n-propanolate de zirconium (23519-77-9)		417-110-3	-	F; R11 Xi; R38-41 N; R51-53	F; Xi; N R: 11-38-41-51/53 S: (2-)9-16-26-37/39-61		
650-046-00-6	disulfonate de di(tétraméthylammonium)(29H,3 1H-phtalocyanine-N29,N30,N31,N32)disulfonamide, complexe de cuivre (II), dérivés		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	hexafluoroantimoniate de dibenzylphénylsulfonium		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	Produit de réaction de : borax, peroxyde d'hydrogène, acide peracétique et acide acétique		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	hydrogénomaléate de 2-alcyléthyle, où l'alcyl représente (en poids) 70 à 85% d'octadécyle insaturé, 0,5 à 10% d'octadécyle saturé, et 2 à 18%		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		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
650-050-00-8	d'hexadécyle saturé Mélange de : 3,5-[1,1,1-diméthyléthyl]-4-hydroxydihydrocinnamate de 1-méthyl-3-hydroxypropyle et/ou 3,5-[1,1,1-diméthyléthyl]-4-hydroxydihydrocinnamate de 3-hydroxybutyle isomères de 1,3-butanediol bis[3-(3'-(1,1-diméthyléthyl)-4'-hydroxyphényl)propionate] isomères de 1,3-butanediol bis[3-(3'-(1,1-diméthyléthyl)-4'-hydroxyphényl)propionate]		423-600-8	-	N: R51-53	N R: 51/53 S: 61		
650-055-00-5	hydrogénophosphate d' argent, sodium et zirconium		422-570-3	-	N: R50-53	N R: 50/53 S: 60-61		

Index No	nom chimique	Notes relatives aux substances	EC No	CAS No	Classification	Étiquetage	Limites de concentration	Notes relatives aux préparations
048-002-00-0	cadmium en poudre (stabilisée) [1] oxyde de cadmium en poudre (stabilisée) [2]	E	231-152-8 [1] 215-146-2 [2]	7440-43-9 [1] 1306-19-0 [2]	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62-63 T; R48/23/25 T+; R26 N; R50-53	T+; N R: 45-26-48/23/25-62-63-68-50/53 S: 53-45-60-61		
048-011-00-X	cadmium en poudre (pyrophorique)	E	231-152-8	7440-43-9	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 3; R68 Repr. Cat. 3; R62-63 T; R48/23/25 T+; R26 F; R17 N; R50-53	F; T+; N R: 45-17-26-48/23/25-62-63-68-50/53 S: 53-45-7/8-43-60-61		
609-006-00-3	4-nitrotoluène	C	202-808-0	99-99-0	T; R23/24/25 R33 N; R51/53	T; N R: 23/24/25-33-51/53 S: (1/2-)28-37-45-61		
609-065-00-5	2-nitrotoluène	E	201-853-3	88-72-2	Carc. Cat. 2; R45 Muta. Cat. 2; R46 Repr. Cat. 3; R62 Xn; R22 N; R51-53	T; N R: 45-46-22-62-51/53 S: 53-45-61		
612-039-00-6	2-éthoxyaniline <i>o</i> -phénéidine	C	202-356-4	94-70-2	T; R23/24/25 R33	T R: 23/24/25-33 S: (1/2-)28-36/37-45		
612-207-00-9	4-éthoxyaniline <i>p</i> -phénéidine		205-855-5	156-43-4	Muta. Cat. 3; R68 Xn; R20/21/22 Xi; R36 R43	Xn R: 20/21/22-36-43-68 S: (2-)36/37-46		

ANNEXE 2A

A.21. PROPRIÉTÉS COMBURANTES (LIQUIDES)

1. MÉTHODE

1.1 INTRODUCTION

La présente méthode vise à déterminer l'aptitude d'un liquide à accroître la vitesse de combustion ou l'intensité de la combustion d'une substance combustible, ou de provoquer l'inflammation spontanée d'une substance combustible avec laquelle il est mélangé de manière homogène. La méthode repose sur l'épreuve des Nations Unies pour les liquides comburants (1) et en est l'équivalent. Toutefois, comme cette méthode A.21 est avant tout conçue pour satisfaire aux exigences de la directive 67/548, une seule substance de référence est nécessaire pour effectuer la comparaison. Il peut être nécessaire d'effectuer des tests et des comparaisons avec d'autres substances de référence lorsque les résultats du test doivent être utilisés à d'autres fins.¹

Il n'est pas nécessaire d'effectuer ce test lorsque l'examen de la formule structurale établit indubitablement que la substance est incapable de présenter une réaction exothermique avec un combustible.

Il est utile de disposer d'informations préliminaires sur les éventuelles propriétés explosives de la substance avant de pratiquer ce test.

Ce test ne s'applique pas aux solides, gaz, substances explosives ou hautement inflammables, ni aux peroxydes organiques.

Il n'est pas nécessaire d'effectuer ce test lorsque l'on dispose déjà, pour la substance concernée, des résultats de l'épreuve des Nations Unies pour les liquides comburants (1).

1.2 DÉFINITIONS ET UNITÉS

Le temps moyen de montée en pression est la moyenne des temps mesurés pour que le mélange testé produise une élévation de pression de 690 kPa à 2070 kPa au-dessus de la pression atmosphérique.

1.3 SUBSTANCE DE RÉFÉRENCE

La substance de référence est une solution aqueuse d'acide nitrique (qualité pour analyse) à 65% (poids/poids).²

Le cas échéant, si l'expérimentateur prévoit que les résultats de ce test seront peut-être utilisés à d'autres fins,¹ il peut également être indiqué de tester d'autres substances de référence.³

1.4 PRINCIPE DE LA MÉTHODE D'ESSAI

Le liquide à tester est mélangé avec de la cellulose fibreuse dans un rapport massique de 1 pour 1 et placé dans une bombe. Si le mélange s'enflamme spontanément lors du mélange ou du remplissage, il n'est pas nécessaire de poursuivre l'essai.

Si le mélange ne s'enflamme pas spontanément, il y a lieu d'effectuer l'essai complet. Le mélange est chauffé dans la bombe et le temps moyen que met la pression pour s'élever de 690 kPa à 2070 kPa au-dessus de la pression atmosphérique est déterminé. Ce résultat est comparé au temps moyen de montée en pression pour le mélange 1:1 de la (des) substance(s) de référence et de cellulose.

1.5 CRITÈRES DE QUALITÉ

Dans une série de cinq essais sur une substance, aucun résultat ne devrait s'écarter de plus de 30% de la moyenne arithmétique. Les résultats qui diffèrent de plus de 30% de la moyenne devraient être rejetés, la procédure de mélange et de remplissage améliorée et les essais répétés.

¹ Comme par exemple dans le cadre du règlement des Nations Unies sur les transports.

² L'acide doit être titré avant l'essai, afin de confirmer sa concentration.

³ Par exemple: acide perchlorique à 50% (poids/poids) et chlorate de sodium à 40% (poids/poids) sont utilisés dans la référence 1.

1.6 DESCRIPTION DE LA MÉTHODE

1.6.1 Préparation

1.6.1.1 Substance combustible

Comme matériau combustible on utilise de la cellulose fibreuse séchée ayant une longueur de fibre comprise entre 50 et 250 µm pour un diamètre de 25 µm.⁴ On la fait sécher en couche de moins de 25 mm d'épaisseur à 105°C pendant 4 heures jusqu'à obtention d'un poids constant, puis on la maintient dans un dessiccateur en présence de dessiccant jusqu'à refroidissement et utilisation. La teneur en eau doit être inférieure à 0,5% en masse (rapportée au poids sec)⁵. Si cela est nécessaire pour satisfaire à cette condition, la durée de séchage doit être prolongée⁶. Le même lot de cellulose doit être utilisé tout au long des essais.

1.6.1.2 Appareillage

1.6.1.2.1 Bombe

On doit disposer d'une bombe. Le dispositif d'essai est constitué par une bombe cylindrique en acier de 89 mm de longueur et de 60 mm de diamètre extérieur (voir figure 1). La bombe comporte deux plats usinés en des points diamétralement opposés (réduisant sa largeur à cet endroit à 50 mm), ce qui permet de l'immobiliser pour le serrage du bouchon de mise à feu et du bouchon à évent. Elle est alésée intérieurement à 20 mm et comporte aux deux extrémités un chambrage de 19 mm de profondeur taraudé au pas de 1 en tube normalisé BSP (British Standard Pipe) ou son équivalent métrique. Une prise de pression est vissée latéralement dans le corps de la bombe à 35 mm d'une extrémité, et à un angle de 90° par rapport aux plats. Elle se visse dans un chambrage de 12 mm de profondeur taraudé au pas de 1/2 en tube normalisé BSP (ou l'équivalent métrique). Si nécessaire, un joint en un matériau inerte est utilisé pour assurer l'étanchéité au gaz. La prise de pression fait saillie latéralement de 55 mm par rapport au corps de la bombe et elle est percée d'un trou axial de 6 mm. Elle comporte à son extrémité extérieure un chambrage taraudé pour recevoir un capteur de pression du type à diaphragme. Tout autre type de dispositif de mesure de la pression peut être utilisé, à condition qu'il résiste aux gaz chauds et produits de décomposition et qu'il puisse réagir à des accroissements de pression de 690 à 2070 kPa en moins de 5 ms.

L'extrémité de la bombe la plus éloignée du raccord est fermée par un bouchon fileté qui porte deux électrodes, dont l'une est isolée du corps du bouchon et l'autre mise à la masse. L'autre extrémité est fermée par un disque de rupture en aluminium de 0,2 mm d'épaisseur (taré à une pression d'environ 2200 kPa), maintenu en place par un bouchon comportant un évent de 20 mm. Si nécessaire, un joint inerte est utilisé pour assurer la bonne étanchéité entre le bouchon et la bombe. Un porte-bombe spécial (figure 2) permet de maintenir la bombe dans la position voulue pendant les essais. Il est généralement constitué par une embase en acier doux de 235 mm x 184 mm x 6 mm, sur laquelle est soudé obliquement un tube de section carrée (de 70 mm x 70 mm x 4 mm) de 185 mm de longueur.

À une extrémité du tube carré, on a enlevé une certaine longueur de métal sur deux faces opposées, ce qui laisse une longueur de 86 mm de tube carré prolongée par deux côtés plats. Les extrémités de ces plats sont coupées à 60° par rapport à l'axe du tube et soudées à la plaque d'embase. Une encoche de 22 mm de large et de 46 mm de profondeur est découpée sur un côté en haut du tube carré, de telle manière que lorsque la bombe repose sur le support, bouchon de mise à feu vers la base, le raccord de prise de pression vienne s'y loger. Une entretoise en acier de 30 mm de largeur et 6 mm d'épaisseur est soudée sur la paroi intérieure du tube du côté orienté vers le bas. Deux trous taraudés dans le côté opposé reçoivent des vis à molettes de 7 mm, qui servent à fixer la bombe. Deux rebords en acier de 12 mm de largeur et de 6 mm d'épaisseur, soudés sur les flancs du support à la base de la section carrée soutiennent la cuve par le fond.

⁴ P.ex. Cellulose en poudre Whatman pour chromatographie sur colonne CF 11, no de catalogue 4021 050

⁵ Confirmé par titrage Karl-Fisher par exemple

⁶ On peut également obtenir cette teneur en eau, par exemple, en chauffant à 105 °C pendant 24 h sous vide

1.6.1.2.2 *Système d'allumage*

Le système d'allumage est constitué par un enroulement de fil au Ni/Cr de 25 cm de longueur, de 0,6 mm de section, et d'une résistance électrique de 3,85 ohm/m. Le fil a été enroulé en forme de bobine sur un mandrin de 5 mm de diamètre; ses extrémités sont reliées aux électrodes du bouchon de mise à feu. La bobine doit avoir l'une des configurations présentées à la figure 3. La distance entre la face supérieure du bouchon et le point le plus bas de l'enroulement de chauffage doit être de 20 mm. Si les électrodes ne sont pas réglables en longueur, les deux sections de fil chauffant situées entre la bobine et la face supérieure du bouchon doivent être isolées par une gaine de céramique. Le fil doit être alimenté par une source électrique stable pouvant fournir une intensité d'au moins 10 A.

1.6.2 **Réalisation de l'essai**⁷

La bombe montée, avec son capteur de pression, mais non fermée par son disque de rupture, est posée bouchon d'allumage vers le bas dans son support. On mélange 2,5 g du liquide à essayer avec 2,5 g de cellulose séchée dans un bécher en verre à l'aide d'un agitateur en verre⁸. Pour des raisons de sécurité, lors de cette opération, le manipulateur devrait s'abriter derrière un écran de protection. Si le mélange s'enflamme spontanément au cours du mélange ou du remplissage, il n'est pas nécessaire de poursuivre l'essai. On remplit la bombe en plusieurs fois en tassant par petits chocs contre un objet dur; on s'assure qu'il n'y a pas de vide autour de l'enroulement de chauffage et que le mélange est directement en contact avec celui-ci. On doit cependant veiller à ne pas déformer l'enroulement en tassant le mélange car cela pourrait entraîner des résultats erronés⁹. On met en place le disque de rupture et on visse le bouchon à évent en le bloquant. La bombe chargée est alors posée sur le porte-bombe, disque de rupture vers le haut, l'ensemble étant placé dans une hotte blindée ou dans une chambre de tir. On raccorde les bornes extérieures du bouchon de mise à feu à une source électrique et on applique au dispositif de chauffage un courant de 10 A. Il ne devrait pas s'écouler plus de 10 minutes entre le début de la préparation du mélange et le moment de la mise sous tension.

Le signal émis par le capteur de pression est enregistré sur un système permettant d'effectuer un enregistrement permanent de la courbe pression/temps et une analyse de cette courbe (enregistreur de signaux transitoires couplé à un enregistreur à bande de papier par exemple). Le mélange est chauffé jusqu'à rupture du disque ou pendant une durée d'au moins 60 s. S'il n'y a pas rupture, on doit attendre que le mélange ait refroidi avant d'ouvrir la bombe prudemment au cas où celle-ci serait encore sous pression. Cinq essais sont exécutés avec le mélange et avec chacune des substances de référence. On note le temps nécessaire pour monter de 690 kPa à 2070 kPa (pression manométrique). Le temps moyen de montée en pression est calculé.

Dans certains cas, des substances peuvent engendrer une augmentation de pression (trop élevée ou trop faible), due à des réactions chimiques non caractéristiques des propriétés comburantes de ces substances. Il peut alors se révéler nécessaire de répéter l'épreuve en remplaçant la cellulose par une substance inerte, par exemple la diatomite (kieselguhr), afin de s'assurer de la nature de la réaction.

⁷ Les mélanges de substances comburantes avec de la cellulose doivent être traités comme potentiellement explosifs et manipulés avec le plus grand soin

⁸ Dans la pratique, cela peut être réalisé en préparant un mélange 1:1 du liquide à essayer et de cellulose en quantité plus importante que ce qui est nécessaire pour l'essai et en transférant $5 \pm 0,1$ g dans la bombe. Un nouveau mélange doit être préparé pour chaque essai.

⁹ Il convient notamment d'éviter tout contact entre les spires adjacentes de la bobine.

2 **DONNÉES**

Temps de montée en pression à la fois pour la substance à essayer et pour la (les) substance(s) de référence.

Temps de montée en pression pour les essais avec une substance inerte, le cas échéant.

2.1 **TRAITEMENT DES RÉSULTATS**

Le temps moyen de montée en pression est calculé à la fois pour la substance à essayer et pour la (les) substances(s) de référence.

Le temps moyen de montée en pression est calculé pour les essais réalisés avec une substance inerte (le cas échéant).

Le Tableau 1 présente quelques exemples

Tableau 1
Exemples de résultats ^{d)}

Substance ^{c)}	Temps moyen de montée en pression pour un mélange 1:1 avec de la cellulose (ms)
Dichromate d'ammonium, solution aqueuse saturée	20800
Nitrate de calcium, solution aqueuse saturée	6700
Nitrate ferrique, solution aqueuse saturée	4133
Perchlorate de lithium, solution aqueuse saturée	1686
Perchlorate de magnésium, solution aqueuse saturée	777
Nitrate de nickel, solution aqueuse saturée	6250
Acide nitrique, 65 %	4767 ^{a)}
Acide perchlorique, 50 %	121 ^{a)}
Acide perchlorique, 55 %	59
Nitrate de potassium, 30 % solution aqueuse	26690
Nitrate d'argent, solution aqueuse saturée	- ^{b)}
Chlorate de sodium, 40 % solution aqueuse	2555 ^{a)}
Nitrate de sodium, 45 % solution aqueuse	4133
<i>Substance inerte</i>	
Eau:cellulose	- ^{b)}

a) Valeur moyenne d'après des essais interlaboratoires de comparaison

b) Pression maximale de 2070 kPa non atteinte

c) Les solutions saturées doivent être préparées à 20 °C

d) Voir référence (1) pour le classement au transport selon le système des Nations Unies

3 COMPTE-RENDU

3.1 COMPTE-RENDU DE L'ESSAI

Le compte-rendu de l'essai doit comprendre les informations suivantes:

- l'identité, la composition, la pureté, etc. de la substance essayée;
- la concentration de la substance;
- la méthode de séchage de la cellulose employée
- la teneur en eau de la cellulose utilisée
- le résultat des mesures;
- le résultat des essais réalisés avec une substance inerte, le cas échéant;
- les temps moyens de montée en pression calculés;
- tout écart par rapport à cette méthode et les raisons de celui-ci;
- toute information ou remarque complémentaire présentant un intérêt pour l'interprétation des résultats;

3.2 INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS¹⁰

Pour l'évaluation des résultats, on se fonde:

- a) sur le fait que le mélange substance à essayer/cellulose s'enflamme spontanément ou non
- b) sur la comparaison du temps moyen de montée de 690 kPa à 2070 kPa (pression manométrique) avec le temps moyen obtenu pour la (les) substance(s) de référence.

Une substance liquide doit être considérée comme comburante lorsque:

- a) un mélange 1:1, en poids, de la substance et de cellulose s'enflamme spontanément; ou
- b) un mélange 1:1, en poids, de la substance et de cellulose présente un temps moyen de montée en pression inférieur ou égal au temps moyen de montée en pression d'un mélange 1:1, en poids, d'une solution aqueuse d'acide nitrique à 65% (poids/poids) et de cellulose.

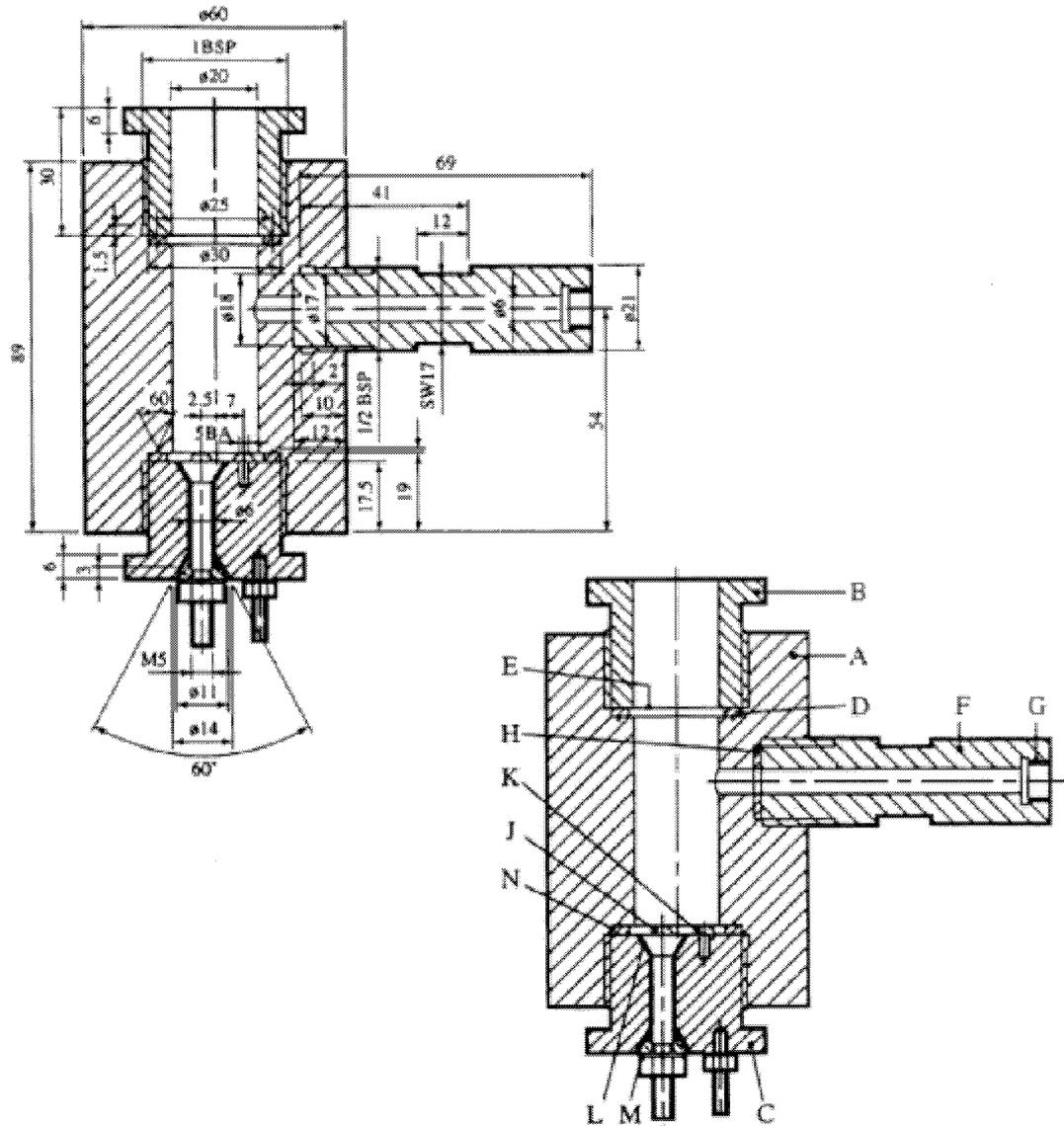
Afin d'éviter les faux positifs, il y a lieu, si nécessaire, de tenir également compte, lors de l'interprétation des résultats, des résultats obtenus dans les essais de la substance avec un matériel inerte.

4 RÉFÉRENCES

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

¹⁰ Voir la référence 1 pour l'interprétation des résultats des essais effectués selon le règlement des Nations Unies sur le transport, qui utilisent plusieurs substances de référence.

Figure 1



Bombe

- | | | |
|--|---|----------------------------------|
| (A) Corps de la pompe | (B) Bouchon retenant le disque de rupture | (C) Bouchon de mise à feu |
| (D) Joint en plomb mou | (E) Disque de rupture | (F) Raccord de prise de pression |
| (G) Taraudage pour capteur de pression | (H) Joint | (J) Électrode isolée |
| (K) Électrode mise à la masse | (L) Isolation | (M) Cône en acier |
| (N) Rainure de matage du joint | | |

Figure 2
Porte-bombe

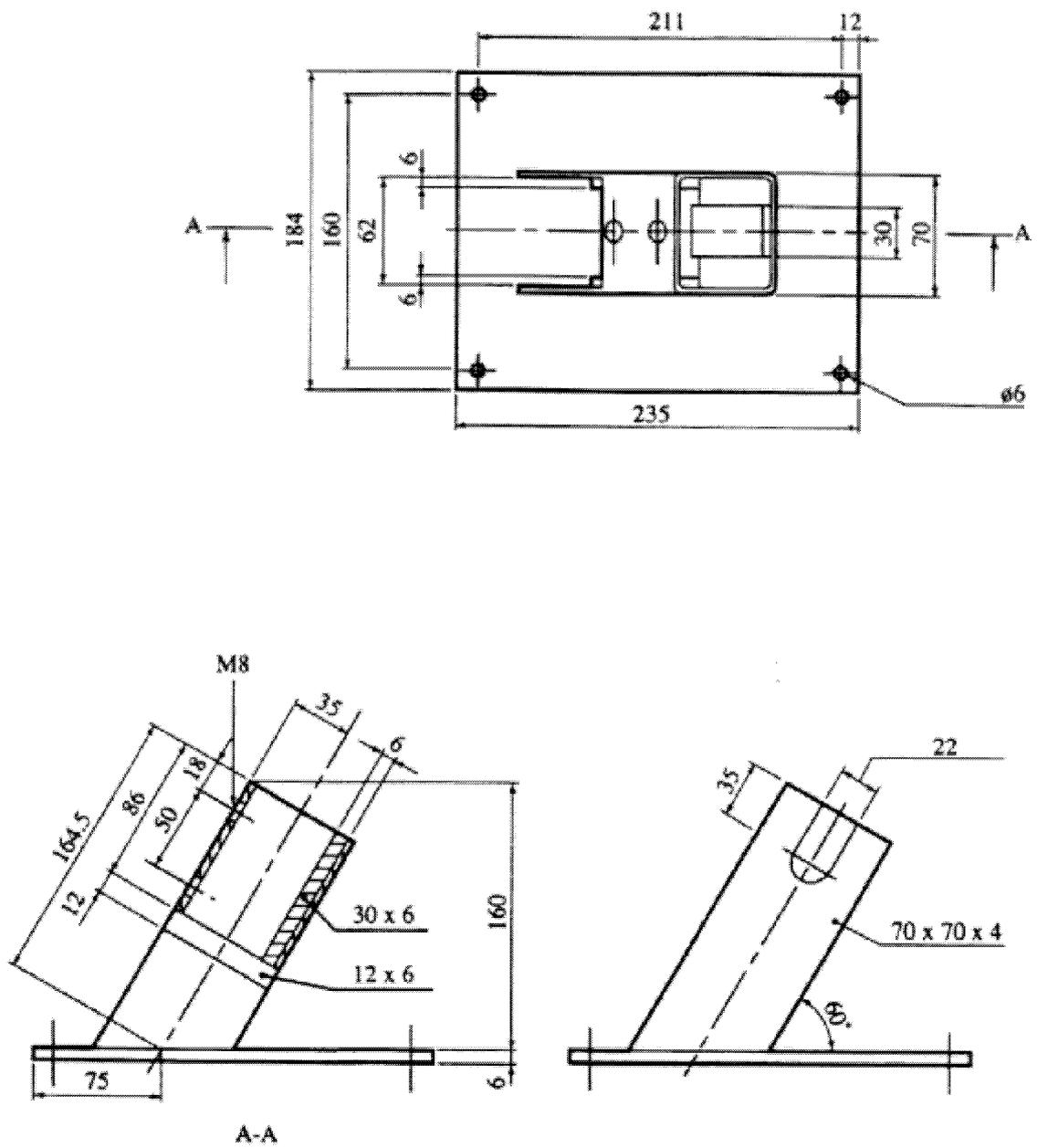
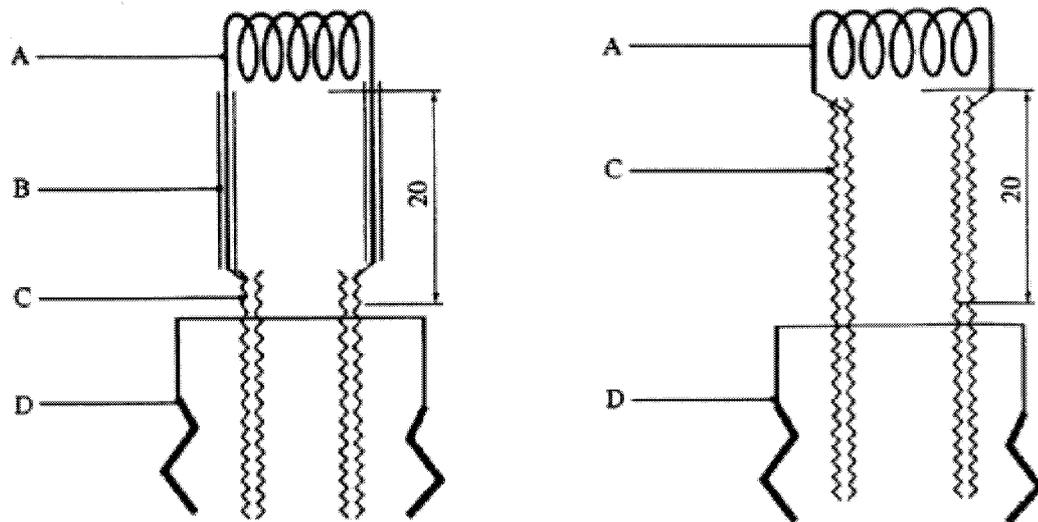


Figure 3

Système d'allumage



(A) Bobine d'allumage

(B) Isolation

(C) Électrodes

(D) Bouchon de mise à feu

ANNEXE 2B

B.1 bis. TOXICITÉ ORALE AIGUË - MÉTHODE DE LA DOSE PRÉDÉTERMINÉE**1. MÉTHODE**

Cette méthode d'essai est équivalente à la ligne directrice 420 (2001) de l'OCDE.

1.1 INTRODUCTION

Les méthodes traditionnelles pour évaluer la toxicité aiguë utilisent comme effet observé la mort des animaux. En 1984, la British Toxicology Society (BTS) a proposé une nouvelle approche pour les essais de toxicité aiguë, utilisant des doses prédéterminées (1). Cette méthode évitait d'utiliser la mort des animaux comme effet observé et s'appuyait plutôt sur l'observation de signes manifestes de toxicité apparaissant après traitement à une dose prédéterminée. Suite à des études de validation *in vivo* au Royaume-Uni (2) et au niveau international (3), cette procédure a été adoptée comme Ligne directrice en 1992. Après cela, les propriétés statistiques de la Méthode de la dose prédéterminée ont été évaluées dans une série d'études utilisant des modèles mathématiques (4)(5)(6). Ensemble, les études *in vivo* et celles basées sur des modèles mathématiques ont démontré que la procédure était reproductible et utilisait moins d'animaux auxquels elle occasionnait moins de souffrance que les méthodes traditionnelles. Elle permet de classer les substances par ordre de toxicité, de la même manière que les autres méthodes d'essai de toxicité aiguë.

Des indications permettant de choisir la méthode d'essai la plus appropriée pour un but donné sont présentées dans le Document d'orientation sur les essais de toxicité orale aiguë (7). Ce document contient également de plus amples informations sur la conduite et l'interprétation de la méthode d'essai B.1 bis.

La méthode de la dose prédéterminée a comme principe de n'utiliser, pour l'étude principale, que des doses modérément toxiques et d'éviter d'administrer des doses qui peuvent s'avérer létales. De même, il n'est pas nécessaire d'administrer des doses dont on sait qu'elles provoquent des douleurs et une détresse importante du fait de propriétés corrosives ou sévèrement irritantes. Au cours de l'essai, les animaux moribonds et les animaux souffrant de façon manifeste ou montrant des signes de détresse grave devront être euthanasiés. Ces animaux devront être pris en compte dans l'interprétation des résultats au même titre que les animaux morts au cours de l'essai. Les critères pour décider d'euthanasier les animaux moribonds et ceux qui souffrent de façon manifeste, ainsi que les orientations pour reconnaître une mort prévisible ou imminente font l'objet d'un autre document d'orientation (8).

La méthode fournit des informations qui permettent à la fois l'évaluation des dangers et le classement des substances selon le Système général harmonisé de classification (SGH) des substances ayant une toxicité aiguë (9).

Le laboratoire doit rassembler toutes les informations disponibles sur la substance d'essai avant de procéder à l'essai. Ces informations comprennent l'identité et la structure chimique de la substance, ses propriétés physico-chimiques, les résultats obtenus dans tous autres essais de toxicité *in vitro* et *in vivo*, les données toxicologiques concernant des substances structurellement apparentées, ainsi que le ou les usages escomptés de la substance. Ces informations sont nécessaires pour rassurer les personnes concernées quant à la pertinence de l'essai pour la protection de la santé humaine et elles seront utiles dans le choix de la dose initiale appropriée.

1.2 DÉFINITIONS

Toxicité orale aiguë : effets défavorables apparaissant après l'administration par voie orale d'une dose unique de substance ou de plusieurs doses données sur une période de 24 heures.

Mort différée: l'animal ne meurt ni n'apparaît moribond en l'espace de 48 heures, mais meurt ultérieurement au cours de la période d'observation de 14 jours

Dose: la quantité de substance d'essai administrée. La dose s'exprime en poids de substance d'essai par unité de poids de l'animal d'expérience (par exemple, mg/kg).

Toxicité manifeste : terme général désignant des signes évidents de toxicité qui surviennent à la suite de l'administration d'une substance d'essai [voir (3)]. Ces signes doivent être tels qu'on puisse s'attendre à ce qu'une augmentation de la dose administrée entraîne l'apparition de douleurs importantes et des signes persistants de détresse profonde, un état moribond [pour les critères voir (8)] et probablement de la mortalité pour la plupart des animaux.

SGH: Système général harmonisé de classification et d'étiquetage. Une activité conjointe de l'OCDE (santé humaine et environnement), du Comité d'experts sur le transport des matières dangereuses (propriétés physico-chimiques) et du B.I.T (communication des dangers) et coordonnée par IOMC (Interorganisation Programme for the Sound Management of Chemicals).

Mort imminente : il y a mort imminente lorsqu'on s'attend à ce qu'un état moribond ou la mort interviennent avant le prochain moment d'observation prévu. Les signes indicatifs de cet état chez les rongeurs comprennent les convulsions, la position latérale, la position couchée et les tremblements. (voir (8) pour plus de détails).

DL₅₀ (dose létale 50%) : dose unique d'une substance d'essai, obtenue par calcul statistique, susceptible d'entraîner la mort de 50 pour cent des animaux lorsqu'elle est administrée par voie orale. La valeur de la DL₅₀ est exprimée en poids de la substance par unité de poids corporel de l'animal d'expérience (mg/kg).

Dose limite : désigne une dose qui est la limite supérieure pour l'essai (2000 ou 5000 mg/kg).

État moribond: désigne l'état précédant la mort ou l'incapacité à survivre, même si un traitement est donné [pour de plus amples détails voir (8)].

Mort prévisible: présence de signes cliniques indiquant que la mort va intervenir à un moment déterminé dans le futur, avant la fin projetée de l'expérience, par exemple : incapacité à atteindre l'eau ou la nourriture [pour plus de détails voir (8)].

1.3 PRINCIPE DE LA METHODE D'ESSAI

Des groupes d'animaux du même sexe reçoivent des doses prédéterminées de 5, 50, 300 et 2 000 mg/kg selon une procédure séquentielle. Exceptionnellement une dose additionnelle de 5000 mg/kg peut être envisagée (voir section 1.6.2). La dose initiale, choisie sur la base d'une étude d'orientation, est celle qui est susceptible de faire apparaître certains signes de toxicité, sans toutefois provoquer des effets toxiques graves ou la mort. Les manifestations cliniques et les effets associés à la douleur, la souffrance et une mort imminente sont décrites dans un Document d'orientation de l'OCDE (8). D'autres groupes d'animaux reçoivent des doses plus fortes ou moins fortes en fonction de l'absence ou de la présence d'effets toxiques ou de mortalité. On continue la procédure jusqu'à ce que l'on identifie la dose qui occasionne un effet toxique évident ou la mort d'un seul animal. La procédure est également interrompue lorsque la dose la plus forte ne donne lieu à aucun effet observé ou lorsque la mort survient à la dose la plus faible.

1.4 DESCRIPTION DE LA METHODE D'ESSAI

1.4.1 Choix de l'espèce animale

Le rat est l'espèce préférée mais d'autres espèces peuvent être utilisées. Normalement, on utilise des femelles (7). L'étude de la littérature sur les essais traditionnels de DL₅₀ permet de conclure qu'il y a peu de différences de sensibilité entre sexes et que, lorsqu'il y a une différence, les femelles sont en général légèrement plus sensibles (10). Si toutefois, compte tenu des propriétés toxicologiques et toxicocinétiques de composés structurellement voisins, il apparaît que les mâles sont probablement plus sensibles, il convient d'employer des mâles. Dans ce cas il faut fournir une justification adéquate.

On utilise de jeunes animaux adultes sains issus de souches couramment utilisées en laboratoire. Les femelles doivent être nullipares et non gravides. Au début de l'essai, chaque animal doit être âgé de 8 à 12 semaines et son poids doit se situer dans un intervalle de $\pm 20\%$ du poids moyen des animaux précédemment exposés.

1.4.2 Conditions d'hébergement et d'alimentation

La température du local des animaux d'expérience doit être maintenue à 22°C ($\pm 3^\circ\text{C}$). L'humidité relative doit atteindre au moins 30 pour cent et rester de préférence inférieure à 70 pour cent, mais en dehors des heures de nettoyage du local, on s'efforcera de maintenir le taux d'humidité autour de 50 à 60 pour cent. On appliquera un éclairage artificiel alternant 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Pour l'alimentation des animaux, on peut utiliser la nourriture classique de laboratoire avec de l'eau potable à satiété. Les animaux peuvent être groupés par dose. Toutefois le nombre d'animaux par cage ne doit pas faire obstacle à une observation précise de chaque animal.

1.4.3 **Préparation des animaux**

Les animaux sont choisis au hasard, marqués pour permettre une identification individuelle et gardés dans leurs cages pour les acclimater aux conditions de laboratoire pendant au moins cinq jours avant l'expérience.

1.4.4 **Préparation des doses**

En général, il convient d'administrer la substance d'essai à volume constant quelle que soit la dose testée, en faisant varier la concentration de la préparation. Lorsqu'un produit liquide ou un mélange font l'objet de l'essai, l'utilisation du produit non dilué, donc à concentration constante, peut être plus appropriée pour l'évaluation du risque de cette substance. Certaines autorités réglementaires l'exigent. Dans tous les cas, il ne faut pas dépasser le volume de dose maximal. Le volume maximal de liquide qui peut être administré en une seule fois dépend de la taille de l'animal d'essai. Chez les rongeurs, ce volume ne doit pas dépasser 1 ml/100 g de poids corporel, sauf dans le cas de solutions aqueuses pour lesquelles on peut utiliser 2 ml/100 g de poids corporel. Il est recommandé d'utiliser une solution aqueuse chaque fois que cela est possible, sinon on peut utiliser une solution dans de l'huile (par exemple de l'huile de maïs) et éventuellement une solution dans d'autres véhicules. En ce qui concerne les véhicules non aqueux, leur toxicité doit être connue. Les doses doivent être préparées juste avant l'administration sauf si la stabilité de la préparation pendant la durée de la période d'utilisation est connue et jugée acceptable.

1.5 **MODE OPÉRATOIRE**

1.5.1 **Administration des doses**

La substance d'essai est administrée en une seule dose par gavage à l'aide d'une sonde gastrique ou de toute autre canule pour intubation appropriée. Lorsqu'il n'est pas possible d'administrer la dose en une seule fois, celle-ci peut être fractionnée sur une période n'excédant pas 24 heures.

Les animaux doivent être à jeun avant l'administration de la substance (on supprimera la nourriture, mais pas l'eau, pendant toute une nuit pour les rats et pendant 3 à 4 heures pour les souris). Après la période de jeûne, les animaux doivent être pesés; la substance d'essai leur est ensuite administrée. Après l'administration de la substance, les animaux peuvent être à nouveau privés de nourriture, pendant 3 à 4 heures pour les rats et pendant 1 à 2 heures pour les souris. Si la dose est administrée par fractions sur un certain laps de temps, il peut s'avérer nécessaire, en fonction de la durée du traitement, d'alimenter et de faire boire les animaux.

1.5.2 **Étude d'orientation**

Le but de l'étude d'orientation est de permettre la sélection d'une dose initiale appropriée pour l'étude principale. L'administration des doses se fait de façon séquentielle aux animaux individuellement selon les schémas de l'Annexe 1. L'étude d'orientation prend fin lorsqu'une décision au sujet de la dose initiale de l'étude principale peut être prise (ou lorsqu'une mortalité est observée à la dose prédéterminée la plus faible).

Pour la dose initiale de l'étude d'orientation on choisit un niveau parmi les suivants : 5, 50, 300 et 2 000 mg/kg. Le niveau choisi est celui pour lequel on peut s'attendre à observer des signes de toxicité évidente, si possible sur la base d'indications obtenues à partir de données in vivo et in vitro sur la même substance et sur des substances structurellement voisines. En l'absence de telles informations, la dose initiale sera de 300 mg/kg.

Les animaux sont traités à 24 heures d'intervalle au moins. Tous les animaux sont observés pendant au moins quatorze jours.

Exceptionnellement, et uniquement lorsque cela est nécessaire pour satisfaire une exigence réglementaire particulière, l'utilisation d'une dose maximale prédéterminée supplémentaire de 5000 mg/kg peut être envisagée (voir Annexe 3). Par souci de protection des animaux, l'essai de substances en catégorie 5 du SGH (2000 - 5000 mg/kg) est déconseillé et ne doit être envisagé que lorsqu'il est très probable qu'il donnera des résultats qui présenteront un intérêt direct pour la protection de la santé des hommes et des animaux ou de l'environnement.

Dans le cas où un animal ayant reçu la dose prédéterminée la plus faible (5 mg/kg) mourrait au cours de l'étude d'orientation, la procédure normale est de terminer l'étude et de classer la substance en catégorie 1 du SGH (voir l'Annexe 1). Cependant, il peut s'avérer nécessaire de confirmer la classification, et la procédure facultative supplémentaire ci-après est alors proposée. Un deuxième animal reçoit une dose de 5 mg/kg. Si ce deuxième animal meurt, la classification en catégorie 1 du SGH est confirmée et l'étude prend fin immédiatement. Si le deuxième animal survit, un maximum de trois animaux supplémentaires reçoivent chacun 5 mg/kg. Étant donné le risque de mortalité élevé, il convient de procéder de manière séquentielle par souci de protection des animaux. L'intervalle de temps entre chaque administration doit être suffisant afin de pouvoir démontrer que l'animal précédent a des chances de survivre. Si un deuxième animal meurt, l'administration séquentielle sera immédiatement arrêtée et aucun autre animal ne recevra de dose. Avec la mort d'un deuxième animal (indépendamment du nombre d'animaux soumis à l'essai au moment où celui-ci est arrêté), le résultat est A (2 morts ou plus), et la règle de classification présentée à l'annexe 2 pour la dose prédéterminée de 5mg/kg s'applique: catégorie 1 s'il y a 2 morts ou plus, et catégorie 2 s'il y a seulement 1 mort. En outre, l'annexe 4 propose une méthode de classification selon le système communautaire en attendant la mise en place du nouveau SGH.

1.5.3 Étude principale

1.5.3.1 *Nombre d'animaux et niveaux des doses*

Les schémas de l'Annexe 2 indiquent la marche à suivre après administration de la dose initiale. Il y a trois possibilités : arrêter l'essai et attribuer la classification appropriée, administrer la dose prédéterminée supérieure ou administrer la dose inférieure. Cependant, par souci de protection des animaux, les doses ayant entraîné la mort au cours de l'étude d'orientation ne sont pas réappliquées lors de l'étude principale (voir annexe 2). L'expérience démontre que le résultat le plus probable à la dose initiale est que la substance pourra être classée et qu'il sera inutile de prolonger l'essai.

En général, on utilise au total cinq animaux du même sexe à chaque niveau de dose étudié. Ce groupe de cinq animaux est constitué de l'animal utilisé dans l'étude d'orientation, auquel est administrée la dose sélectionnée, et de quatre animaux supplémentaires (sauf dans les rares cas où une dose utilisée dans l'étude principale n'a pas été utilisée dans l'étude d'orientation).

L'intervalle de temps à respecter entre l'administration de chaque niveau de dose dépend du moment où se manifestent les effets toxiques, de leur durée et de leur gravité. L'administration de la dose suivante doit être retardée jusqu'à ce qu'on ait obtenu la certitude que les animaux précédemment soumis au traitement vont survivre. Un laps de temps de 3 ou 4 jours entre les administrations à chaque niveau de dose est recommandé, si nécessaire, pour permettre l'observation de signes de toxicité différée. Cet intervalle peut être ajusté selon qu'il convient, par exemple, en cas de réponse peu concluante.

Lorsque l'on envisage d'utiliser une dose prédéterminée maximale de 5000 mg/kg, il y a lieu de suivre la procédure présentée à l'annexe 3 (voir également section 1.6.2).

1.5.3.2 *Essai limite*

L'essai limite est utilisé principalement lorsque l'expérimentateur dispose d'informations indiquant que la substance d'essai n'est probablement pas toxique, c-à-d que sa toxicité ne se manifeste qu'au delà des doses limites réglementaires. Des informations concernant la toxicité de la substance d'essai peuvent être déduites des connaissances acquises sur des substances, produits ou mélanges similaires déjà testés, compte tenu de l'identité et du pourcentage des composants importants sur le plan toxicologique. Quand on ne dispose pas d'informations concernant la toxicité de la substance, ou lorsqu'on s'attend à une substance toxique, il faut effectuer l'essai principal.

Selon la procédure normale, une étude d'orientation à la dose initiale de 2000 mg/kg (exceptionnellement 5000 mg/kg), suivie du traitement de quatre animaux supplémentaires à cette même dose sert d'essai limite dans cette Ligne directrice.

1.6 OBSERVATIONS

Les animaux doivent être observés individuellement au moins une fois pendant les 30 premières minutes suivant l'administration de la substance et régulièrement pendant les premières 24 heures, avec une attention particulière au cours des 4 premières heures; l'observation doit ensuite être quotidienne, pendant 14 jours en tout, sauf dans le cas des animaux qui meurent en cours d'étude ou qui doivent être retirés de l'étude et euthanasiés pour leur épargner des souffrances excessives. Toutefois, la durée d'observation ne doit pas être fixée de manière rigide. Elle doit être fonction des réactions de toxicité, du moment où elles apparaissent et de la durée de la période de récupération. Elle peut donc être prolongée, si nécessaire. Les moments où les signes de toxicité apparaissent et disparaissent sont importants, surtout si les effets toxiques ont tendance à être différés (11). Toutes les observations sont enregistrées de façon systématique, une fiche individuelle étant établie pour chaque animal.

D'autres observations peuvent s'avérer nécessaires lorsque les animaux continuent à manifester des signes de toxicité. Les observations doivent porter sur les modifications de la peau, des poils, des yeux et des muqueuses, ainsi que de l'appareil respiratoire, du système circulatoire, du système nerveux central et autonome, de l'activité somato-motrice et du comportement. L'attention portera en particulier sur l'observation des diverses manifestations de tremblement, convulsions, salivation, diarrhée, léthargie, sommeil et coma. Les principes et critères résumés dans le Document d'orientation sur les effets sur l'homme doivent être pris en considération (8). Les animaux moribonds et les animaux souffrant manifestement ou présentant des signes graves de détresse doivent être euthanasiés. Qu'il s'agisse d'animaux euthanasiés pour raisons éthiques ou d'animaux retrouvés morts, le moment de la mort doit être enregistré de façon aussi précise que possible.

1.6.1 Poids corporel

Le poids de chaque animal doit être déterminé peu de temps avant l'administration de la substance d'essai et au moins une fois par semaine ensuite. Les variations de poids doivent être calculées et enregistrées. A la fin de l'essai, les animaux survivants sont pesés puis euthanasiés.

1.6.2 Pathologie

Tous les animaux d'essai (y compris ceux qui sont morts au cours de l'essai ou ceux qui ont été retirés de l'étude pour des raisons éthiques) doivent être soumis à une autopsie à l'échelle macroscopique. Pour chaque animal, toutes les altérations pathologiques macroscopiques doivent être enregistrées. Chez les animaux qui survivent 24 heures ou plus après administration de la dose initiale, l'examen microscopique des organes présentant des signes évidents de pathologie doit également être envisagé, car il peut fournir des renseignements utiles.

2 RÉSULTATS

Les résultats obtenus pour chaque animal doivent être présentés. Toutes les données doivent être résumées dans un tableau indiquant, pour chaque groupe d'essai, le nombre d'animaux utilisés, le nombre d'animaux présentant des signes de toxicité, le nombre d'animaux retrouvés morts pendant l'essai ou sacrifiés pour des raisons éthiques, et pour chaque animal, le moment de la mort, la description des effets toxiques et leur évolution dans le temps ainsi que leur réversibilité éventuelle et les résultats de l'autopsie.

3 RAPPORT

3.1 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit contenir, s'il y a lieu, les renseignements suivants:

Substance d'essai:

- état physique, pureté et, s'il y a lieu, propriétés physico-chimiques (compris isomérisation);
- données relatives à l'identification, y compris numéro CAS.

Véhicule (le cas échéant):

- justification du choix du véhicule, s'il ne s'agit pas d'eau.

Animaux d'essai :

- espèce/souche utilisée;
- état microbiologique des animaux, s'il est connu;
- nombre, âge et sexe des animaux (le cas échéant, justification du choix de mâles à la place de femelles);
- origine, conditions d'hébergement, régime alimentaire, etc. ;

Conditions de l'essai:

- détails sur la formulation de la substance d'essai, notamment état physique du produit administré;
- détails sur le mode d'administration, notamment volume des doses et moment de l'administration;
- détails sur la qualité de la nourriture et de l'eau (y compris le type de régime et sa provenance ainsi que celle de l'eau);
- justification du choix de la dose initiale.

Résultats:

- tableau des réactions aux différentes doses pour chaque animal (c'est-à-dire nombre d'animaux montrant des signes de toxicité, y compris mortalité, nature, gravité et durée des effets);
- tableau des poids corporels et des variations du poids;
- poids individuel des animaux le jour du traitement, et ensuite à intervalles d'une semaine, et au moment de la mort ou du sacrifice;
- date et heure de la mort si celle-ci intervient avant le moment prévu du sacrifice;
- pour chaque animal, moment d'apparition et évolution des signes de toxicité et réversibilité éventuelle;
- pour chaque animal, résultats de l'autopsie et observations histopathologiques.

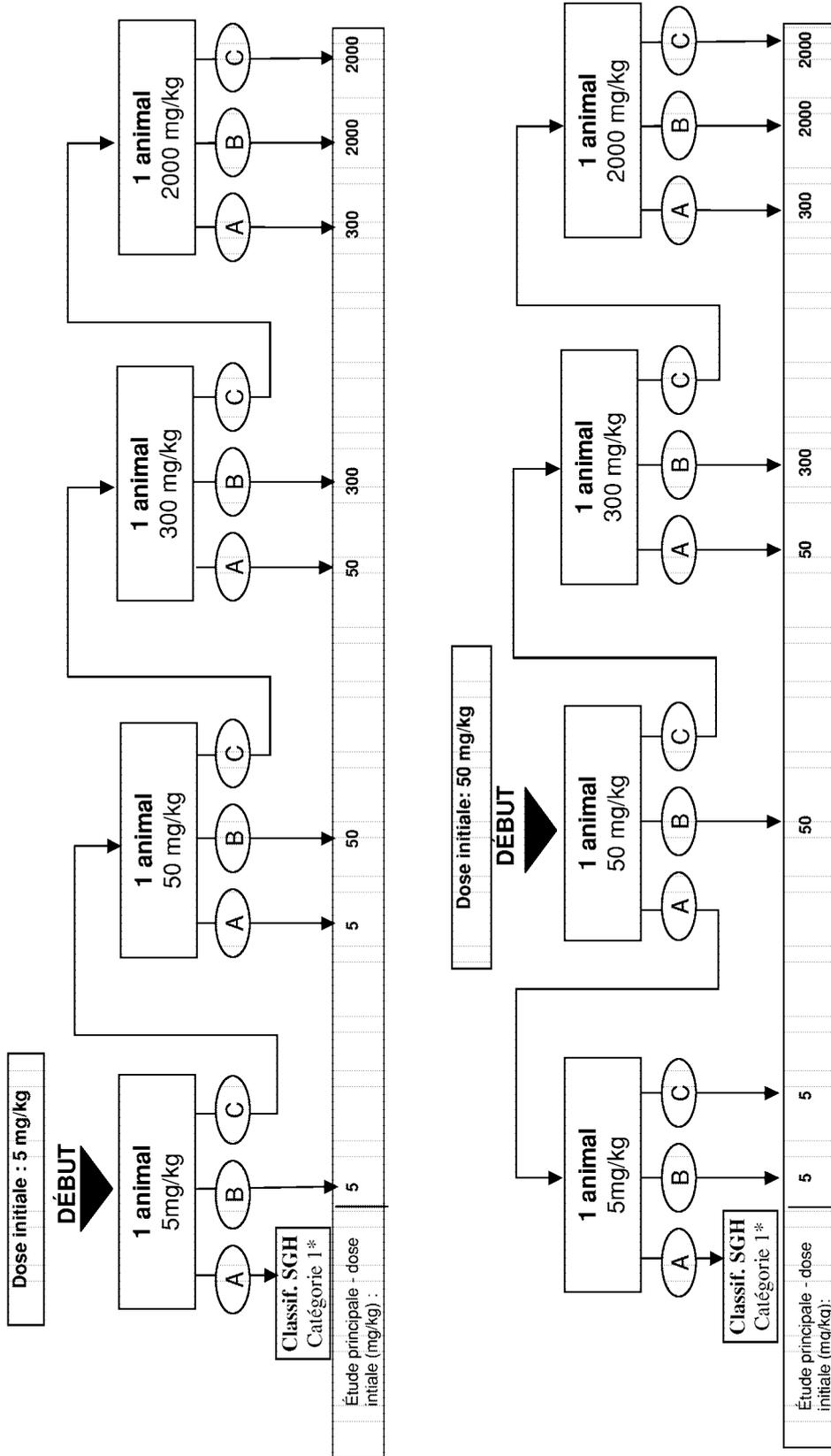
Discussion et interprétation des résultats.

Conclusions.

4 BIBLIOGRAPHIE

- (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. Environmental Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment No 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 No 19.
- (9) OECD (1998). Harmonised Integrated Hazard Classification for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals in November 1998, Part 2, p.11 [<http://webnet1.oecd.org/oecd/pages/home/displaygeneral/0,3380,EN-documents-521-14-no-24-no-0,FF.html>].
- (10) Lipnick, R.L., Cotruvo, J.A., Hill, R.N., Bruce, R.D., Stitzel, K.A., Walker, A.P., Chu, I., Goddard, M., Segal, L., Springer, J.A. and Myers, R.C. (1995). Comparison of the Up-and-Down, Conventional 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. 3rd Edition. A.W. Hayes, Editor. Raven Press, Ltd. New York, USA.

ANNEXE 1: SCHÉMA POUR L'ÉTUDE D'ORIENTATION

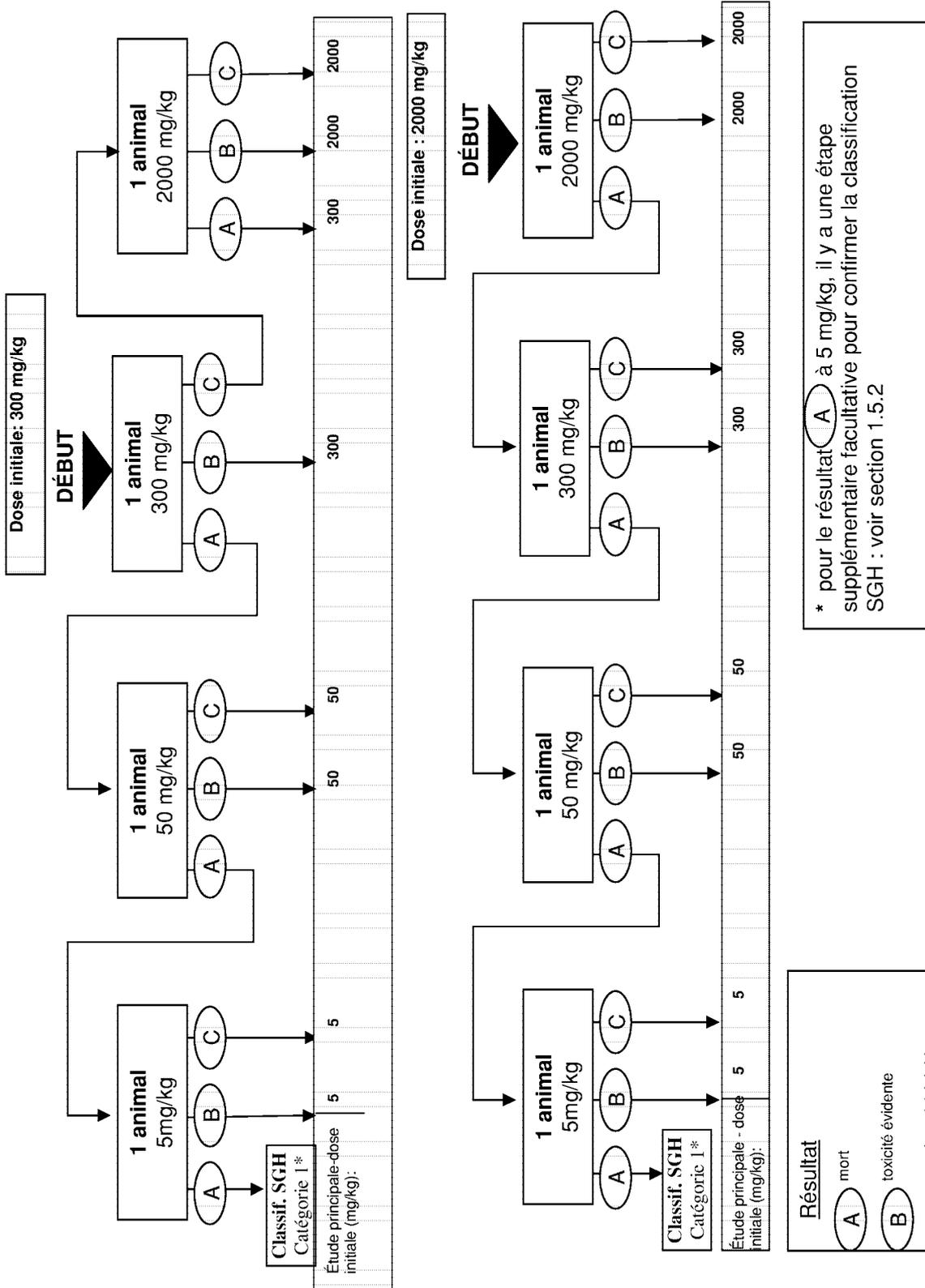


Résultat

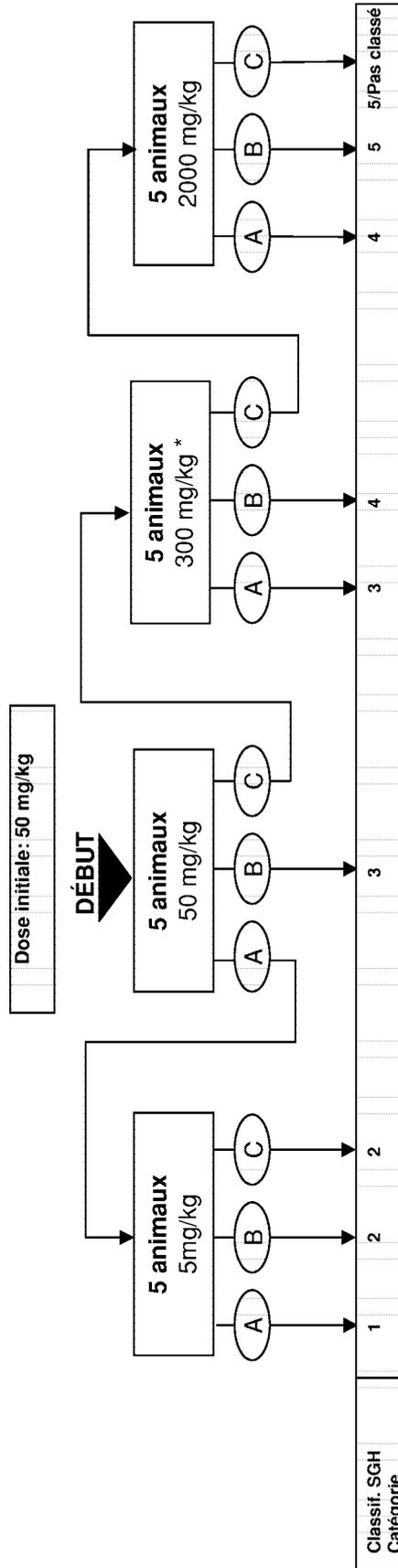
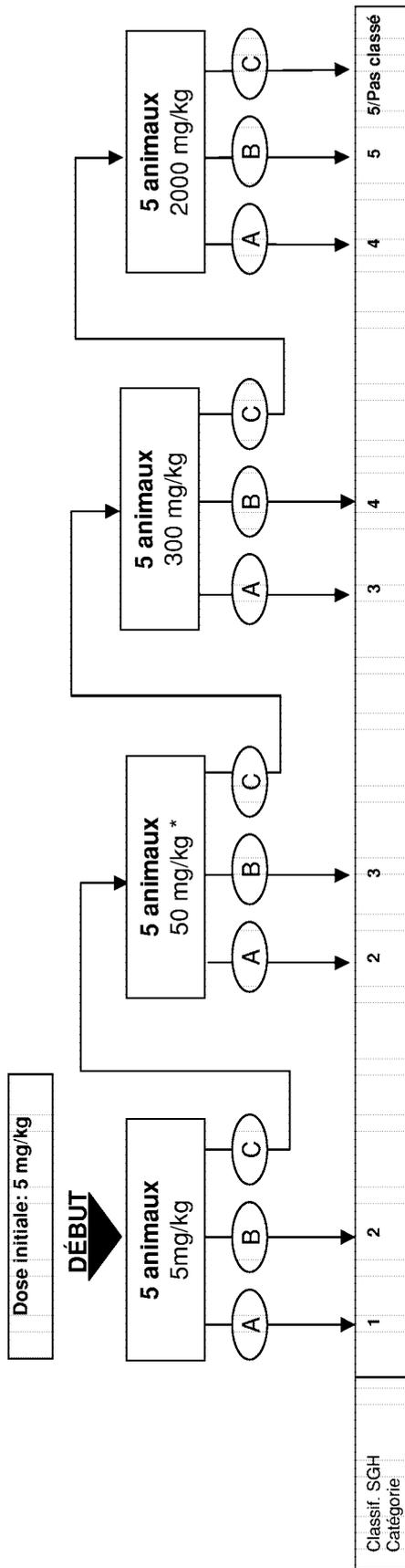
- A mort
- B toxicité évidente
- C pas de toxicité/pas de mortalité

* pour le résultat A à 5 mg/kg, il y a une étape supplémentaire facultative pour confirmer la classification SGH: voir section 1.5.2.

ANNEXE 1: SCHEMA POUR L'ETUDE D'ORIENTATION



ANNEXE 2: SCHÉMA POUR L'ÉTUDE PRINCIPALE



Résultat

A ≥ 2 morts

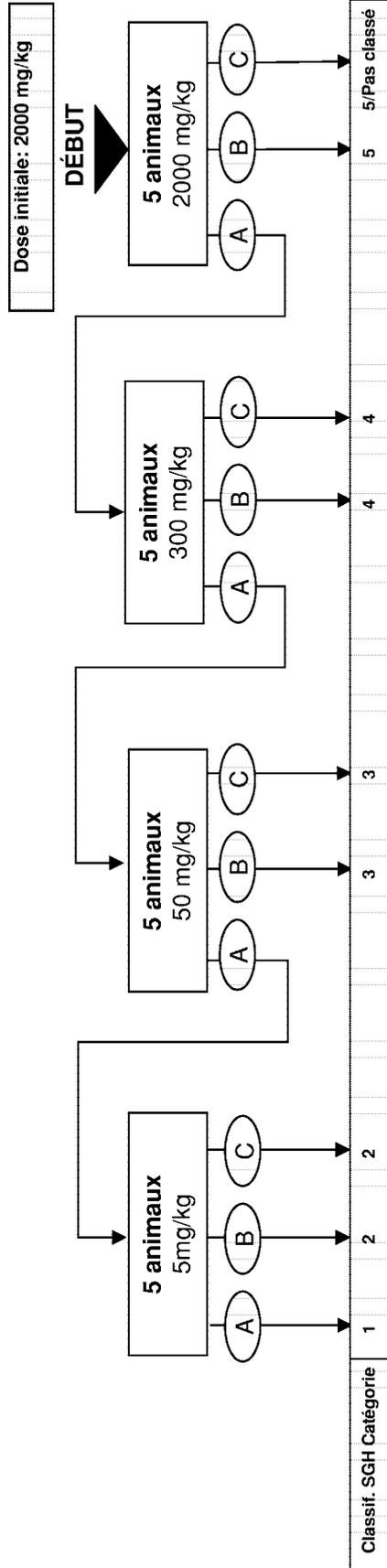
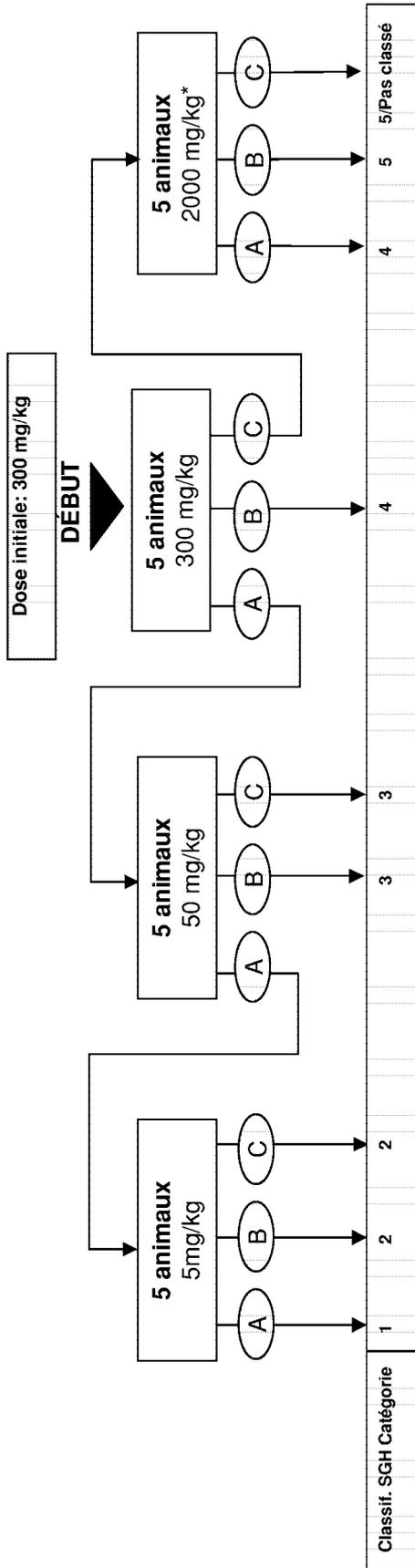
B ≥ 1 avec toxicité évidente et/ou 1 mort

C Pas de toxicité, pas de mortalité

Taille du groupe
 Dans l'étude principale, les 5 animaux de chaque groupe incluent tout animal testé à ce niveau de dose dans l'étude d'orientation

***Prépondérance des considérations de protection des animaux**
 Si cette dose a provoqué la mort d'animaux dans l'étude d'orientation, aucun autre animal ne sera testé. Allez directement au résultat **A**

ANNEXE 2: SCHÉMA POUR L'ÉTUDE PRINCIPALE



Résultat

A ≥ 2 morts

B ≥ 1 avec toxicité évidente/ou 1 mort

C Pas de toxicité, pas de mortalité

Taille du groupe
 Dans l'étude principale, les 5 animaux de chaque groupe incluent tout animal testé à ce niveau de dose dans l'étude d'orientation

***Prépondérance des considérations de protection des animaux**
 Si cette dose a provoqué la mort d'animaux dans l'étude d'orientation, aucun autre animal ne sera testé. Allez directement au résultat A

ANNEXE 3

CRITÈRES POUR LA CLASSIFICATION DE SUBSTANCES D'ESSAI DONT ON PRÉSUME QUE LA DL₅₀ EST SUPÉRIEURE À 2000 MG/KG, SANS RECOURIR À L'ESSAI

Les critères pour la catégorie de danger 5 sont destinés à permettre l'identification de substances qui ont une toxicité aiguë relativement faible mais qui, dans certaines conditions, peuvent se révéler dangereuses pour des populations vulnérables. Ces substances sont présumées avoir une DL₅₀ orale ou cutanée comprise dans la plage 2000-5000 mg/kg ou correspondant à des doses équivalentes par d'autres voies. Des substances d'essai peuvent être classées dans la catégorie SGH de danger 5, définie par $2000 \text{ mg/kg} < DL_{50} < 5000 \text{ mg/kg}$, dans les cas suivants:

- a) lorsque, en fonction de la mortalité, l'un des schémas de l'Annexe 2 oriente la substance vers cette catégorie;
- b) lorsque l'on est déjà en possession de données fiables indiquant que la DL₅₀ se situera dans la plage des valeurs de la catégorie 5; ou lorsque d'autres études sur des animaux ou l'observation d'effets toxiques chez l'homme suscitent de sérieuses inquiétudes pour la santé humaine;
- c) par extrapolation, évaluation ou mesure de données, lorsque la classification dans une catégorie de plus grand danger n'est pas justifiée et
 - il existe des informations fiables faisant état d'effets toxiques significatifs chez l'homme, ou
 - une certaine mortalité est observée en testant par voie orale jusqu'aux valeurs de la catégorie 4, ou
 - lorsqu'un jugement d'expert confirme l'existence de signes cliniques significatifs de toxicité lors d'un essai mené jusqu'aux valeurs de la catégorie 4, hormis diarrhée, hérissément des poils ou aspect mal soigné, ou
 - quand un jugement d'expert confirme l'existence d'informations fiables indiquant la possibilité d'effets aigus significatifs d'après les résultats des autres études sur animaux.

ESSAIS À DOSES SUPÉRIEURES À 2000 MG/KG

Exceptionnellement, et uniquement lorsque cela est nécessaire pour satisfaire une exigence réglementaire particulière, l'utilisation d'une dose maximale supplémentaire de 5000 mg/kg peut être envisagée. Par souci de protection des animaux, l'essai de substances à la dose de 5000 mg/kg est déconseillé et ne devrait être envisagé que lorsqu'il est fort probable que les résultats d'un tel essai présenteront un intérêt direct pour la protection de la santé des hommes et des animaux (9).

Étude d'orientation

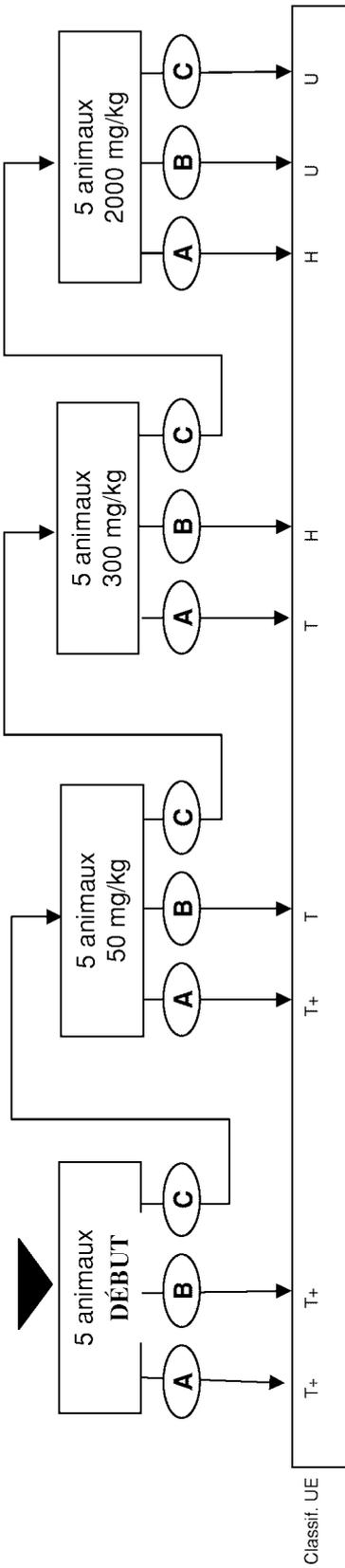
Les critères de décision de la procédure séquentielle présentée en Annexe 1 sont étendus de manière à s'appliquer également à une dose de 5000 mg/kg. Ainsi, lorsqu'une dose initiale de 5000 mg/kg est utilisée dans l'étude d'orientation et que le résultat A (mortalité) est obtenu, il faut tester un deuxième animal à 2000 mg/kg; si le premier résultat est B ou C (toxicité évidente ou pas de toxicité), on pourra choisir 5000 mg/kg comme dose initiale dans l'étude principale. De même, si on choisit une dose initiale différente de 5000 mg/kg, l'essai se poursuivra à la dose de 5000 mg/kg en cas d'obtention d'un résultat B ou C à 2000 mg/kg. L'obtention d'un nouveau résultat A à 5000mg/kg imposera une dose initiale de 2000 mg/kg pour l'étude principale, alors qu'un résultat B ou C imposera 5000 mg/kg comme dose initiale pour cette étude.

Étude principale

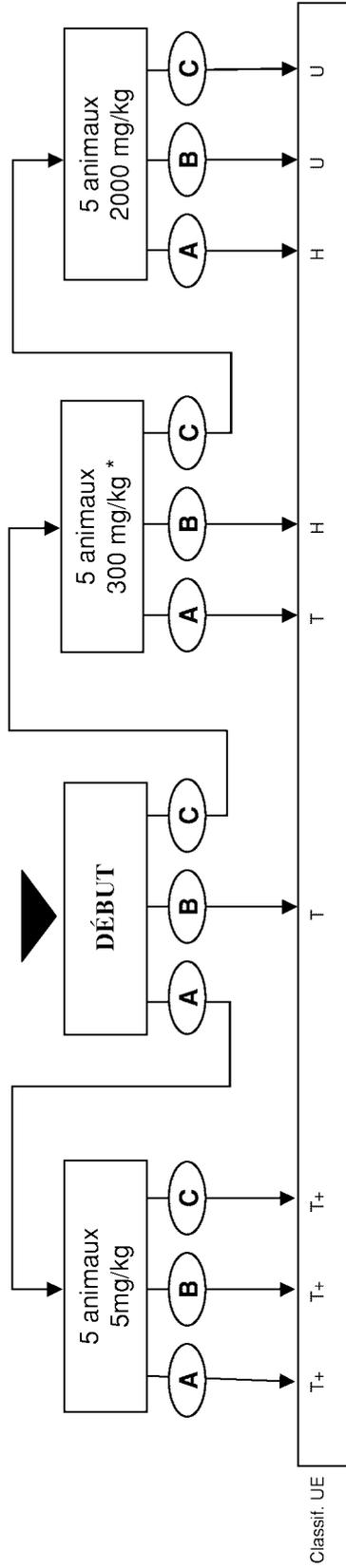
Les critères de décision de la procédure séquentielle présentée en Annexe 2 sont étendus de manière à s'appliquer également à une dose de 5000 mg/kg. Ainsi, lorsqu'une dose initiale de 5000 mg/kg est utilisée dans l'étude principale et que le résultat A (≥ 2 morts) est obtenu, il faut tester un second groupe à 2000 mg/kg; Si le premier résultat est B (toxicité évidente et/ou ≤ 1 mort) ou C (pas de toxicité), la substance ne sera pas classée dans le cadre du SGH. De façon similaire, si une dose initiale différente de 5000 mg/kg est choisie, l'essai se poursuivra à la dose de 5000mg/kg en cas d'obtention d'un résultat C à 2000 mg/kg. L'obtention d'un nouveau résultat A à 5000mg/kg entraînera la classification de la substance dans la catégorie 5 du SGH; si le résultat obtenu est B ou C, la substance ne sera pas classée dans le cadre du SGH.

ANNEXE 4 :
MÉTHODE D'ESSAI B.1 bis – Conseils pour une classification selon le système de l'UE en attendant la mise en place effective du système général harmonisé de classification (SGH) (voir référence (8))

Dose initiale: 5 mg/kg



Dose initiale: 50 mg/kg



Résultat

A ≥ 2 morts

B ≥ 1 avec toxicité évidente/ou 1 mort

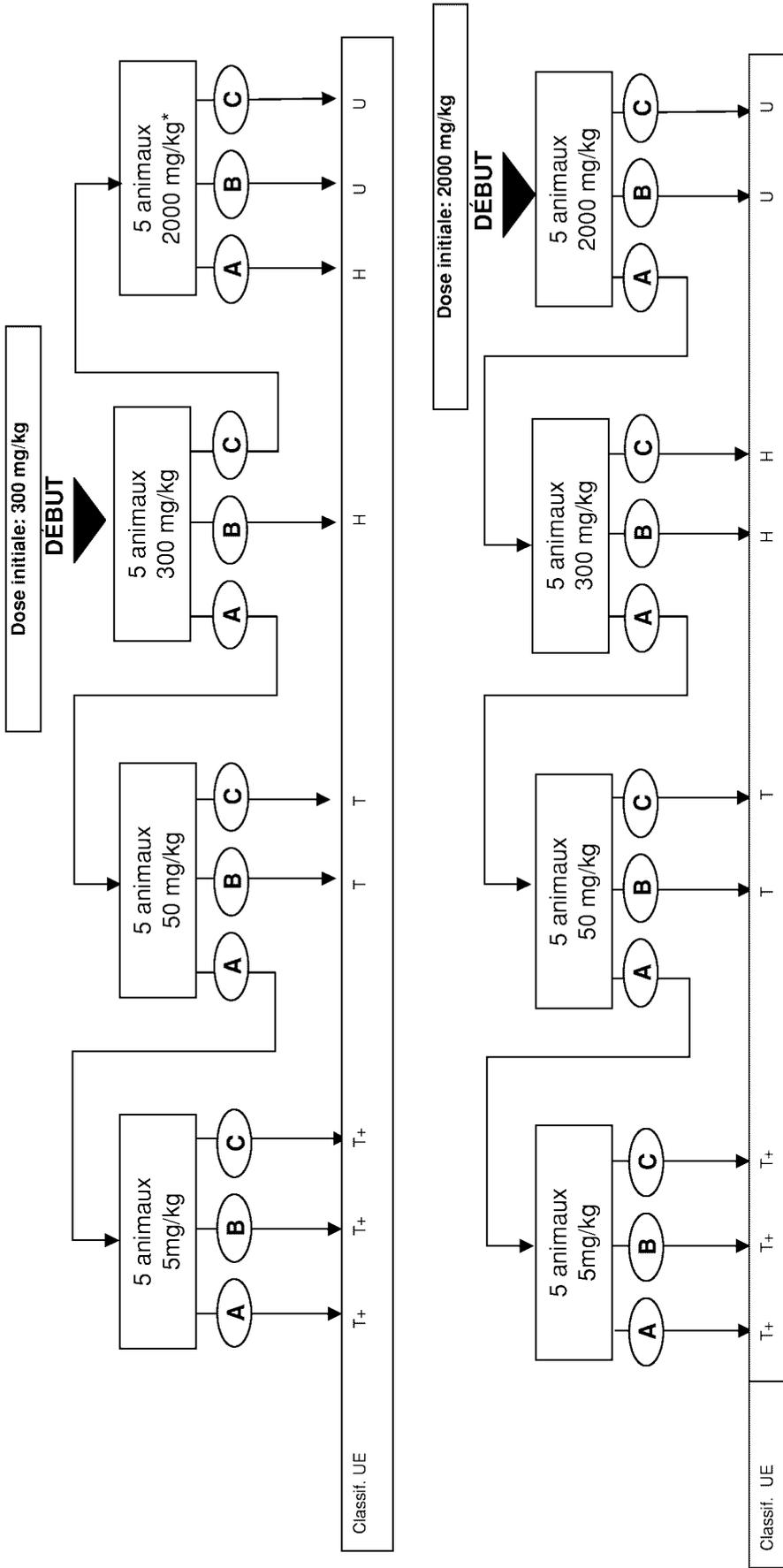
C Pas de toxicité, pas de mortalité

T+ = très toxique
 T = toxique
 H = nocif
 U = non classé

* Prépondérance des considérations de protection des animaux : Si cette dose a provoqué la mort d'animaux dans l'étude d'orientation, aucun autre animal ne sera testé. Allez directement au résultat **A**

Taille du groupe : dans l'étude principale, les 5 animaux de chaque groupe incluent tout animal testé à ce niveau de dose dans l'étude d'orientation

ANNEXE 4:
MÉTHODE D'ESSAI B.1 bis – Conseils pour une classification selon le système de l'UE en attendant la mise en place effective du système général harmonisé de classification (SGH) (voir référence (8))



<p>Résultat</p> <p>A ≥ 2 morts</p> <p>B ≥ 1 avec toxicité évidente /ou 1 mort</p> <p>C Pas de toxicité, pas de mortalité</p>	<p>T+ = très toxique T = toxique H = nocif U = non classé</p>	<p>Taille du groupe Dans l'étude principale, les 5 animaux de chaque groupe incluent tout animal testé à ce niveau de dose dans l'étude d'orientation</p>	<p>*Prépondérance des considérations de protection des animaux : Si cette dose a provoqué la mort d'animaux dans l'étude d'orientation, aucun autre animal ne sera testé. Allez directement au résultat A</p>
--	--	---	--

ANNEXE 2C

B.1 tris. TOXICITÉ ORALE AIGUË - MÉTHODE DE LA CLASSE DE TOXICITÉ AIGUË

1. MÉTHODE

Cette méthode d'essai est équivalente à la ligne directrice 423 (2001) de l'OCDE.

1.1 INTRODUCTION

La méthode de la classe de toxicité aiguë (1) décrite dans cet essai est une procédure séquentielle qui utilise trois animaux de même sexe à chaque étape. Suivant la mortalité et/ou l'état moribond des animaux, deux à quatre étapes sont en moyenne nécessaires pour évaluer la toxicité aiguë de la substance d'essai. Cette procédure est reproductible, utilise très peu d'animaux et permet de classer des substances par ordre de toxicité de la même manière que les autres méthodes de toxicité aiguë. La méthode par classe de toxicité aiguë est basée sur des évaluations biométriques (2)(3)(4)(5) avec des doses prédéterminées, convenablement espacées de manière à permettre le classement des substances les unes par rapport aux autres aux fins de l'évaluation des dangers. La méthode, telle qu'elle a été adoptée en 1996, a été largement validée *in vivo* par rapport aux données de DL₅₀ issues de la littérature, tant sur le plan national (6) qu'international (7).

Des indications permettant de choisir la méthode d'essai la plus appropriée pour un but donné sont présentées dans le Document d'orientation sur les essais de toxicité orale aiguë (8). Ce document contient également de plus amples informations sur la conduite et l'interprétation de la méthode d'essai B.1.tris.

Il n'est pas nécessaire d'administrer des substances d'essai à des niveaux de dose dont on sait qu'elles provoquent des douleurs et une détresse importante du fait des propriétés corrosives ou sévèrement irritantes. Au cours de l'essai, les animaux moribonds et les animaux souffrant de façon manifeste ou montrant des signes de détresse grave devront être euthanasiés. Ces animaux devront être pris en compte dans l'interprétation des résultats, au même titre que les animaux morts pendant l'essai. Les critères pour décider de tuer les animaux moribonds et ceux qui souffrent de façon manifeste ainsi que des orientations pour reconnaître une mort prévisible ou imminente font l'objet d'un autre document d'orientation (9).

La méthode utilise des doses prédéterminées et donne des résultats qui permettent le classement des substances selon le Système général harmonisé de classification (SGH) des substances ayant une toxicité aiguë (10).

En principe, la méthode ne vise pas à calculer une valeur précise de DL₅₀, mais elle permet déterminer dans quelle gamme de doses la substance doit être considérée comme létale, puisque la mort d'une partie des animaux reste le principal effet observé dans cet essai. La méthode permet de déterminer une DL₅₀ uniquement dans le cas où au moins deux doses donnent une mortalité supérieure à 0% et inférieure à 100%. Grâce à l'utilisation d'un choix de doses prédéterminées, indépendamment de la substance d'essai, et au lien explicite entre classification et nombre d'animaux dans différents états observés, la cohérence entre laboratoires est favorisée.

Le laboratoire doit rassembler toutes les informations disponibles sur la substance d'essai avant de procéder à l'essai. Ces informations comprennent l'identité et la structure chimique de la substance, ses propriétés physico-chimiques, le résultat de tout autre essai de toxicité réalisé *in vivo* ou *in vitro* sur la substance, les données toxicologiques concernant des substances structurellement apparentées, ainsi que le ou les usages escomptés de la substance. Ces informations sont nécessaires pour rassurer les personnes concernées quant à la pertinence de l'essai pour la protection de la santé humaine et elles seront utiles dans le choix de la dose initiale appropriée.

1.2 DÉFINITIONS

Toxicité orale aiguë : effets défavorables apparaissant après l'administration par voie orale d'une dose unique de substance ou de plusieurs doses données sur une période de 24 heures.

Mort différée: l'animal ne meurt ni n'apparaît moribond en l'espace de 48 heures, mais meurt ultérieurement au cours de la période d'observation de 14 jours

Dose: la quantité de substance d'essai administrée. La dose s'exprime en poids de substance d'essai par unité de poids de l'animal d'expérience (par exemple, mg/kg).

SGH: Système général harmonisé de classification et d'étiquetage. Une activité conjointe de l'OCDE (santé humaine et environnement), du Comité d'experts sur le transport des matières dangereuses (propriétés physico-chimiques) et du B.I.T (communication des dangers) et coordonnée par IOMC (Interorganisation Programme for the Sound Management of Chemicals).

Mort imminente : il y a mort imminente lorsqu'on s'attend à ce qu'un état moribond ou la mort interviennent avant le prochain moment d'observation prévu. Parmi les signes qui sont indicatifs de cet état chez les rongeurs il y a les convulsions, la position latérale, la position couchée et les tremblements [pour de plus amples détails voir (9)].

DL₅₀ (dose orale létale 50%) : dose unique d'une substance d'essai, obtenue par calcul statistique, susceptible d'entraîner la mort de 50 pour cent des animaux lorsqu'elle est administrée par voie orale. La valeur de la DL₅₀ est exprimée en poids de la substance d'essai par unité de poids corporel de l'animal d'expérience (mg/kg).

Dose limite : désigne une dose qui est la limite supérieure pour l'essai (2000 ou 5000 mg/kg).

État moribond: l'état avant la mort ou l'incapacité à survivre, même si un traitement est donné [pour de plus amples détails voir (9)].

Mort prévisible: présence de signes cliniques indiquant que la mort va intervenir à un moment déterminé dans le futur, avant la fin projetée de l'expérience, par exemple : incapacité à atteindre l'eau ou la nourriture [pour plus de détails voir (9)].

1.3 PRINCIPE DE L'ESSAI

Le principe de cet essai est qu'avec un processus séquentiel et un nombre minimal d'animaux par étape, il est possible d'obtenir des informations sur la toxicité aiguë de la substance d'essai qui sont suffisantes aux fins de sa classification. Une dose déterminée de la substance est administrée par voie orale à un groupe d'animaux. La substance est testée selon une procédure séquentielle utilisant trois animaux de même sexe (généralement des femelles) à chaque étape. L'absence ou la manifestation de mortalité liée à la substance dans un groupe ayant reçu une dose à une étape donnée détermine l'étape suivante, c'est-à-dire:

- arrêt de l'essai,
- administration de la même dose à trois animaux supplémentaires,
- administration de la dose immédiatement supérieure ou immédiatement inférieure à trois animaux supplémentaires.

Des détails concernant le mode opératoire sont décrits en Annexe 1. La méthode permet de se prononcer sur la classification de la substance d'essai dans une classe de toxicité délimitée par des valeurs préalablement fixées de DL₅₀.

1.4 DESCRIPTION DE LA MÉTHODE

1.4.1 **Choix de l'espèce animale**

Le rat est l'espèce préférée mais d'autres espèces de rongeurs peuvent être utilisées. Normalement, on utilise des femelles (9). L'étude de la littérature sur les essais traditionnels de DL₅₀ montre en effet qu'il y a peu de différence de sensibilité entre sexes et que, lorsqu'il y a des différences, les femelles sont en général légèrement plus sensibles (11). Si toutefois, compte tenu des propriétés toxicologiques et toxicocinétiques de composés structurellement voisins, il apparaît que les mâles sont probablement plus sensibles, il convient d'employer des mâles. Dans ce cas, il faut fournir une justification adéquate.

On utilise de jeunes animaux adultes sains, issus de souches couramment utilisées en laboratoire. Les femelles doivent être nullipares et non gravides. Au début de l'essai, chaque animal doit être âgé de 8 à 12 semaines et son poids doit se situer dans un intervalle de $\pm 20\%$ du poids moyen des animaux précédemment exposés.

1.4.2 **Conditions d'hébergement et d'alimentation**

La température du local des animaux d'expérience doit être de 22°C ($\pm 3^\circ\text{C}$). L'humidité relative doit atteindre au moins 30 pour cent et rester de préférence inférieure à 70 pour cent, mais en dehors des heures de nettoyage du local, on s'efforcera de maintenir le taux d'humidité autour de 50 à 60 pour cent. On appliquera un éclairage artificiel alternant 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Pour l'alimentation des animaux, on peut utiliser la nourriture classique de laboratoire avec de l'eau potable à satiété. Les animaux peuvent être groupés par dose. Toutefois, le nombre d'animaux par cage ne doit pas faire obstacle à une observation précise de chaque animal.

1.4.3 **Préparation des animaux**

Les animaux sont choisis au hasard, marqués pour permettre une identification individuelle et gardés dans leurs cages pour les acclimater aux conditions de laboratoire pendant au moins cinq jours avant l'expérience.

1.4.4 **Préparation des doses**

En général, il convient d'administrer la substance d'essai à volume constant quelle que soit la dose testée, en faisant varier la concentration de la préparation. Lorsqu'un produit liquide ou un mélange fait l'objet de l'essai, l'utilisation du produit non dilué, donc à concentration constante, peut être plus appropriée pour l'évaluation du risque de cette substance. Certaines autorités réglementaires l'exigent. Dans tous les cas, il ne faut pas dépasser le volume de dose maximal. Le volume maximal de liquide pouvant être administré en une seule fois dépend de la taille de l'animal d'essai. Chez les rongeurs, ce volume ne doit pas dépasser 1 ml/100 g de poids corporel, sauf dans le cas de solutions aqueuses pour lesquelles on peut utiliser 2 ml/100 g de poids corporel. Il est recommandé d'utiliser une solution aqueuse chaque fois que cela est possible, sinon on peut utiliser une solution dans de l'huile (par exemple de l'huile de maïs) et éventuellement une solution dans d'autres véhicules. En ce qui concerne les véhicules non aqueux, leur toxicité doit être connue. Les doses doivent être préparées juste avant l'administration sauf si la stabilité de la préparation pendant la durée de la période d'utilisation est connue et jugée acceptable.

1.5 MODE OPÉRATOIRE

1.5.1 **Administration des doses**

La substance d'essai est administrée en une seule dose en utilisant une sonde gastrique ou toute autre canule pour intubation appropriée. Lorsqu'il n'est pas possible d'administrer la dose en une seule fois, celle-ci peut être fractionnée sur une période n'excédant pas 24 heures.

Les animaux doivent être à jeun avant l'administration de la substance (on supprimera la nourriture, mais pas l'eau, pendant toute une nuit pour les rats et pendant 3 à 4 heures pour les souris). Après la période de jeûne, les animaux doivent être pesés; la substance d'essai leur est ensuite administrée. Après l'administration de la substance, les animaux peuvent être à nouveau privés de nourriture, pendant 3 à 4 heures pour les rats et pendant 1 à 2 heures pour les souris. Si la dose est administrée par fractions sur un certain laps de temps, il peut s'avérer nécessaire, en fonction de la durée du traitement, d'alimenter et de faire boire les animaux.

1.5.2 Nombre d'animaux et niveaux des doses

Trois animaux sont utilisés à chaque étape. Pour la dose initiale, on choisit un niveau parmi les quatre suivants: 5, 50, 300 et 2 000 mg/kg de poids corporel. Le niveau choisi est celui pour lequel on peut s'attendre à observer une mortalité chez les animaux traités. Les schémas de l'Annexe 1 décrivent la marche à suivre pour chacune des doses initiales. En outre, l'annexe 4 propose une méthode de classification selon le système communautaire en attendant la mise en place du nouveau SGH.

Lorsque certaines informations donnent à penser qu'il est peu probable que la dose initiale la plus élevée (2000 mg/kg de poids corporel) provoque une mortalité, il convient de procéder à un essai limite. En l'absence de telles informations sur la substance d'essai, la dose initiale qui est recommandée par souci de protection des animaux est 300 mg/kg de poids corporel.

L'intervalle de temps à respecter entre l'administration de chaque niveau de dose dépend du moment où se manifestent les effets toxiques, de leur durée et de leur gravité. L'administration de la dose suivante doit être retardée jusqu'à ce qu'on ait obtenu la certitude que les animaux précédemment soumis au traitement vont survivre.

Exceptionnellement, et uniquement lorsque cela est nécessaire pour satisfaire une exigence réglementaire particulière, l'utilisation d'une dose maximale prédéterminée supplémentaire de 5000 mg/kg peut être envisagée (voir Annexe 2). Par souci de protection des animaux, l'essai de substances en catégorie 5 du SGH (2000 - 5000 mg/kg) est déconseillé et ne doit être envisagé que lorsqu'il est très probable qu'il donnera des résultats qui présenteront un intérêt direct pour la protection de la santé des hommes et des animaux ou de l'environnement

1.5.3 Essai limite

L'essai limite est utilisé principalement lorsque l'expérimentateur dispose d'informations indiquant que la substance d'essai n'est probablement pas toxique, c-à-d que sa toxicité ne se manifeste qu'au delà des doses limites réglementaires. Des informations concernant la toxicité de la substance d'essai peuvent être déduites des connaissances acquises sur des substances, produits ou mélanges similaires déjà testés, compte tenu de l'identité et du pourcentage des composants importants sur le plan toxicologique. Quand on ne dispose pas d'informations concernant la toxicité de la substance, ou lorsqu'on s'attend à une substance toxique, il faut effectuer l'essai principal.

Un essai limite à la dose de 2000 mg/kg peut être effectué sur six animaux (trois animaux par étape). Exceptionnellement, un essai limite à la dose de 5000 mg/kg peut être réalisé sur trois animaux (voir Annexe 2). Si une mortalité liée à la substance est observée, il peut s'avérer nécessaire de poursuivre l'essai à la dose immédiatement inférieure.

1.6 OBSERVATIONS

Les animaux doivent être observés individuellement au moins une fois pendant les 30 premières minutes suivant l'administration de la substance et régulièrement pendant les premières 24 heures, avec une attention particulière au cours des 4 premières heures; l'observation doit ensuite être quotidienne, pendant 14 jours en tout, sauf dans le cas des animaux qui meurent en cours d'étude ou qui doivent être retirés de l'étude et euthanasiés pour leur épargner des souffrances excessives. Toutefois, la durée d'observation ne doit pas être fixée de manière rigide. Elle doit être fonction des réactions de toxicité, du moment où elles apparaissent et de la durée de la période de récupération. Elle peut donc être prolongée, si nécessaire. Les moments où apparaissent et disparaissent les signes de toxicité sont importants, particulièrement quand on constate un certain retard dans l'apparition de ces signes (12) Toutes les observations sont enregistrées de façon systématique, une fiche individuelle étant établie pour chaque animal.

D'autres observations peuvent s'avérer nécessaires lorsque les animaux continuent à manifester des signes de toxicité. Les observations doivent porter sur les modifications de la peau, des poils, des yeux et des muqueuses, ainsi que de l'appareil respiratoire, du système circulatoire, du système nerveux central et autonome, de l'activité somato-motrice et du comportement. L'attention portera en particulier sur l'observation des diverses manifestations de tremblement, convulsion, salivation, diarrhée, léthargie, sommeil et coma. Les principes et critères résumés dans le Document d'orientation sur les effets sur l'homme doivent être pris en considération (9). Les animaux moribonds et les animaux souffrant manifestement ou présentant des signes graves de détresse doivent être euthanasiés. Qu'il s'agisse d'animaux euthanasiés pour raisons éthiques ou d'animaux retrouvés morts, le moment de la mort doit être enregistré de façon aussi précise que possible.

1.6.1 **Poids corporel**

Le poids de chaque animal doit être déterminé peu de temps avant l'administration de la substance d'essai, et au moins une fois par semaine ensuite. Les variations de poids doivent être calculées et enregistrées. A la fin de l'essai, les animaux survivants sont pesés puis euthanasiés.

1.6.2 **Pathologie**

Tous les animaux (y compris ceux qui sont morts au cours de l'essai ou ceux qui ont été retirés de l'étude pour des raisons éthiques) doivent être soumis à une autopsie à l'échelle macroscopique. Pour chaque animal, toutes les altérations pathologiques macroscopiques doivent être enregistrées. Chez les animaux qui survivent 24 heures ou plus à l'administration de la dose initiale, l'examen microscopique des organes présentant des signes évidents de pathologie doit également être envisagé, car il peut fournir des renseignements utiles.

2. **RÉSULTATS**

Les résultats obtenus pour chaque animal doivent être présentés. Toutes les données doivent être résumées dans un tableau indiquant, pour chaque groupe d'essai, le nombre d'animaux utilisés, le nombre d'animaux présentant des signes de toxicité, le nombre d'animaux retrouvés morts pendant l'essai ou sacrifiés pour des raisons éthiques, et pour chaque animal, le moment de la mort, la description des effets toxiques et leur évolution dans le temps ainsi que leur réversibilité éventuelle et les résultats de l'autopsie.

3. **RAPPORT**

3.1 **Rapport d'essai**

Le rapport d'essai doit contenir, s'il y a lieu, les renseignements suivants:

Substance d'essai:

- état physique, pureté et, s'il y a lieu, propriétés physico-chimiques (compris isomérisation);
- données relatives à l'identification, y compris numéro CAS.

Véhicule (le cas échéant):

- justification du choix du véhicule, s'il ne s'agit pas d'eau.

Animaux d'essai:

- espèce/souche utilisée;
- état microbiologique des animaux, s'il est connu;
- nombre, âge et sexe des animaux (le cas échéant, justification du choix de mâles à la place de femelles);
- origine, conditions d'hébergement, régime alimentaire, etc. ;

Conditions de l'essai:

- détails sur la formulation de la substance d'essai, notamment état physique du produit administré;
- détails sur le mode d'administration, notamment volume des doses et moment de l'administration;
- détails sur la qualité de la nourriture et de l'eau (y compris le type de régime et sa provenance ainsi que celle de l'eau);
- justification du choix de la dose initiale.

Résultats:

- tableau des réactions aux différentes doses pour chaque animal (c'est-à-dire nombre d'animaux montrant des signes de toxicité, y compris mortalité; nature, gravité et durée des effets);
- tableau des poids corporels et des variations du poids;
- poids individuels des animaux le jour du traitement, et ensuite à intervalles d'une semaine, ainsi qu'au moment de la mort ou du sacrifice;
- date et heure de la mort si celle-ci intervient avant le moment prévu du sacrifice;
- pour chaque animal, moment d'apparition et évolution des signes de toxicité et réversibilité éventuelle;
- pour chaque animal, résultats de l'autopsie et observations histopathologiques le cas échéant.

Discussion et interprétation des résultats.

Conclusions.

4

BIBLIOGRAPHIE

- (1) Roll R., Höfer-Bosse Th. and Kayser D. (1986). New Perspectives in Acute Toxicity Testing of Chemicals. *Toxicol. Lett.*, Suppl. 31, 86
- (2) Roll R., Riebschläger M., Mischke U. and Kayser D. (1989). Neue Wege zur Bestimmung der akuten Toxizität von Chemikalien. *Bundesgesundheitsblatt* 32, 336-341.
- (3) Diener W., Sichha L., Mischke U., Kayser D. and Schlede E. (1994). The Biometric Evaluation of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). *Arch. Toxicol.* 68, 559-610
- (4) Diener W., Mischke U., Kayser D. and Schlede E. (1995). The Biometric Evaluation of the OECD Modified Version of the Acute-Toxic-Class Method (Oral). *Arch. Toxicol.* 69, 729-734.
- (5) Diener W., and Schlede E. (1999) Acute Toxicity Class Methods: Alterations to LD/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-no-24-no-0,FF.html>].

- (11) Lipnick R L, Cotruvo, J A, Hill R N, Bruce R D, Stitzel K A, Walker A P, Chu I; Goddard M, Segal L, Springer J A and Myers R C (1995) Comparison of the Up-and Down, Conventional 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.

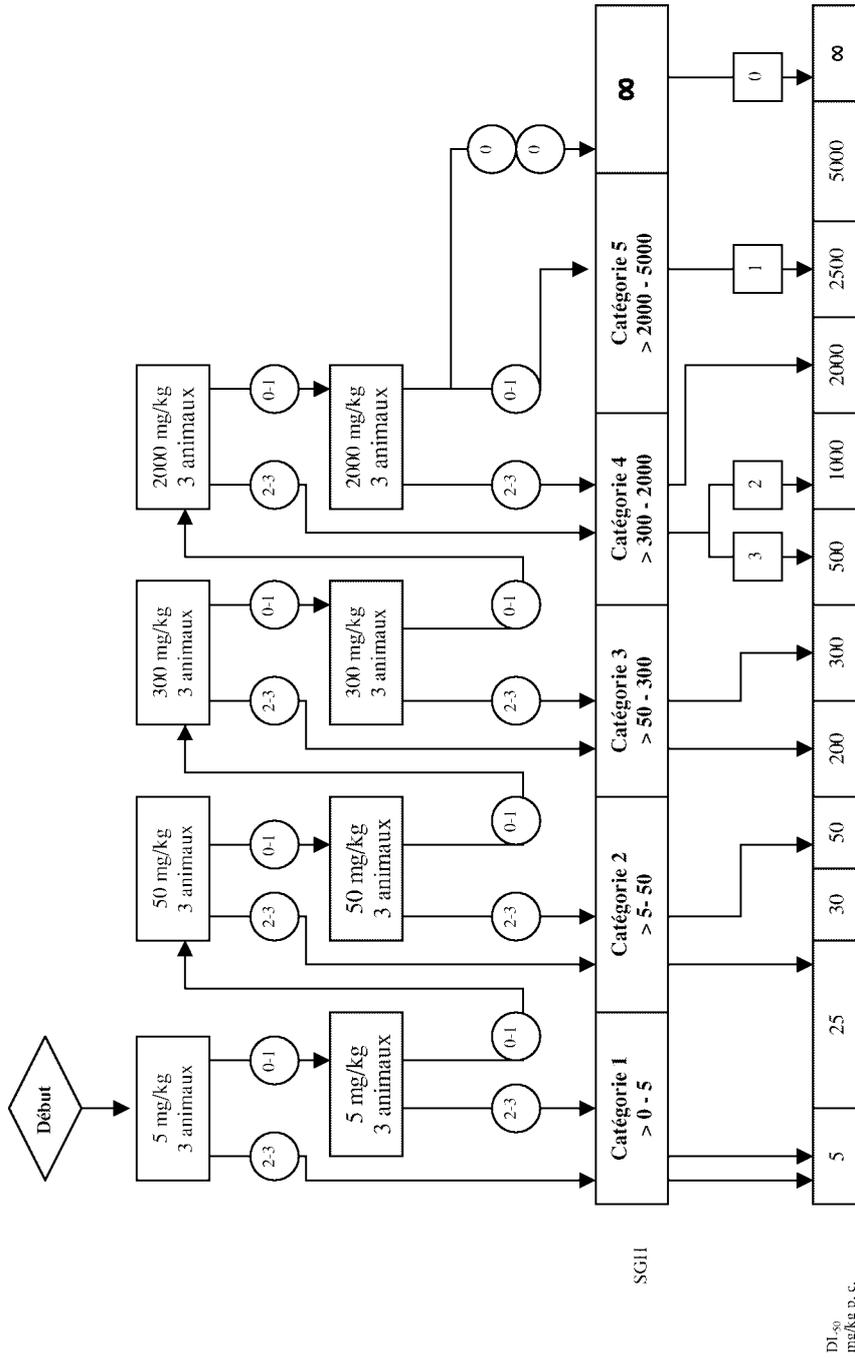
ANNEXE 1**MARCHE À SUIVRE POUR CHACUNE DES DOSES INITIALES***REMARQUES GÉNÉRALES*

Les divers schémas d'essai présentés dans la présente annexe indiquent la marche à suivre pour chaque dose initiale.

- Annexe 1 A: dose initiale de 5 mg/kg de poids corporel
- Annexe 1 B: dose initiale de 50 mg/kg de poids corporel
- Annexe 1 C: dose initiale de 300 mg/kg de poids corporel
- Annexe 1 D: dose initiale de 2000 mg/kg de poids corporel

En fonction du nombre d'animaux trouvés morts ou euthanasiés, la marche à suivre est indiquée par les flèches.

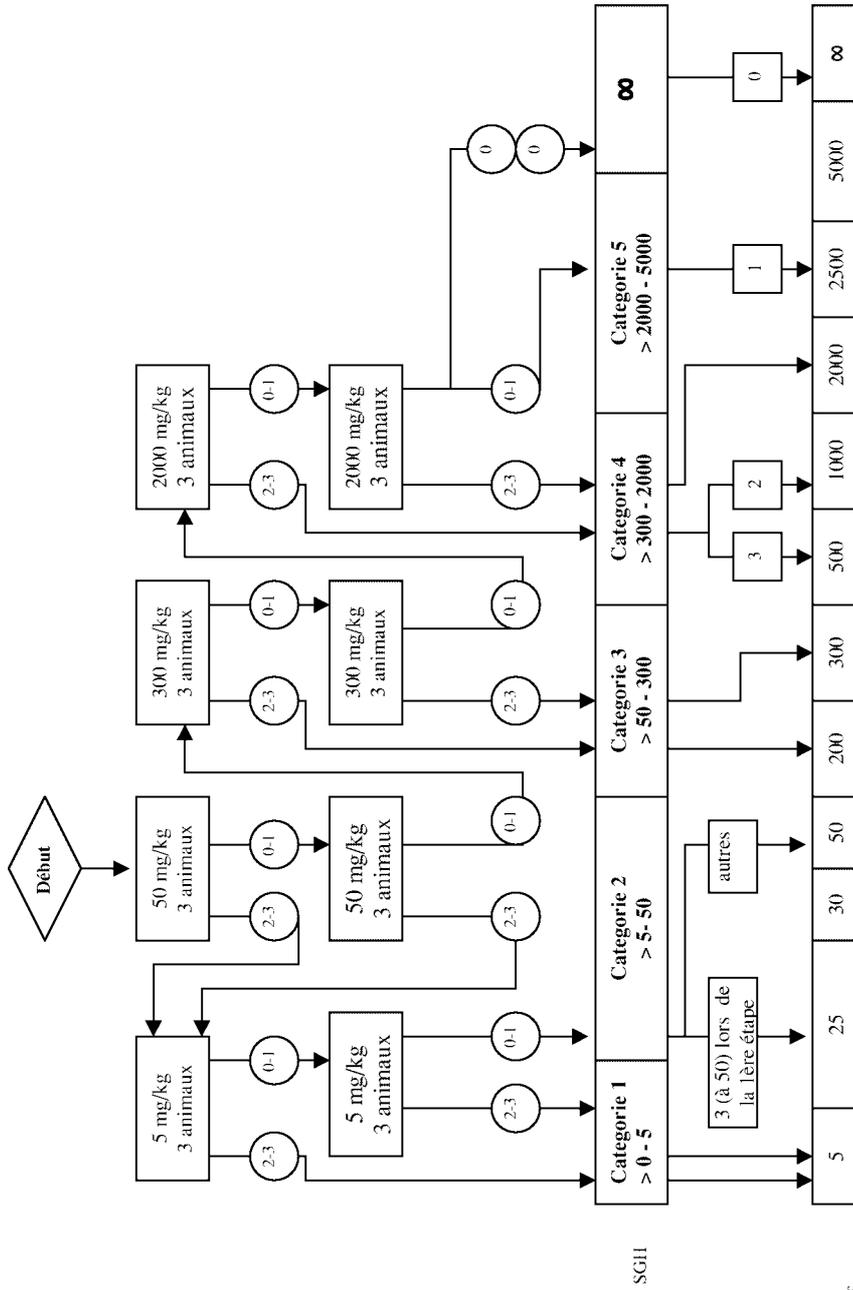
ANNEXE I A
MODE OPÉRA TOIRE POUR UNE DOSE INITIALE DE 5 MG/KG DE POIDS CORPOREL



- ∞: non classé
 - - essai à 5000 mg/kg p.c.: voir annexe 2

- Par étapes, 3 animaux de même sexe (normalement des femelles)
 - 0, 1, 2, 3: nombre d'animaux morts ou moribonds à chaque étape
 - SGH: Système général harmonisé de classification (mg/kg p.c.)

ANNEXE 1B
 MODE OPÉRATEUR POUR UNE DOSE INITIALE DE 50 MG/KG DE POIDS CORPOREL



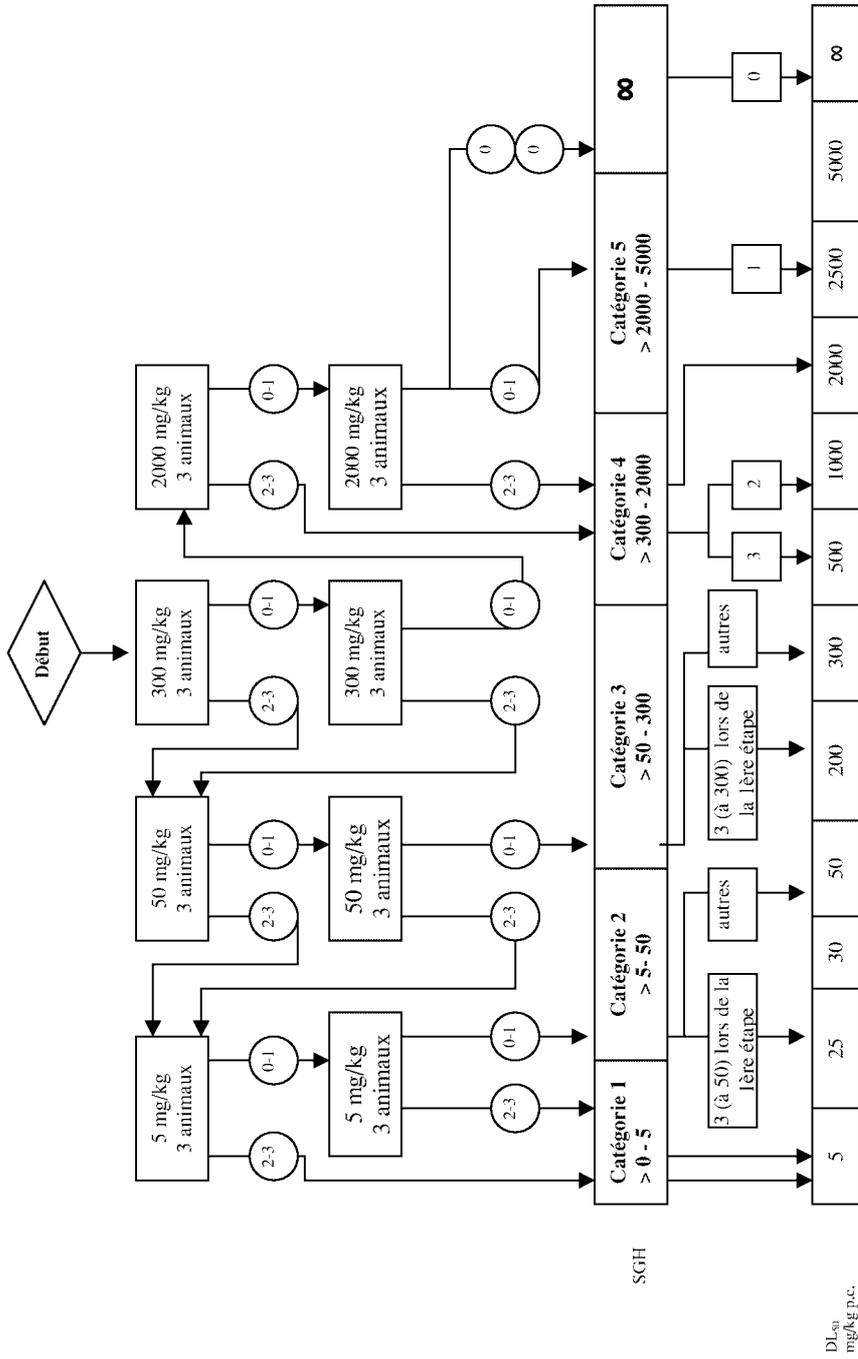
SGH

DL₅₀
 mg/kg p.c.

- Par étape, 3 animaux de même sexe (normalement des femelles)
 - 0, 1, 2, 3: nombre d'animaux morts ou moribonds à chaque étape
 - SGH: Système général harmonisé de classification (mg/kg p.c.)

- ∞: non classé
 - ∞: essai à 5000 mg/kg p.c.: voir annexe 2

ANNEXE IC
MODE OPÉRATEUR POUR UNE DOSE INITIALE DE 300 MG/KG DE POIDS CORPOREL



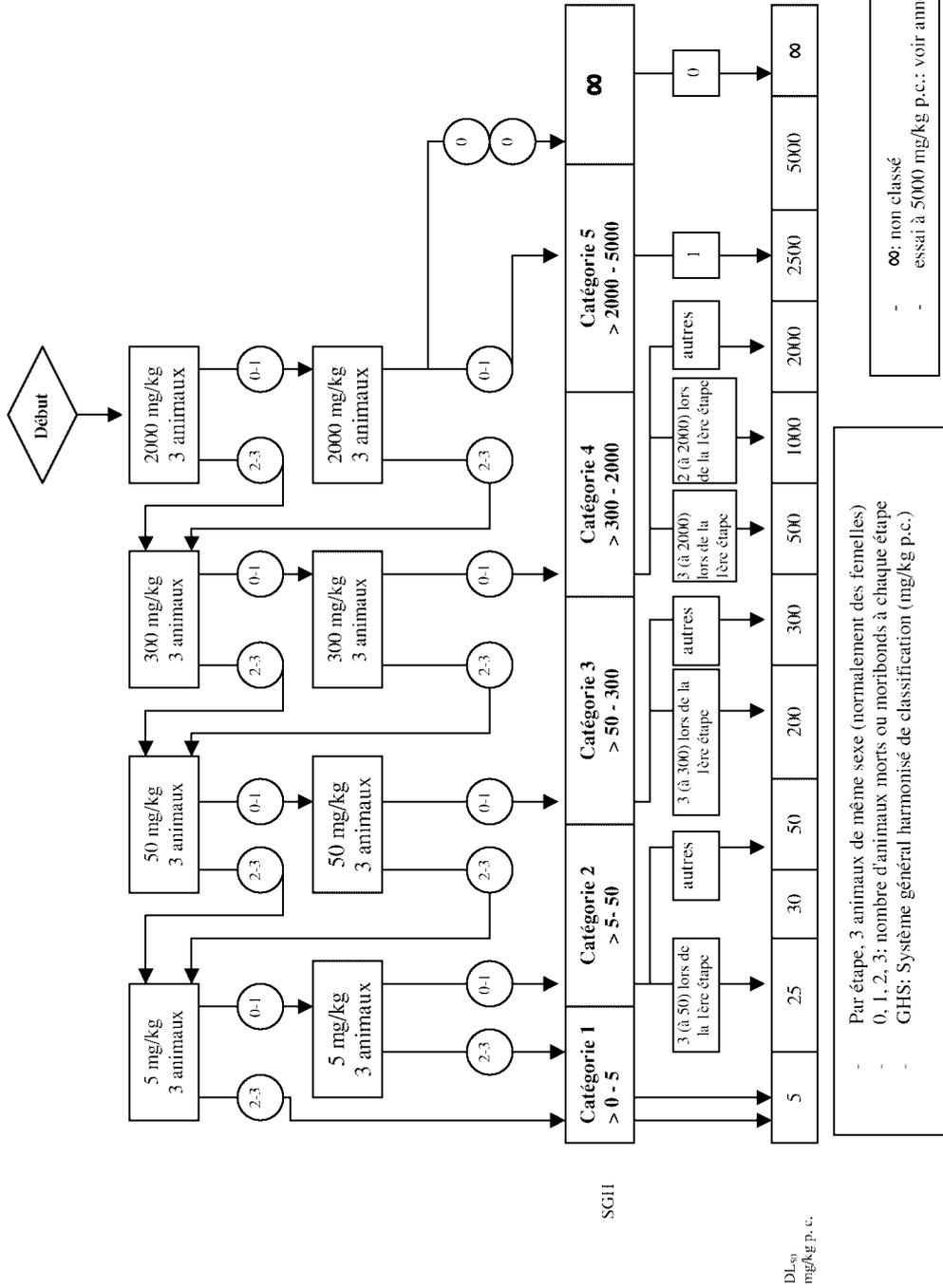
SGH

DL₅₀
mg/kg p.c.

- Par étape, 3 animaux de même sexe (normalement des femelles)
- 0, 1, 2, 3: nombre d'animaux morts ou moribonds à chaque étape
- SGH: Système général harmonisé de classification (mg/kg p.c.)

- ∞: non classé
- : essai à 5000 mg/kg p.c.; voir annexe 2

**ANNEXE I D
MODE OPÉRATEUR POUR UNE DOSE INITIALE DE 2000 MG/KG DE POIDS CORPOREL**



- Par étape, 3 animaux de même sexe (normalement des femelles)
 - 0, 1, 2, 3: nombre d'animaux morts ou moribonds à chaque étape
 - GHS: Système général harmonisé de classification (mg/kg p.c.)

- ∞: non classé
 - - essai à 5000 mg/kg p.c.: voir annexe 2

ANNEXE 2

CRITÈRES POUR LA CLASSIFICATION DE SUBSTANCES D'ESSAI DONT ON PRÉSUME QUE LA DL₅₀ EST SUPÉRIEURE À 2000 MG/KG, SANS RECOURIR À L'ESSAI

Les critères pour la catégorie de danger 5 sont destinés à permettre l'identification de substances qui ont une toxicité aiguë relativement faible mais qui, dans certaines conditions, peuvent se révéler dangereuses pour des populations vulnérables. Ces substances sont présumées avoir une DL₅₀ orale ou cutanée comprise dans la plage 2000-5000 mg/kg ou correspondant à des doses équivalentes par d'autres voies. Les substances d'essai devraient être classées dans la catégorie SGH de danger 5, définie par 2000 mg/kg < DL₅₀ < 5000 mg/kg, dans les cas suivants:

- a) lorsque, en fonction de la mortalité, l'un des schémas des annexes 1A à 1D oriente la substance vers cette catégorie;
- b) lorsque l'on est déjà en possession de données fiables indiquant que la DL₅₀ se situera dans la plage des valeurs de la catégorie 5; ou lorsque d'autres études sur des animaux ou l'observation d'effets toxiques chez l'homme suscitent de sérieuses inquiétudes pour la santé humaine;
- c) par extrapolation, évaluation ou mesure de données, lorsque la classification dans une catégorie de plus grand danger n'est pas justifiée et
 - il existe des informations fiables faisant état d'effets toxiques significatifs chez l'homme, ou
 - une certaine mortalité est observée en testant par voie orale jusqu'aux valeurs de la catégorie 4, ou
 - lorsqu'un jugement d'expert confirme l'existence de signes cliniques significatifs de toxicité lors d'un essai mené jusqu'aux valeurs de la catégorie 4, hormis diarrhée, hérissément des poils ou aspect mal soigné, ou
 - quand un jugement d'expert confirme l'existence d'informations fiables indiquant la possibilité d'effets aigus significatifs d'après les résultats des autres études sur animaux.

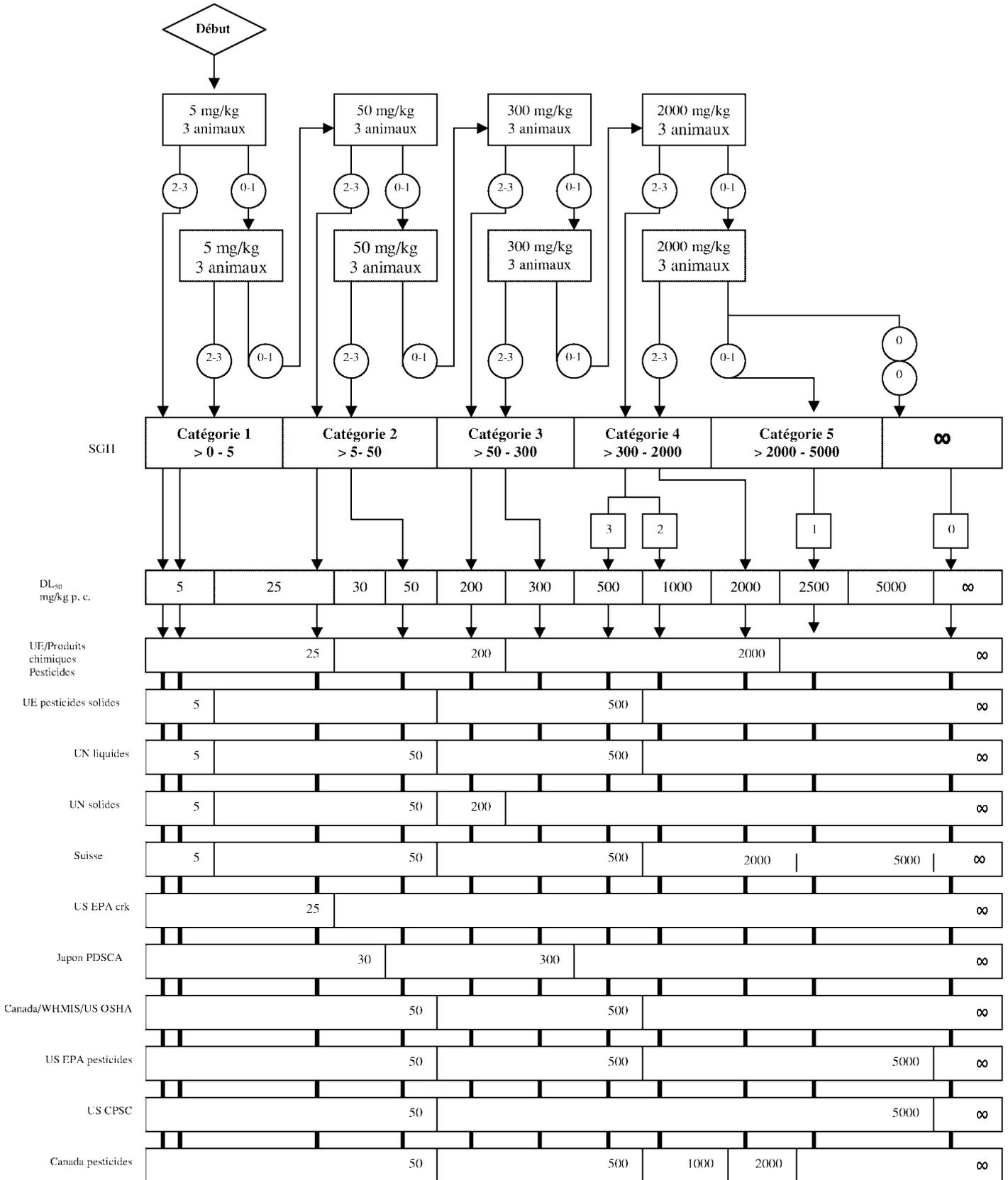
ESSAIS À DOSES SUPÉRIEURES À 2000 MG/KG

Par souci de protection des animaux, l'essai de substances à la dose de 5000 mg/kg est déconseillé et ne devrait être envisagé que lorsqu'il est fort probable que les résultats d'un tel essai présenteront un intérêt direct pour la protection de la santé des hommes et des animaux (10). Aucun essai ne doit être effectué à des doses plus élevées.

Lorsqu'un essai à 5000 mg/kg est nécessaire, une seule étape suffit (c-à-d trois animaux). Si le premier animal traité meurt, l'essai se poursuit à la dose de 2000 mg/kg comme indiqué dans les schémas de l'annexe 1. Si le premier animal traité survit, deux autres animaux sont traités. Si un seul des trois animaux meurt, la DL₅₀ est présumée supérieure à 5000 mg/kg. Si les deux animaux meurent, l'essai se poursuit à la dose de 2000 mg/kg.

ANNEXE 3

MÉTHODE D'ESSAI B.1 tris : Conseils pour une classification selon le système de l'UE en attendant la mise en place effective du système général harmonisé de classification (SGH) (voir référence (8))

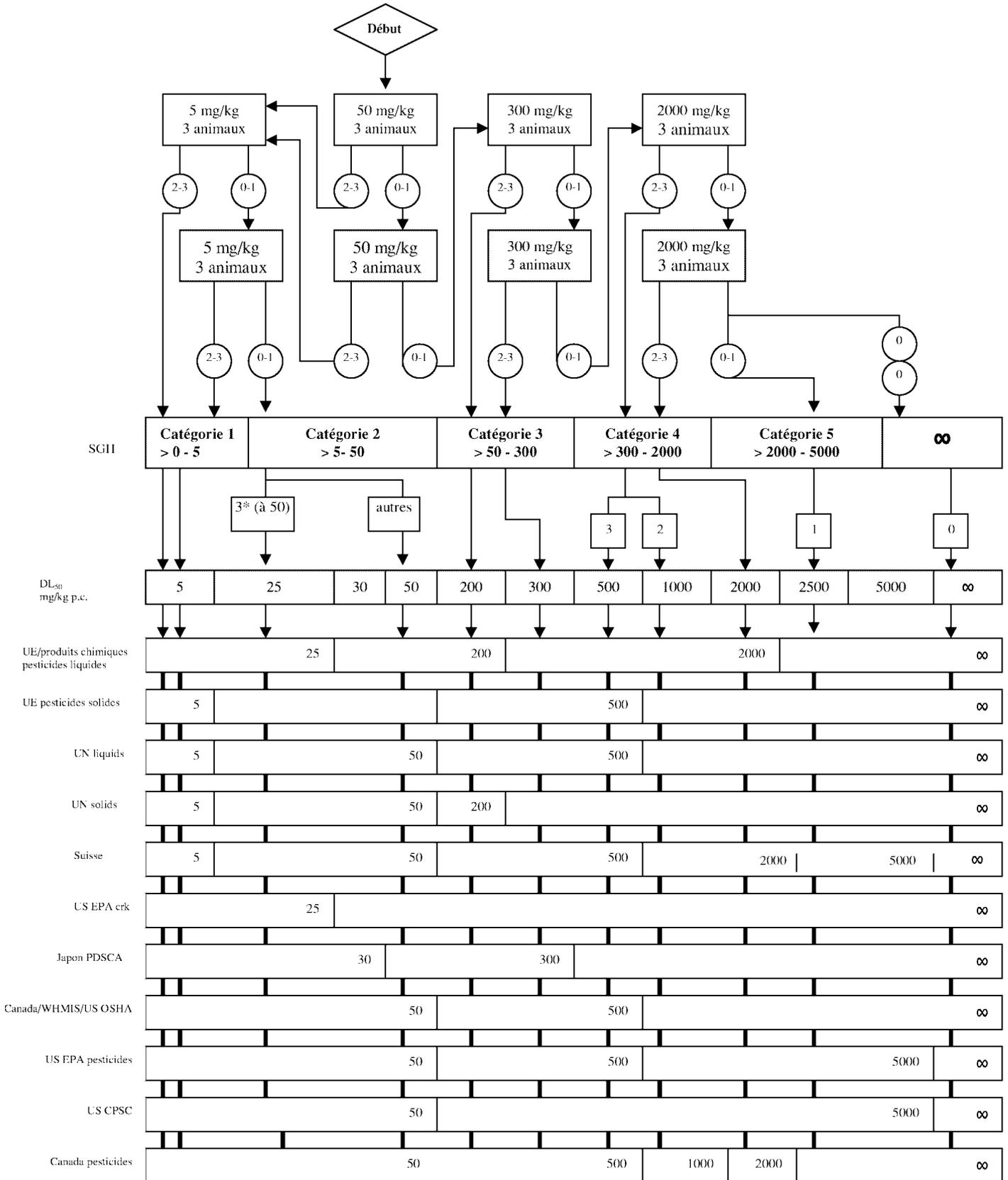


- Par étape, 3 animaux de même sexe (normalement des femelles)
 - 0, 1, 2, 3: nombre d'animaux morts ou moribonds à chaque étape

- ∞: non classé
 - SGH: Système général harmonisé de classification (mg/kg p.c.)

ANNEXE 3 (SUIVE 1)

MÉTHODE D'ESSAI B.1 tris : Conseils pour une classification selon le système de l'UE en attendant la mise en place effective du système général harmonisé de classification (SGH) (voir référence (8))

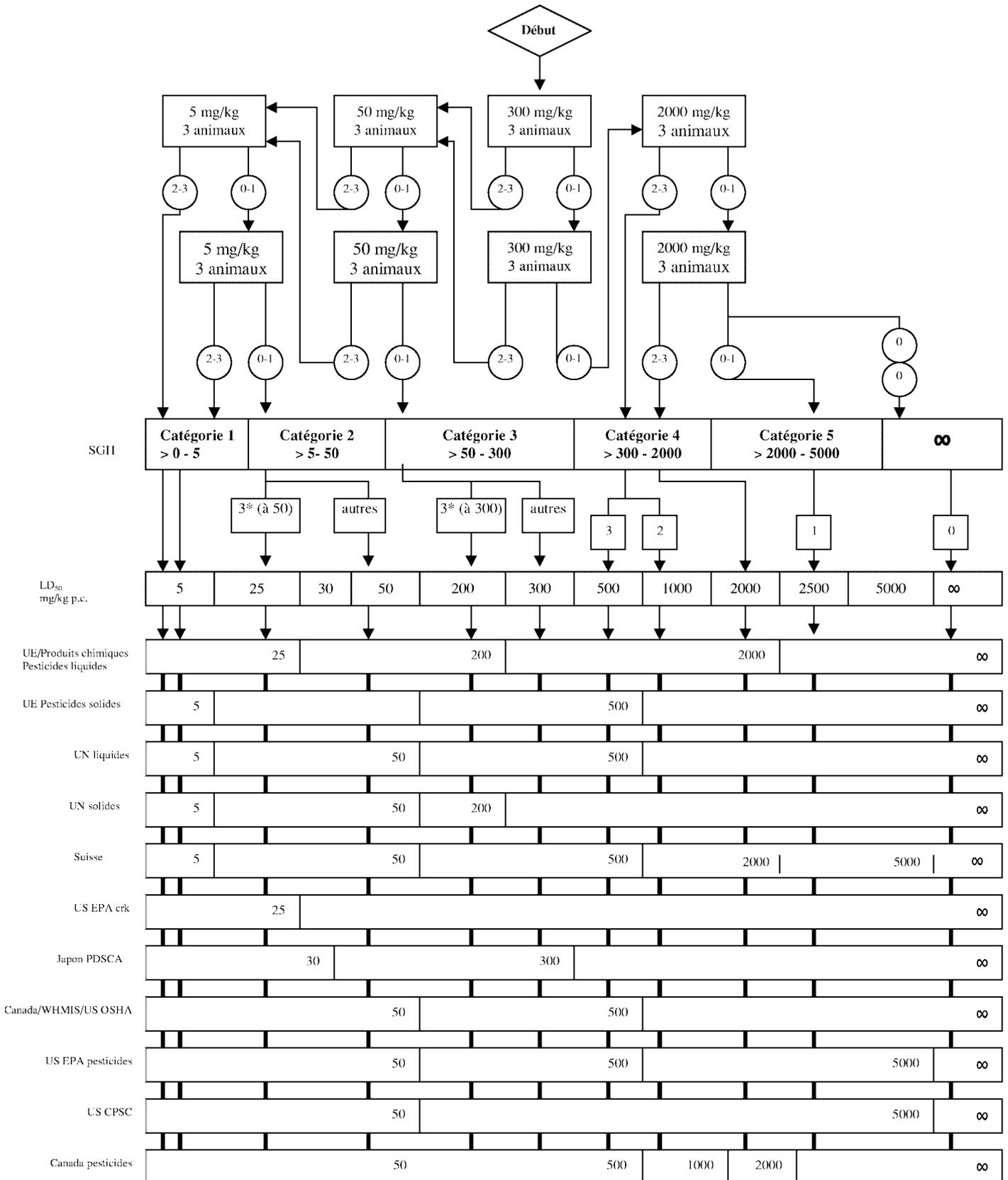


- Par étape, 3 animaux de même sexe (normalement des femelles)
 - 0, 1, 2, 3: nombre d'animaux morts ou moribonds à chaque étape

- ∞: non classé
 - *: lors de la 1ère étape
 - SGH: Système général harmonisé de classification (mg/kg p.c.)

ANNEXE 3 (SUITE 2)

MÉTHODE D'ESSAI B.1 tris : Conseils pour une classification selon le système de l'UE en attendant la mise en place effective du système général harmonisé de classification (SGH) (voir référence (8))

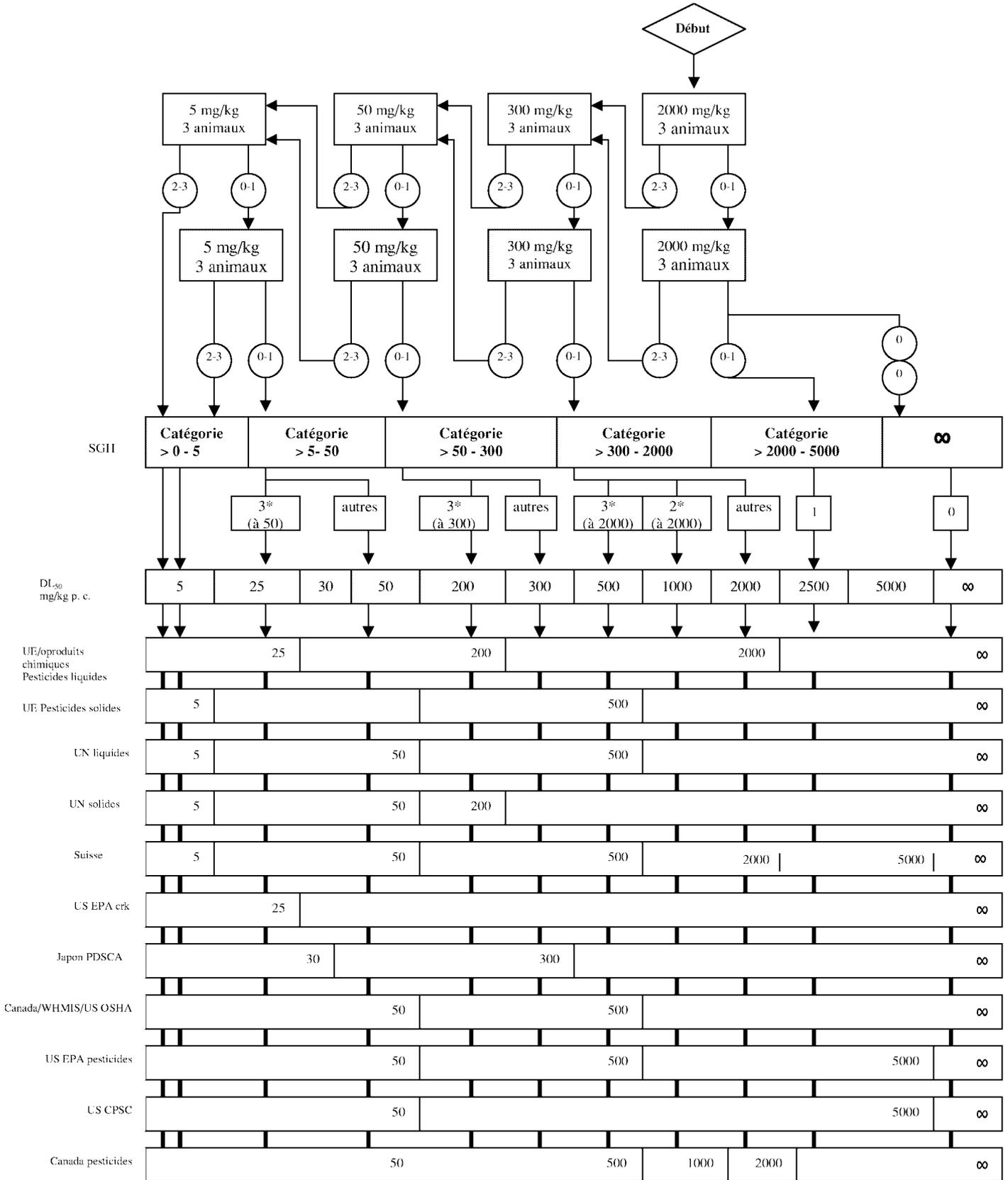


- Par étape, 3 animaux de même sexe (normalement des femelles)
 - 0, 1, 2, 3: nombre d'animaux morts ou moribonds à chaque étape

- 8: non classé
 - *: lors de la 1ère étape
 - SGH: Système général harmonisé de classification (mg/kg p.c.)

ANNEXE 3 (SUITE 3)

MÉTHODE D'ESSAI B.1 tris : Conseils pour une classification selon le système de l'UE en attendant la mise en place effective du système général harmonisé de classification (SGH) (voir référence (8))



- Par étape, 3 animaux de même sexe (normalement des femelles)
 - 0, 1, 2, 3: nombre d'animaux morts ou moribonds à chaque étape

- ∞: non classé
 - *: lors de la première étape
 - SGH: Système général harmonisé de classification (mg/kg p.c.)

ANNEXE 2D

B. 4. TOXICITE AIGUË : IRRITATION/CORROSION CUTANEE

1. MÉTHODE

Cette méthode est équivalente à la ligne directrice TG 404 (2002) de l'OCDE.

1.1 INTRODUCTION

La mise à jour de cette méthode a porté plus particulièrement sur les possibilités d'améliorer le traitement des animaux de laboratoire et sur l'évaluation de toutes les informations existantes se rapportant aux substances d'essai en vue d'éviter les tests inutiles sur animaux. La présente méthode recommande d'analyser la valeur probante des résultats pertinents déjà disponibles avant de procéder à l'essai *in vivo* de corrosion/irritation décrit ci-après. Les données manquantes pourront être comblées par des essais séquentiels (1). La démarche expérimentale, décrite en annexe, inclut la réalisation d'essais *in vitro* validés et acceptés. Il est également recommandé d'opter, le cas échéant, pour une application successive plutôt que simultanée des trois timbres sur l'animal dans l'essai *in vivo* initial.

Pour assurer à la fois la fiabilité des résultats scientifiques et le bien-être animal, on ne procédera pas aux essais *in vivo* tant que la valeur probante de toutes les données relatives au caractère éventuellement corrosif ou irritant pour la peau de la substance n'aura pas été analysée. Ces données comprendront les résultats d'études menées sur des humains et/ou des animaux, des données relatives à l'effet corrosif ou irritant d'une ou plusieurs substances structurellement proches de la substance d'essai ou de mélanges de ces substances, des données démontrant la forte acidité ou alcalinité de la substance (2) (3), et des résultats d'essais *in vitro* ou *ex vivo* validés et acceptés (4) (5) (5a). Cette analyse devrait réduire la nécessité de tester *in vivo* l'effet corrosif ou irritant sur la peau des substances pour lesquelles des études antérieures ont déjà livré suffisamment d'informations quant à ces deux aspects.

La démarche expérimentale préconisée, de type séquentiel, comporte des essais de corrosion et d'irritation *in vitro* ou *ex vivo* validés et acceptés, et est décrite dans l'annexe de la présente méthode. Cette démarche, élaborée au cours d'un atelier de l'OCDE (6) et recommandée à l'unanimité par les participants à cet atelier a été adoptée à titre de recommandation dans le cadre du Globally Harmonized System for the Classification of Chemical Substances (GHS) [Système de classification des substances chimiques harmonisé à l'échelon mondial] (7). Bien que cette stratégie séquentielle ne fasse pas partie intégrante de la méthode d'essai B.4, elle constitue cependant la procédure recommandée avant d'entreprendre les essais *in vivo*. S'agissant de nouvelles substances, on préconise de suivre une démarche expérimentale par étapes pour obtenir des résultats scientifiques fiables sur l'effet corrosif ou irritant de la substance. En ce qui concerne les substances existantes dont les données sur l'effet corrosif ou irritant sont insuffisantes, on suppléera à ces dernières en appliquant cette stratégie. Le choix d'une autre démarche expérimentale ou la décision de ne pas procéder par étapes doivent être justifiés.

Si l'analyse de la valeur probante des résultats ne permet pas de déterminer l'effet corrosif ou irritant, on envisagera un essai *in vivo* compatible avec la démarche séquentielle (voir annexe).

1.2 DÉFINITIONS

L'irritation cutanée désigne l'apparition de lésions cutanées réversibles consécutives à l'application d'une substance d'essai durant une période de quatre heures au maximum.

La corrosion cutanée désigne la survenue de lésions cutanées irréversibles, et plus précisément d'une nécrose visible à travers l'épiderme et dans le derme, à la suite de l'application d'une substance d'essai durant une période de quatre heures au maximum. La corrosion cutanée se manifeste par des ulcères, des saignements, des croûtes saignantes et, au terme de la période d'observation de 14 jours, par une décoloration due au pâlissement de la peau, des zones d'alopécie totale et des escarres. Un examen histopathologique sera envisagé en cas de lésions douteuses.

1.3 PRINCIPE DE LA MÉTHODE D'ESSAI

Une seule dose de la substance d'essai est appliquée sur la peau de l'animal choisi pour l'expérience, les zones non traitées de la peau de l'animal servant de témoin. L'expérimentateur observe et note selon une échelle de valeurs le degré d'irritation ou de corrosion à intervalles déterminés, et le décrit de façon plus détaillée afin de fournir une évaluation complète des effets. La durée de l'étude doit être suffisante pour permettre d'évaluer la réversibilité des effets observés.

Les animaux qui manifestent des signes persistants de détresse et/ou de douleur aiguës à n'importe quel stade de l'essai doivent être euthanasiés, et ces symptômes seront pris en compte dans l'évaluation de la substance. Les critères régissant la décision d'euthanasier les animaux moribonds et souffrant fortement sont définis dans un document cité en référence (8).

1.4 DESCRIPTION DE LA MÉTHODE D'ESSAI

1.4.1 Préparation de l'essai *in vivo*

1.4.1.1 *Sélection de l'espèce animale*

On choisira de préférence de jeunes adultes sains parmi les lapins albinos. L'utilisation d'une autre espèce sera justifiée, le cas échéant.

1.4.1.2 *Préparation des animaux*

Environ 24 heures avant l'essai, la région dorsale du tronc des animaux sera tonduë à ras. On prendra soin de ne pas égratigner leur peau et seuls des animaux présentant une peau saine et intacte seront utilisés.

La fourrure de certaines souches de lapins est plus touffue par endroits et ce phénomène est plus marqué à certaines périodes de l'année. Ces plages à forte pilosité ne doivent pas recevoir la substance d'essai.

1.4.1.3 *Conditions d'hébergement et d'alimentation*

Les animaux sont placés dans des cages individuelles. La température du local expérimental est réglée à 20°C (± 3°C) pour les lapins. L'humidité relative doit atteindre au moins 30 pour cent et rester de préférence inférieure à 70 pour cent, mais en dehors des heures de nettoyage du local, on s'efforcera de maintenir le taux d'humidité autour de 50 à 60 pour cent. On appliquera un éclairage artificiel, alternant 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Les lapins seront nourris avec un mélange classique pour animaux de laboratoire et boiront de l'eau potable à volonté.

1.4.2 Mode opératoire

1.4.2.1 *Application de la substance d'essai*

La substance d'essai est appliquée sur une petite zone (environ 6 cm²) de la peau et recouverte par une compresse de gaze, maintenue en place à l'aide d'un sparadrap non irritant. Si l'application directe est impossible (dans le cas de liquides ou de certaines pâtes, par exemple), la substance d'essai est d'abord appliquée sur la compresse de gaze, laquelle est ensuite placée sur la peau. La compresse doit être maintenue en contact souple avec la peau à l'aide d'un pansement semi-occlusif durant la période d'exposition. Si la substance d'essai est déposée sur la compresse, celui-ci doit être fixée sur la peau de façon à ce que la substance y soit répartie uniformément et entre bien en contact avec celle-ci. On fera en sorte que l'animal n'ait pas accès à la compresse et ne puisse ingérer ou inhaler la substance d'essai.

Les substances liquides sont généralement testées à l'état non dilué. Si la substance d'essai est solide (elle peut être pulvérisée si nécessaire), il y a lieu de l'humidifier avec la plus petite quantité d'eau (ou au besoin d'un autre véhicule approprié) nécessaire à assurer un bon contact avec la peau. Lorsqu'on utilise un véhicule autre que l'eau, l'influence éventuelle du véhicule sur l'irritation de la peau par la substance d'essai doit être minimale.

À la fin de la période d'exposition, qui dure normalement 4 heures, on enlève ce qui peut l'être de la substance d'essai restante, avec de l'eau ou un solvant approprié sans interférer avec la réaction ni altérer l'intégrité de l'épiderme.

1.4.2.2 Dose

Une dose de 0,5 ml de liquide ou de 0,5 g de solide ou de pâte est appliquée sur la plage à tester.

1.4.2.3 Essai initial (essai d'irritation/corrosion cutanée *in vivo* sur un seul animal)

Il est fortement recommandé de commencer par pratiquer l'essai *in vivo* sur un seul animal, surtout lorsqu'on pense que la substance risque d'être corrosive. Cette précaution obéit à la démarche expérimentale séquentielle (voir annexe 1).

Dès lors qu'une substance est jugée corrosive d'après l'analyse de la valeur probante des résultats, tout essai sur animal s'avère superflu. Pour la plupart des substances risquant d'être corrosives, il n'est généralement pas nécessaire de procéder à un essai *in vivo*. Toutefois, si l'on estime que les données disponibles ne sont pas assez convaincantes, on peut réaliser un essai limité sur un animal en suivant la procédure décrite ci-après. Jusqu'à trois timbres d'essai sont appliqués successivement sur l'animal. Le premier timbre est enlevé après trois minutes. Si aucune réaction cutanée grave n'est constatée, un deuxième timbre est appliqué et retiré après une heure. Si les observations effectuées à ce stade indiquent que l'exposition peut être étendue à quatre heures sans que cela fasse trop souffrir l'animal, l'expérimentateur appliquera un troisième timbre durant quatre heures et attribuera une cote à la réaction.

Si un effet corrosif est détecté à l'issue d'une des trois expositions séquentielles, l'essai s'achève immédiatement. Si aucun effet corrosif n'est relevé après l'enlèvement du troisième timbre, l'animal est gardé en observation durant 14 jours, à moins qu'un effet corrosif se déclare avant.

Dans les cas où l'on s'attend à ce que la substance d'essai soit peut-être irritante, mais pas corrosive, un seul timbre sera appliqué sur un animal durant quatre heures.

1.4.2.4 Essai confirmatoire (essai d'irritation cutanée *in vivo* sur des animaux supplémentaires)

Si l'essai initial ne révèle aucun effet corrosif, il convient de confirmer la réaction irritante ou négative sur deux animaux supplémentaires, traités chacun avec un timbre maintenu durant quatre heures. Si l'essai initial produit un effet irritant, l'essai confirmatoire peut être conduit en mode séquentiel ou par l'exposition simultanée de deux animaux supplémentaires. Au cas exceptionnel où l'essai initial ne serait pas pratiqué, deux ou trois animaux peuvent être traités au moyen d'un seul timbre appliqué durant quatre heures. Si l'on utilise deux animaux et qu'ils expriment la même réaction, il n'est pas nécessaire de poursuivre l'essai. Dans le cas contraire, le troisième animal est également testé. L'utilisation d'animaux supplémentaires pourra être requise si les réactions sont équivoques.

1.4.2.5 Période d'observation

La durée de la période d'observation devrait être suffisante pour permettre d'évaluer complètement la réversibilité des effets observés. Il faudra cependant mettre fin à l'expérience dès que l'animal montre des signes persistants de douleur ou de détresse aigus. La réversibilité des effets est déterminée par l'observation des animaux sur une période s'étendant jusqu'à 14 jours après l'enlèvement des timbres. Si la réaction s'avère réversible avant le quatorzième jour, l'expérience s'achève à ce moment-là.

1.4.2.6 *Observations cliniques et cotation des réactions cutanées*

L'observation des signes d'érythème et d'œdème chez tous les animaux et la cotation des réactions s'effectuent au bout de 60 minutes et ensuite 24, 48 et 72 heures après l'enlèvement du timbre. S'agissant de l'animal du test initial, la plage soumise à l'épreuve est aussi examinée immédiatement après l'enlèvement du timbre. Les réactions cutanées sont cotées et consignées conformément à l'échelle figurant dans le tableau ci-après. Si la peau présente des lésions qui ne caractérisent pas une irritation ou une corrosion après 72 heures, il pourra être nécessaire d'observer l'animal jusqu'au quatorzième jour afin de déterminer la réversibilité des effets. En plus de l'observation de l'irritation, tous les effets toxiques locaux, tels qu'un dessèchement de la peau, et tout effet systémique nocif (par exemple, des effets se manifestant par des signes cliniques de toxicité et sur le poids corporel) doivent être relevés et décrits en détail. L'examen histopathologique est à envisager en cas de réactions équivoques.

La cotation des réactions cutanées est forcément subjective. L'harmonisation de la cotation des réactions cutanées et l'appui aux laboratoires d'essai ainsi qu'au personnel chargé d'effectuer et d'interpréter les observations passent par une formation adéquate des expérimentateurs au système de cotation utilisé (voir tableau ci-après). Un manuel illustré sur la cotation de l'irritation cutanée et d'autres lésions pourrait être utile (9). La cotation des réactions cutanées devrait faire l'objet d'une évaluation à l'aveugle.

2. **RÉSULTATS**

2.1 **PRÉSENTATION DES RÉSULTATS**

Les résultats de l'étude devraient être récapitulés dans un tableau joint au rapport d'essai final et couvrir tous les aspects énumérés au paragraphe 3.1.

2.2 **ÉVALUATION DES RÉSULTATS**

Le degré d'irritation cutanée devrait être évalué en considération de la gravité des lésions et de leur caractère réversible ou non. Les cotes individuelles ne fournissent pas une valeur absolue des propriétés irritantes d'une substance, celles-ci étant évaluées parallèlement à d'autres effets de la substance. Ces cotes individuelles doivent plutôt être considérées comme des valeurs de référence, à évaluer en association avec toutes les autres observations effectuées au cours de l'étude.

L'évaluation des réactions d'irritation doit tenir compte de la réversibilité des lésions cutanées. Si des réactions, telles qu'une alopecie (sur une aire limitée), une hyperkératose, une hyperplasie et une desquamation, persistent jusqu'à la fin de la période d'observation de 14 jours, il y a lieu de considérer la substance d'essai comme irritante.

3. RAPPORT

3.1 RAPPORT D'ESSAI

Le rapport d'essai doit contenir les informations suivantes:

Justification de l'essai *in vivo*: analyse de la valeur probante des résultats disponibles avant l'essai, notamment des résultats de la démarche expérimentale séquentielle:

- description des données pertinentes livrées par des essais précédents;
- données obtenues à chaque étape de la démarche expérimentale;
- description des essais *in vitro* effectués, exposant le détail des procédures et les résultats obtenus avec les substances d'essai et de référence;
- justification de l'étude *in vivo* après analyse de la valeur probante des résultats disponibles.

Substance d'essai:

- données d'identification (par exemple, numéro CAS, source, pureté, impuretés connues, numéro de lot);
- état physique et propriétés physico-chimiques (par exemple, pH, volatilité, solubilité, stabilité);
- s'il s'agit d'un mélange: composition et pourcentages relatifs des constituants.

Véhicule:

- identification, concentration (s'il y a lieu), volume utilisé;
- justification du choix du véhicule.

Animaux d'expérience :

- espèce/souche utilisée, justification de l'utilisation éventuelle d'un animal autre que le lapin albinos;
- nombre d'animaux de chaque sexe;
- poids de chaque animal au début et à la fin de l'essai;
- âge des animaux au début de l'essai;
- source des animaux, conditions d'encagement, régime alimentaire, etc.

Conditions expérimentales:

- technique de préparation du site d'application;
- détails concernant la composition du timbre et la technique d'application de ce dernier;
- détails sur la préparation, l'application et l'enlèvement de la substance d'essai.

Résultats:

- tableau faisant apparaître, pour chaque animal et à chaque relevé, les cotes attribuées aux réactions d'irritation/corrosion observées;
- description de toutes les lésions observées;
- description circonstanciée de la nature et du degré d'irritation ou de corrosion observé, et de tout effet histopathologique;
- description de tout autre effet local néfaste (par exemple, dessèchement de la peau) et des effets systémiques.

Discussion des résultats

4.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) Barratt, M.D., Castell, J.V., Chamberlain, M., Combes, R.D., Dearden, J.C., Fentem, J.H., Gerner, I., Giuliani, A., Gray, T.J.B., Livingston, D.J., Provan, W.M., Rutten, F.A.J.J.L., Verhaar, H.J.M., Zbinden, P. (1995) The Integrated Use of Alternative Approaches for Predicting Toxic Hazard. ECVAM Workshop Report 8. ATLA 23, 410- 429.
- (2) Young, J.R., How, M.J., Walker, A.P., Worth W.M.H. (1988) Classification as Corrosive or Irritant to Skin of Preparations Containing Acidic or Alkaline Substance Without Testing on Animals. *Toxicol. In Vitro*, 2, 19 - 26.
- (3) Worth, A.P., Fentem, J.H., Balls, M., Botham, P.A., Curren, R.D., Earl, L.K., Esdaile, D.J., Liebsch, M. (1998) Evaluation of the proposed OECD Testing Strategy for skin corrosion. ATLA 26, 709-720.
- (4) ECETOC (1990) Monograph No. 15, "Skin Irritation", European Chemical Industry, Ecology and Toxicology Centre, Brussels.
- (5) Fentem, J.H., Archer, G.E.B., Balls, M., Botham, P.A., Curren, R.D., Earl, L.K., Esdaile, D.J., Holzhutter, H.G. and Liebsch, M. (1998) The ECVAM international validation study on in vitro tests for skin corrosivity. 2. Results and evaluation by the Management Team. *Toxicology in Vitro* 12, pp.483 – 524.
- (5a) Méthode d'essai B.40 Corrosion cutanée
- (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 No. 19 (<http://www1.oecd.org/ehs/test/monos.htm>).
- (9) EPA (1990). Atlas of Dermal Lesions, (20T-2004). United States Environmental Protection Agency, Office of Pesticides and Toxic Substances, Washington, DC, August 1990. [peut être obtenu sur demande auprès du Secrétariat de l'OCDE].

TABLEAU I : COTATION DES RÉACTIONS CUTANÉES**Formation d'érythème et d'escarres**

Pas d'érythème	0
Érythème très léger (à peine perceptible)	1
Érythème bien défini	2
Érythème modéré à grave	3
Érythème grave (rouge violacé) à formation d'escarres empêchant la cotation de l'érythème	4

Maximum possible: 4

Formation d'œdème

Pas d'œdème	0
Œdème très léger (à peine perceptible)	1
Œdème léger (pourtour de la zone œdémateuse bien délimité par une enflure nette)	2
Œdème modéré (enflure d'environ 1 mm)	3
Œdème grave (enflure de plus de 1 mm s'étendant au-delà de l'aire exposée)	4

Maximum possible: 4

Un examen histopathologique pourra être réalisé en cas de réaction équivoque.

ANNEXE

Démarche expérimentale séquentielle pour les essais d'irritation et de corrosion cutanées**CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES**

Si cette démarche expérimentale séquentielle ne fait pas partie intégrante de la méthode d'essai B.4, elle constitue cependant la procédure recommandée pour déterminer l'effet irritant ou corrosif sur la peau. Cette procédure représente à la fois la meilleure pratique et une référence éthique dans ce domaine. La méthode d'essai décrit le mode opératoire de l'essai *in vivo* et récapitule les facteurs à prendre en considération avant d'entamer l'essai. La démarche indique comment évaluer les données existantes relatives aux propriétés irritantes ou corrosives des substances et présente les différentes étapes permettant d'obtenir des données pertinentes sur les substances qui réclament d'autres études ou qui n'ont pas encore été étudiées. Elle recommande également, dans certaines circonstances, la réalisation d'essais *in vitro* ou *ex vivo* d'irritation et de corrosion cutanées, validés et acceptés.

Pour concilier la fiabilité des résultats scientifiques et le bien-être animal, il importe d'éviter l'utilisation inutile d'animaux d'expérience et de réduire au minimum toute procédure expérimentale susceptible de déclencher des effets graves chez les animaux. Avant d'envisager un essai *in vivo*, on évaluera toutes les informations relatives à l'éventuel pouvoir corrosif/irritant d'une substance sur la peau. Il se peut que les données disponibles suffisent à classer une substance d'essai quant à son pouvoir irritant ou corrosif, sans qu'il soit nécessaire d'effectuer des essais sur animaux. Ainsi, le recours à une analyse de la valeur probante des résultats et l'adoption d'une démarche expérimentale séquentielle limiteront au maximum la nécessité de pratiquer des essais *in vivo*, surtout lorsqu'il est probable que la substance va engendrer de graves effets.

Il est recommandé d'évaluer les informations existantes concernant le pouvoir irritant ou corrosif des substances à l'aide d'une analyse de la valeur probante des résultats, afin d'établir la nécessité de réaliser des études supplémentaires, autres que des études cutanées *in vivo*, pour contribuer à caractériser ce pouvoir. Si cette nécessité se confirme, une démarche expérimentale séquentielle est préconisée pour produire les données expérimentales pertinentes. S'agissant des substances qui n'ont pas encore fait l'objet d'essais, il convient d'obtenir l'ensemble des données permettant d'évaluer le pouvoir corrosif ou irritant de la substance par une démarche séquentielle. La démarche expérimentale exposée dans cette annexe a été élaborée au cours d'un atelier de l'OCDE (1) avant d'être entérinée et complétée dans le cadre du Système harmonisé de classification intégrée des risques pour la santé humaine et l'environnement liés aux substances chimiques (Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances), adopté par la vingt-huitième Réunion conjointe du Comité sur les produits chimiques et du Groupe de travail sur les produits chimiques, les pesticides et la biotechnologie, en novembre 1998 (2).

DESCRIPTION DE LA STRATÉGIE D'ÉVALUATION ET D'ESSAI

Avant d'entreprendre les essais inscrits dans la démarche expérimentale séquentielle (figure), il faut évaluer toutes les informations disponibles afin d'établir la nécessité d'effectuer des essais cutanés *in vivo*. Bien que l'évaluation de certains paramètres particuliers puisse livrer des informations significatives (par exemple un pH extrême), la totalité des informations existantes doit être prise en considération. L'analyse de la valeur probante des résultats portera sur toutes les données pertinentes concernant les effets de la substance en question, ou de ses analogues; elle débouchera sur une décision qui devra être justifiée. Il conviendra d'accorder une place prépondérante aux données se rapportant aux humains et aux animaux, et d'examiner ensuite les résultats des essais *in vitro* ou *ex vivo* sur la substance. Les essais *in vivo* de substances corrosives devront être évités chaque fois que cela est possible. Les facteurs pris en compte dans la démarche expérimentale sont repris ci-après:

Évaluation des données existantes sur les humains et les animaux (première étape). Les données existantes sur l'être humain, par exemple des études cliniques ou sur les conditions de travail et des rapports sur des cas relevant de ces disciplines, et/ou les résultats d'essais sur animaux, par exemple des essais de toxicité par exposition cutanée unique ou répétée, sont à examiner en premier car ils livrent des informations directement liées aux effets sur la peau. Les substances dont le pouvoir irritant ou corrosif est avéré et celles dont le caractère non corrosif et non irritant a été clairement démontré ne doivent pas faire l'objet d'études *in vivo*.

Analyse des relations structure-activité (RSA) (deuxième étape). Le cas échéant, les résultats d'essais sur des substances structurellement proches doivent être pris en considération. S'il existe suffisamment de données relatives aux humains et/ou aux animaux sur des substances structurellement proches ou sur des mélanges de ces substances pour attester leur pouvoir corrosif ou irritant, on peut supposer que la substance étudiée provoquera les mêmes réactions. Auquel cas, il n'est plus forcément nécessaire de tester la substance. Des résultats négatifs lors d'études de substances structurellement proches ou de mélanges de ces substances ne constituent pas une preuve suffisante de l'effet non corrosif ou non irritant d'une substance dans le cadre de la démarche expérimentale séquentielle. On déterminera le pouvoir corrosif ou irritant pour la peau en appliquant une méthode d'analyse RSA validée et acceptée.

Propriétés physico-chimiques et réactivité chimique (troisième étape). Les substances présentant des valeurs de pH extrêmes, par exemple, $\leq 2,0$ ou $\geq 11,5$, sont susceptibles d'induire de fortes réactions locales. Si une valeur de pH extrême est un indice décisif quant au caractère corrosif d'une substance, son pouvoir tampon doit également entrer en ligne de compte (3)(4). Si le pouvoir tampon donne à penser que la substance peut ne pas être corrosive pour la peau, cette hypothèse demande à être confirmée par un autre essai, de préférence un essai *in vitro* ou *ex vivo* validé et accepté (voir étapes 5 et 6).

Toxicité cutanée (quatrième étape). S'il est prouvé qu'une substance chimique est très toxique par voie cutanée, une étude d'irritation ou de corrosion cutanée risque d'être impossible à réaliser *in vivo*, la quantité de substance d'essai normalement appliquée pouvant dépasser la dose très toxique et entraîner ainsi la mort des animaux ou les faire terriblement souffrir. En outre, lorsque des études de toxicité cutanée ont déjà été menées sur des lapins albinos jusqu'à la dose limite de 2 000 mg/kg de poids corporel, ou au-delà, et qu'aucune irritation ou corrosion cutanées n'ont été constatées, il n'est plus forcément nécessaire d'effectuer un essai supplémentaire d'irritation ou de corrosion cutanée. Il convient de faire attention à plusieurs aspects lorsqu'on évalue la toxicité cutanée aiguë à partir d'études antérieures. À titre d'exemple, les informations rapportées sur les lésions cutanées peuvent être incomplètes. Il se peut que les essais et les observations aient été effectués sur une autre espèce que le lapin, or, la sensibilité aux substances est très variable d'une espèce à l'autre. De même, la forme sous laquelle la substance d'essai a été appliquée sur les animaux peut ne pas convenir à l'évaluation de l'irritation et de la corrosion cutanées (par exemple, la dilution des substances (5)). Néanmoins, lorsque des études bien conçues de toxicité cutanée ont été correctement menées sur le lapin, leurs résultats négatifs peuvent être considérés comme une démonstration suffisante du caractère non irritant ni corrosif de la substance.

Résultats des essais in vitro ou ex vivo (étapes 5 et 6). Les substances dont le pouvoir fortement irritant ou corrosif a été mis en évidence par un essai *in vitro* ou *ex vivo* validé et accepté (6) (7), conçu pour évaluer ces effets particuliers, ne doivent pas être testées sur des animaux. Il est en effet très vraisemblable que ces substances produiront des effets semblables *in vivo*.

Essai in vivo sur des lapins (étapes 7 et 8). Si la décision d'effectuer une étude *in vivo* a été prise sur la base d'une analyse de la valeur des résultats, celle-ci doit débiter par un essai initial réalisé sur un seul animal. Si les résultats de cet essai indiquent que la substance est corrosive pour la peau, il ne faut pas poursuivre les essais. Si l'essai initial ne montre aucun effet corrosif, il y a lieu de confirmer l'absence de réaction ou une réaction d'irritation sur un ou deux animaux supplémentaires exposés à la substance durant quatre heures. Lorsque l'essai initial fait apparaître un effet irritant, l'essai confirmatoire doit être conduit sur un mode séquentiel, ou par l'exposition simultanée des deux animaux supplémentaires.

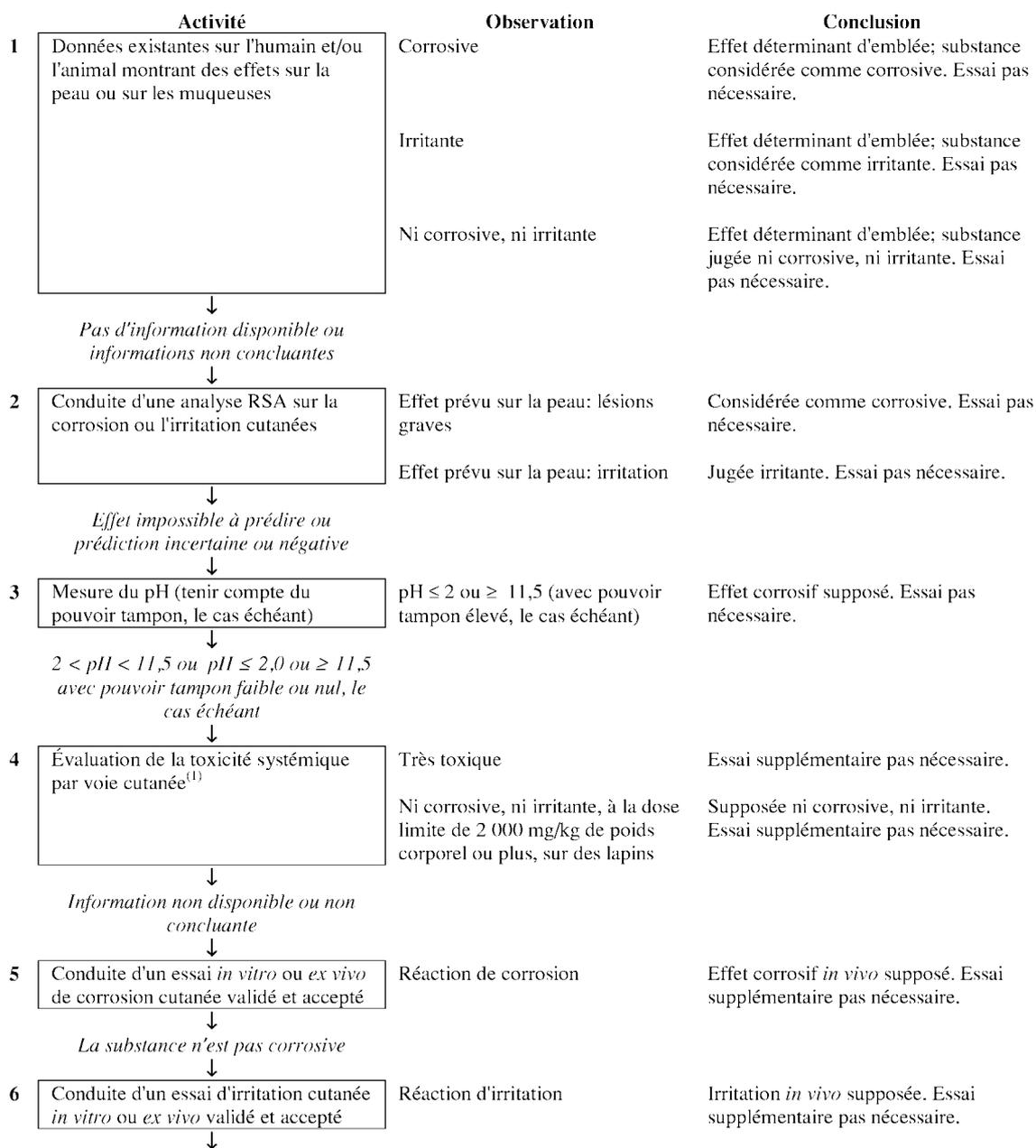
BIBLIOGRAPHIE

- (1) OECD (1996). Test Guidelines Programme: Final Report on the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Held on Solna, Sweden, 22 – 24 January 1996 (<http://www1.oecd.org/ehs/test/background.htm>).
- (2) OECD (1998). Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, November 1998 (<http://www1.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm>).
- (3) Worth, A.P., Fentem J.H., Balls M., Botham P.A., Curren R.D., Earl L.K., 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 (éditeurs): *Dermatotoxicology*. Fifth Edition ISBN 1-56032-356-6, Chapter 31, 411-436.

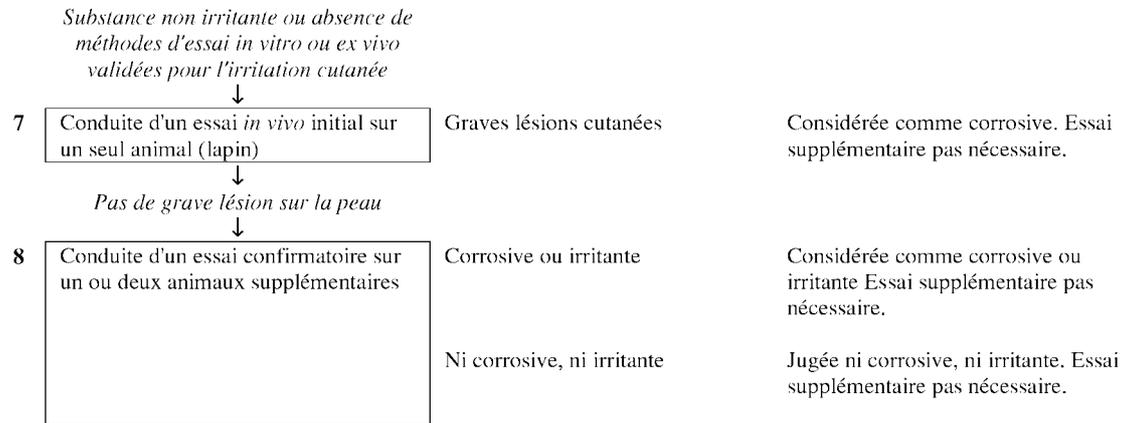
- (6) Méthode d'essai B.40.
- (7) Fentem, J.H., Archer, G.E.B., Balls, M., Botham, P.A., Curren, R.D., Earl, L.K., Edsail, D.J., Holzhutter, H.G. and Liebsch, M. (1998) The ECVAM international validation study on in vitro tests for skin corrosivity. 2. Results and evaluation by the Management Team. *Toxicology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

FIGURE

PROCÉDURE D'ESSAI ET D'ÉVALUATION DE L'IRRITATION ET DE LA CORROSION CUTANÉES



⁽¹⁾ peut être envisagée avant les étapes 2 et 3.



ANNEXE 2E

B. 5. TOXICITÉ AIGUË : IRRITATION/CORROSION OCULAIRE

1. MÉTHODE

Cette méthode est équivalente à la ligne directrice TG 405 (2002) de l'OCDE.

1.1 INTRODUCTION

La révision de la présente méthode a porté plus particulièrement sur l'évaluation préalable de toutes les informations existantes se rapportant aux substances d'essai, afin d'éviter les essais inutiles sur les animaux de laboratoire et contribuer ainsi à préserver le bien-être animal. Cette méthode préconise d'analyser la valeur probante des résultats pertinents déjà disponibles (1) avant de procéder à l'essai *in vivo* de corrosion/irritation oculaire décrit ci-après. Il est conseillé de combler le manque de données par des essais séquentiels (2)(3). La démarche expérimentale décrite en annexe à la présente méthode inclut la réalisation d'essais *in vitro* validés et acceptés. Il est en outre recommandé d'effectuer un essai d'irritation/corrosion cutanée *in vivo*, afin de prédire le pouvoir corrosif pour les yeux avant d'envisager un essai oculaire *in vivo*.

Afin de concilier la fiabilité des résultats scientifiques et le bien-être animal, on ne procédera pas aux essais *in vivo* avant d'avoir analysé la valeur probante de toutes les données relatives au caractère éventuellement corrosif ou irritant de la substance pour les yeux. Ces données comprendront les résultats d'études menées sur des humains et/ou des animaux de laboratoire, des données relatives à l'effet corrosif ou irritant d'une ou plusieurs substances structurellement proches de la substance d'essai ou de mélanges de ces substances, des données démontrant la forte acidité ou alcalinité de la substance (4)(5), et des résultats d'essais *in vitro* et *ex vivo* d'irritation et de corrosion cutanées validés et acceptés (6)(6a). Ces études pourront être effectuées avant ou après l'analyse de la valeur probante des résultats.

Pour certaines substances, une telle analyse peut faire ressortir la nécessité de mener des études *in vivo* afin de déterminer le pouvoir corrosif/irritant de la substance pour les yeux. Dans de tels cas, il est préférable, avant d'envisager un essai oculaire *in vivo*, de commencer par tester *in vivo* les effets cutanés de la substance et de les évaluer conformément à la méthode d'essai B.4 (7). L'analyse de la valeur probante des résultats, couplée à la stratégie d'essai séquentielle, devrait réduire la nécessité de tester *in vivo* l'effet corrosif ou irritant sur les yeux des substances pour lesquelles des études antérieures ont déjà livré suffisamment d'informations quant à ces deux aspects. Si le pouvoir corrosif ou irritant pour les yeux est impossible à déterminer par la démarche séquentielle, même après réalisation d'un essai *in vivo* d'irritation/corrosion cutanée, on peut tester *in vivo* l'effet corrosif ou irritant sur les yeux.

La démarche expérimentale préconisée, de type séquentiel, comporte des essais de corrosion et d'irritation *in vitro* ou *ex vivo* validés, et est décrite dans l'annexe de la présente méthode. Cette démarche, élaborée au cours d'un atelier de l'OCDE (8) et recommandée à l'unanimité par les participants à cet atelier a été adoptée à titre de recommandation dans le cadre du Système de classification des substances chimiques harmonisé à l'échelon mondial (Globally Harmonized System for the Classification of Chemical Substances - GHS) (9). Bien que cette stratégie séquentielle ne fasse pas partie intégrante de la méthode d'essai B.4, elle constitue cependant la procédure recommandée avant d'entreprendre les essais *in vivo*. S'agissant de nouvelles substances, cette démarche expérimentale par étapes est préconisée pour obtenir des résultats scientifiques fiables sur l'effet corrosif ou irritant de la substance. En ce qui concerne les substances existantes dont les données sur l'effet corrosif ou irritant sur la peau et les yeux sont insuffisantes, on suppléera à ces dernières en appliquant cette stratégie. Le choix d'une autre démarche expérimentale ou la décision de ne pas procéder par étapes doivent être justifiés.

1.2 DÉFINITIONS

L'irritation oculaire désigne des altérations oculaires qui surviennent à la suite de l'application d'une substance d'essai sur la surface antérieure de l'œil, et qui sont totalement réversibles dans les 21 jours suivant le traitement.

La corrosion oculaire désigne la survenue de lésions tissulaires de l'œil ou une grave détérioration de la vision, qui sont provoqués par l'application d'une substance d'essai sur la surface antérieure de l'œil, et qui ne sont pas totalement réversibles dans les 21 jours suivant le traitement.

1.3 PRINCIPE DE LA MÉTHODE D'ESSAI

La substance d'essai est appliquée en une seule dose sur un des yeux de l'animal d'expérience, l'œil non traité servant de témoin. On évalue le degré de l'irritation ou de la corrosion oculaires en cotant la gravité des lésions affectant la conjonctive, la cornée et l'iris, à intervalles déterminés. Les autres réactions de l'œil et les troubles systémiques sont également décrits de manière à fournir une évaluation complète des effets. La durée de l'étude doit être suffisante pour permettre d'évaluer la réversibilité des effets.

Les animaux qui manifestent des signes persistants de détresse et/ou de douleur aiguës à n'importe quel stade de l'essai doivent être euthanasiés, et ces symptômes seront pris en compte dans l'évaluation de la substance. Les critères régissant la décision d'euthanasier les animaux moribonds et souffrant fortement sont définis dans un document cité en référence (10).

1.4 DESCRIPTION DE LA MÉTHODE D'ESSAI

1.4.1 Préparation de l'essai *in vivo*

1.4.1.1 Sélection de l'espèce animale

On choisira de préférence de jeunes adultes sains parmi les lapins albinos. L'utilisation d'une autre espèce ou souche sera justifiée, le cas échéant.

1.4.1.2 Préparation des animaux

Les deux yeux de chaque animal susceptible de participer à l'essai doivent être examinés dans les 24 heures précédant le début de l'essai. Les animaux qui présentent des signes d'irritation oculaire, des défauts oculaires ou une lésion de la cornée seront écartés.

1.4.1.3 Conditions d'hébergement et d'alimentation

Les animaux sont placés dans des cages individuelles. La température du local expérimental est réglée à 20°C (\pm 3°C) pour les lapins. L'humidité relative doit atteindre au moins 30 pour cent et rester de préférence inférieure à 70 pour cent, mais en dehors des heures de nettoyage du local, on s'efforcera de maintenir le taux d'humidité autour de 50 à 60 pour cent. On appliquera un éclairage artificiel, alternant 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Les lapins seront nourris avec un mélange classique pour animaux de laboratoire et boiront de l'eau potable à volonté.

1.4.2 Mode opératoire

1.4.2.1 Application de la substance d'essai

L'expérimentateur introduit la substance d'essai dans le sac conjonctival d'un des yeux de chaque animal, après avoir délicatement écarté la paupière inférieure du globe oculaire. Il ramène ensuite doucement les deux paupières l'une contre l'autre et les maintient dans cette position pendant environ une seconde afin d'éviter toute perte de substance. L'autre œil, qui ne subit pas de traitement, sert de témoin.

1.4.2.2 Irrigation

Il ne faut pas laver les yeux des animaux traités pendant au moins 24 heures après l'instillation de la substance d'essai, à moins que celle-ci soit à l'état solide (voir paragraphe 1.4.2.3.2) ou déclenche immédiatement des effets corrosifs ou irritants. Au besoin, un lavage pourra être effectué à l'issue de ce délai.

L'utilisation d'un groupe d'animaux satellite pour étudier l'influence du lavage n'est pas indiquée, à moins qu'elle ne se justifie d'un point de vue scientifique. Le cas échéant, on utilisera deux lapins. Les conditions du lavage doivent être décrites minutieusement en indiquant, par exemple, le moment du lavage, la composition et la température de la solution ophtalmique, la durée, le volume et la vitesse d'application.

1.4.2.3 *Dose*

1.4.2.3.1 *Essai de liquides*

Pour les liquides, on utilise une dose de 0,1 mL. Il faut éviter d'instiller la substance directement dans l'œil avec un vaporisateur à pression ; il est préférable d'en expulser d'abord le contenu, de prélever 0,1 mL de celui-ci dans une fiole et de l'instiller dans l'œil.

1.4.2.3.2 *Essai de solides*

Dans le cas des solides, pâtes ou substances particulaires, la quantité utilisée doit avoir un volume de 0,1 mL ou un poids ne dépassant pas 100 mg. La substance d'essai sera broyée finement. Il convient de mesurer le volume de la substance solide après l'avoir légèrement tassée, par exemple en tapotant le récipient de mesure. Si la substance d'essai solide n'a pas encore été évacuée de l'œil de l'animal par des mécanismes physiologiques au premier moment d'observation, à savoir une heure après le traitement, l'œil peut être rincé à l'aide d'une solution saline ou à l'eau distillée.

1.4.2.3.3 *Essai des aérosols*

Il est recommandé de prélever une dose du contenu de tous les vaporisateurs à pression et aérosols avant de l'instiller dans l'œil. La seule exception concerne les substances conditionnées en bombes aérosol sous pression, qui sont impossibles à recueillir préalablement à l'instillation car elles se vaporisent. Dans ce cas, l'expérimentateur maintient l'œil de l'animal ouvert et administre la substance à tester en un seul jet d'environ une seconde, émis à 10 cm et directement en face de l'œil. Cette distance peut être modulée en fonction de la pression du jet et de sa composition. Il faut veiller à ce que la pression du jet n'endommage pas l'œil. Dans certains cas, il pourra être nécessaire d'évaluer l'ampleur des dégâts « mécaniques » risquant d'être causés à l'œil par la force du jet.

La dose d'aérosol peut être estimée grâce à une simulation de l'application menée comme suit : la substance est projetée à travers une ouverture de la taille d'un œil de lapin placée directement devant un papier. L'augmentation de poids du papier donne une idée approximative de la quantité administrée dans l'œil du lapin. Pour une substance volatile, la dose peut être estimée à partir du poids du récipient (dans lequel elle est recueillie) avant et après utilisation.

1.4.2.4 *Essai initial (essai in vivo de l'effet irritant/corrosif sur les yeux mené sur un seul animal)*

Conformément à la démarche expérimentale séquentielle (voir annexe 1), il est fortement recommandé de commencer par pratiquer l'essai *in vivo* sur un seul animal.

Si les résultats de cet essai, mené selon la procédure décrite, indiquent que la substance est corrosive ou fortement irritante pour l'œil, il n'y a pas lieu de mener d'autres essais d'irritation oculaire.

1.4.2.5 *Anesthésie locale*

L'anesthésie locale se pratique au cas par cas. Si l'analyse de la valeur probante des résultats montre que la substance risque de provoquer une douleur, ou si l'essai initial révèle que l'animal souffrira, un anesthésique local peut être administré avant l'instillation de la substance d'essai. Le type, la concentration et la dose d'anesthésique doivent être choisis avec soin pour éviter que son utilisation n'influe sur la réaction à la substance d'essai. L'œil témoin subira une anesthésie identique.

1.4.2.6 *Essai confirmatoire (essai d'irritation oculaire in vivo sur des animaux supplémentaires)*

Si l'essai initial ne fait apparaître aucun effet corrosif, la réaction négative ou d'irritation demande à être confirmée sur un ou deux animaux supplémentaires. Si l'essai initial provoque une forte irritation, indiquant que l'essai confirmatoire pourrait donner lieu à un effet très marqué (irréversible), on recommande de conduire l'essai confirmatoire sur un mode séquentiel en n'utilisant qu'un seul animal à la fois, plutôt que d'exposer les deux animaux simultanément. Si le deuxième animal manifeste des signes de corrosion ou d'irritation grave, l'essai s'arrête là. On pourra utiliser d'autres animaux s'il y a lieu de confirmer des réactions d'irritation faibles à modérées.

1.4.2.7 *Période d'observation*

La durée de la période d'observation doit être suffisante pour permettre d'évaluer à fond l'ampleur et la réversibilité des effets observés. Il faut cependant mettre un terme à l'expérience dès qu'un animal manifeste des signes persistants de détresse ou de douleur aiguës (9). Pour déterminer la réversibilité des effets, les animaux doivent normalement être observés durant 21 jours après l'administration de la substance d'essai. Si la réversibilité est constatée avant ce délai, l'expérience prend fin à ce moment-là.

1.4.2.7.1 *Observations cliniques et cotation de la gravité des réactions oculaires*

On examine les yeux 1, 24, 48 et 72 heures après l'application de la substance d'essai. Les animaux ne seront maintenus à l'épreuve que le temps nécessaire pour obtenir un résultat concluant. Les animaux manifestant des signes persistants de douleur ou de détresse aiguës doivent être euthanasiés rapidement, et ces symptômes sont à prendre en compte dans l'évaluation de la substance d'essai. Il faudra également euthanasier les animaux qui présentent les lésions oculaires suivantes à la suite de l'instillation : perforation de la cornée ou ulcération profonde de la cornée associée à un staphylome ; présence de sang dans la chambre antérieure de l'œil ; opacité cornéenne de niveau 4 persistant durant 48 heures ; absence de réflexe photomoteur (réaction iridienne de niveau 2) durant 72 heures ; ulcération de la membrane conjonctivale ; nécrose des conjonctives ou de la membrane nictitante, ou décollement du tissu nécrosé. L'euthanasie s'impose parce que ces lésions sont généralement irréversibles.

Les animaux qui ne présentent pas de lésions oculaires peuvent être écartés, mais seulement à partir du quatrième jour suivant l'instillation. Les animaux affectés de lésions légères à modérées doivent être gardés en observation jusqu'à ce que ces lésions disparaissent, ou durant 21 jours, soit jusqu'au terme de l'étude. L'expérimentateur déterminera la nature et la gravité des lésions ainsi que leur réversibilité en observant les animaux aux septième, quatorzième et vingt et unième jours.

L'intensité des réactions oculaires (conjonctives, cornée et iris) doit être consignée à chaque examen (tableau I). Toute autre lésion oculaire (par exemple un pannus, une coloration) et les troubles systémiques doivent également être signalés.

Pour examiner les réactions, on peut s'aider d'une loupe binoculaire, d'une lampe à fente portable, d'un biomicroscope ou d'un autre appareil approprié. Après l'enregistrement des observations effectuées à la vingt-quatrième heure, l'examen des yeux peut se poursuivre à la fluorescéine.

La cotation des réactions oculaires est forcément subjective. L'harmonisation de la cotation des réactions oculaires et l'appui aux laboratoires d'essai ainsi qu'au personnel chargé d'effectuer et d'interpréter les observations passent par une formation adéquate des expérimentateurs au système de cotation utilisé. La cotation des réactions cutanées devrait faire l'objet d'une évaluation à l'aveugle.

2. **RÉSULTATS**

2.2 **ÉVALUATION DES RÉSULTATS**

Le degré d'irritation oculaire devrait être évalué en considération de la gravité des lésions et de leur caractère réversible ou non. Les cotes individuelles ne fournissent pas une valeur absolue des propriétés irritantes d'une substance, celles-ci étant évaluées parallèlement à d'autres effets de la substance. En revanche, les cotes individuelles ont une valeur de référence et ne sont significatives que lorsqu'elles sont appuyées par une description et une évaluation complètes de toutes les observations.

3. **RAPPORT**

3.1 **RAPPORT D'ESSAI**

Le rapport d'essai doit contenir les informations suivantes:

Justification de l'essai *in vivo* : analyse de la valeur probante des résultats d'essais préexistants, notamment ceux qui procèdent de la démarche expérimentale séquentielle

- description des données pertinentes livrées par des essais précédents;
- données obtenues à chaque étape de la démarche expérimentale;
- description des essais effectués *in vitro*, détaillant les procédures utilisées et mentionnant les résultats obtenus avec les substances d'essai et avec les substances de référence;
- description de l'étude d'irritation/corrosion cutanée menée *in vivo*, mentionnant les résultats obtenus;
- justification de l'étude *in vivo* après analyse de la valeur probante des résultats disponibles.

Substance d'essai:

- données d'identification (par exemple, numéro CAS, source, pureté, impuretés connues, numéro de lot);
- état physique et propriétés physico-chimiques (par exemple, pH, volatilité, solubilité, stabilité, réactivité avec l'eau);
- s'il s'agit d'un mélange: composition et pourcentages relatifs des constituants;
- si on a eu recours à une anesthésie locale: identification, pureté, type, dose et interaction potentielle avec la substance d'essai.

Véhicule:

- identification, concentration (s'il y a lieu), volume utilisé;
- justification du choix du véhicule.

Animaux d'expérience :

- espèce/souche utilisée, justification de l'utilisation éventuelle d'un animal autre que le lapin albinos;
- âge de chaque animal au début de l'essai;
- nombre d'animaux de chaque sexe dans les groupes d'essai et témoin (le cas échéant);
- poids de chaque animal au début et à la fin de l'essai;
- source des animaux, conditions d'encagement, régime alimentaire, etc.

Résultats:

- description de la méthode utilisée pour coter l'irritation à chaque moment d'observation (par exemple lampe à fente portable, biomicroscope, fluorescéine);
- présentation sous forme de tableaux des réactions d'irritation ou de corrosion relevées chez chaque animal et à chaque moment d'observation jusqu'à la fin de la participation de chaque animal à l'essai;
- description circonstanciée du degré et de la nature de l'irritation ou de la corrosion observées;
- description de toute autre lésion oculaire observée (par exemple vascularisation, formation d'un pannus, adhérences, coloration);
- description des effets non oculaires locaux et des troubles systémiques, ainsi que des observations histopathologiques, le cas échéant.

Discussion des résultats.

3.2 **INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS**

L'extrapolation à l'humain des résultats d'études d'irritation oculaire menées sur des animaux de laboratoire n'est valable que dans une certaine mesure. Dans bien des cas, le lapin albinos est plus sensible que l'espèce humaine aux substances irritantes ou corrosives pour l'œil.

Lors de l'interprétation des résultats, il faut savoir reconnaître une irritation consécutive à une infection secondaire, laquelle ne doit pas être prise en compte.

4.

BIBLIOGRAPHIE

- (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) Méthode d'essai B.40 Corrosion cutanée
- (7) Méthode d'essai B.4. Toxicité aiguë : irritation/corrosion cutanée
- (8) OECD (1996) OECD Test Guidelines Programme: Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Held in Solna, Sweden, 22 - 24 January 1996 (<http://www.oecd.org/ehs/test/background.htm>).
- (9) OECD (1998) Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, November 1998 (<http://www.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm>).
- (10) Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. OECD Environmental Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No. 19 (<http://www.oecd.org/ehs/test/monos.htm>).

TABLEAU I : COTATION DES LÉSIONS OCULAIRES

Cornée

Opacité: degré de densité (les observations porteront sur les zones les plus denses)*

Pas d'ulcération ni d'opacité	0
Zones d'opacité (autres qu'un léger ternissement de l'éclat normal) dispersées ou diffuses ; détails de l'iris nettement visibles	1
Zone translucide aisément discernable ; détails de l'iris légèrement masqués	2
Zone nacrée ; détails de l'iris complètement invisibles; dimension de la pupille à peine discernable	3
Cornée opaque ; iris non discernable à travers l'opacité	4

Maximum possible: 4

*L'étendue de l'opacité cornéenne doit être précisée

Iris

Normal	0
Plis nettement plus profonds, congestion, tuméfaction, hyperhémie périornéenne modérée ou conjonctives injectées; iris réactif à la lumière (une réaction lente est positive)	1
Hémorragie, destruction marquée, ou absence de réaction à la lumière	2

Maximum possible: 2

Conjonctives

Rougeur (s'applique aux conjonctives palpébrale et bulbaire, mais pas à la cornée ni à l'iris)	
Normal	0
Hyperhémie de certains vaisseaux sanguins (yeux injectés)	1
Coloration pourpre diffuse, vaisseaux sanguins difficilement discernables les uns des autres	2
Coloration rouge soutenu diffuse	3

Maximum possible: 3

Chémosis

Tuméfaction (s'applique aux paupières et/ou aux membranes nictitantes)

Normal	0
Tuméfaction légèrement supérieure à la normale	1
Tuméfaction patente avec éversion partielle des paupières	2
Tuméfaction avec paupières à demi closes	3
Tuméfaction avec paupières plus qu'à demi closes	4

Maximum possible: 4

ANNEXE

Démarche expérimentale séquentielle pour les essais d'irritation et de corrosion oculaires

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

Pour concilier la fiabilité des résultats scientifiques et le bien-être animal, il importe d'éviter l'utilisation inutile d'animaux d'expérience et de réduire au minimum toute procédure expérimentale susceptible de déclencher des effets graves chez les animaux. Avant d'envisager un essai *in vivo*, on évaluera toutes les informations disponibles concernant l'éventuel pouvoir corrosif/irritant d'une substance sur les yeux. Il se peut que les données disponibles suffisent à classer une substance d'essai quant à son pouvoir d'irritation ou de corrosion oculaire, sans qu'il soit nécessaire d'effectuer des essais sur animaux. Ainsi, le recours à une analyse de la valeur probante des résultats et l'adoption d'une démarche expérimentale séquentielle limiteront au maximum la nécessité de pratiquer des essais *in vivo*, surtout si la substance risque d'engendrer des réactions violentes.

Il est recommandé d'évaluer les informations existantes concernant le pouvoir irritant ou corrosif des substances sur les yeux, à l'aide d'une analyse de la valeur probante des résultats, afin d'établir la nécessité de réaliser des études supplémentaires, autres que des études *in vivo* sur l'oeil, pour contribuer à caractériser ce pouvoir. Si cette nécessité se confirme, une démarche expérimentale séquentielle est préconisée pour produire les données expérimentales nécessaires. S'agissant des substances qui n'ont pas encore fait l'objet d'essais, il convient d'obtenir l'ensemble des données permettant d'évaluer le pouvoir corrosif ou irritant de la substance par une démarche séquentielle. La démarche expérimentale exposée dans la présente annexe a été élaborée au cours d'un atelier de l'OCDE (1). Elle a par la suite été entérinée et complétée dans le cadre du Système harmonisé de classification intégrée des risques pour la santé humaine et l'environnement liés aux substances chimiques (Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances), adopté par la vingt-huitième Réunion conjointe du Comité sur les produits chimiques et du Groupe de travail sur les produits chimiques, les pesticides et la biotechnologie, en novembre 1998 (2).

Si cette démarche expérimentale séquentielle ne fait pas partie intégrante de la méthode d'essai B.5, elle constitue cependant la procédure recommandée pour déterminer l'effet irritant ou corrosif sur les yeux. Cette procédure représente à la fois la meilleure pratique et une référence éthique dans ce domaine. La méthode d'essai décrit le mode opératoire de l'essai *in vivo* et récapitule les facteurs à prendre en considération avant d'envisager un tel essai. La démarche séquentielle préconise une analyse de la valeur probante des données existantes concernant les propriétés d'irritation ou de corrosion oculaires des substances et présente les différentes étapes permettant d'obtenir des données pertinentes sur les substances qui nécessitent d'autres études ou qui n'ont pas encore été étudiées. Elle préconise, dans un premier temps, la réalisation des essais *in vivo* ou *ex vivo* validés et acceptés, et ensuite, dans certaines circonstances, la mise en œuvre des études d'irritation/corrosion cutanée de la méthode d'essai B.4.

DESCRIPTION DE LA DÉMARCHE EXPÉRIMENTALE SÉQUENTIELLE

Avant d'entreprendre les essais inscrits dans la démarche expérimentale séquentielle (figure), il faut évaluer toutes les informations disponibles afin d'établir la nécessité d'effectuer des essais oculaires *in vivo*. Bien que l'évaluation de certains paramètres particuliers puisse livrer des informations significatives (par exemple un pH extrême), la totalité des informations existantes doit être prise en considération. L'analyse de la valeur probante des résultats portera sur toutes les données pertinentes concernant les effets de la substance en question et de ses analogues; elle débouchera sur une décision qui devra être justifiée. Il conviendra d'accorder une place prépondérante aux données se rapportant aux humains et aux animaux, et d'examiner ensuite les résultats des essais *in vitro* ou *ex vivo* sur la substance. Les essais *in vivo* de substances corrosives devront être évités chaque fois que cela est possible. Les facteurs pris en compte dans la démarche expérimentale sont repris ci-après:

Évaluation des données existantes sur les humains et les animaux (étape 1). Les données existantes sur l'être humain, notamment études cliniques, études sur les conditions de travail et rapports se rapportant à ces études, et/ou les résultats d'essais réalisés sur des animaux dans le cadre d'études oculaires sont à examiner en premier, car ils livrent des informations directement liées aux effets sur les yeux. Il convient ensuite d'évaluer les résultats des études d'irritation/corrosion cutanée menées sur l'homme et/ou l'animal. Les substances ayant un pouvoir avéré d'irritation ou de corrosion oculaires, de même que les substances qui provoquent une irritation ou corrosion cutanées ne doivent pas être instillées dans les yeux des animaux; ces dernières substances sont à considérer comme étant également corrosives et/ou irritantes pour les yeux. Les substances dont le caractère non corrosif et non irritant a été démontré de manière suffisante par des études oculaires antérieures ne doivent pas non plus faire l'objet d'essais *in vivo* sur l'oeil.

Analyse des relations structure-activité (RSA) (étape 2). Le cas échéant, les résultats d'essais sur des substances structurellement proches doivent être pris en considération. S'il existe suffisamment de données relatives aux humains et/ou aux animaux sur des substances structurellement proches ou sur des mélanges de ces substances pour attester leur pouvoir corrosif ou irritant sur les yeux, on peut supposer que la substance étudiée provoquera les mêmes réactions. Auquel cas, il n'est plus forcément nécessaire de tester la substance. Des résultats négatifs lors d'études de substances structurellement proches ou de mélanges de ces substances ne constituent pas une preuve suffisante de l'effet non corrosif ou non irritant d'une substance dans le cadre de la démarche expérimentale séquentielle. On déterminera le pouvoir corrosif ou irritant pour la peau et pour l'oeil en appliquant une méthode d'analyse RSA validée et acceptée.

Propriétés physico-chimiques et réactivité chimique (étape 3). Les substances présentant des valeurs de pH extrêmes, par exemple, $\leq 2,0$ ou $\geq 11,5$ sont susceptibles d'induire de fortes réactions locales. Si une valeur de pH extrême est un indice décisif quant au caractère corrosif ou irritant d'une substance pour l'oeil, son pouvoir tampon doit également entrer en ligne de compte (3)(4). Si le pouvoir tampon donne à penser que la substance peut ne pas être corrosive pour l'oeil, cette hypothèse demande à être confirmée par un autre essai, de préférence un essai *in vitro* ou *ex vivo* validé et accepté (voir étapes 5 et 6).

Prise en compte des autres informations existantes (étape 4) Toutes les informations disponibles concernant la toxicité systémique par voie cutanée doivent être évaluées à ce stade. Il convient également d'évaluer la toxicité cutanée aiguë de la substance d'essai. Si la substance d'essai s'est révélée très toxique par voie cutanée, il n'est pas nécessaire de la tester sur les yeux. Même s'il n'y a pas nécessairement de lien entre la toxicité cutanée aiguë et l'irritation/corrosion oculaire, on peut considérer que si un agent est très toxique par voie cutanée, il entraînera également une toxicité élevée en cas d'instillation dans l'oeil. Ces données peuvent aussi être prises en considération entre les étapes 2 et 3.

Résultats des essais in vitro ou ex vivo (étapes 5 et 6). Il est inutile de tester sur des animaux les substances dont le pouvoir fortement irritant ou corrosif a été mis en évidence par un essai *in vitro* ou *ex vivo* validé et accepté (7) (8) pour l'évaluation spécifique de l'irritation/corrosion oculaire ou cutanée. Il est en effet très vraisemblable que ces substances produiront des effets semblables *in vivo*. S'il n'existe pas d'essais *in vitro/ex vivo* validés et acceptés, il convient de passer directement à l'étape 7 en ignorant les étapes 5 et 6.

Évaluation in vivo du pouvoir irritant ou corrosif de la substance sur la peau (étape 7) S'il n'existe pas suffisamment d'éléments pour déterminer de façon concluante le pouvoir d'irritation/corrosion oculaire d'une substance à partir des résultats des études susmentionnées, ce pouvoir doit être évalué en premier lieu *in vivo*, suivant la méthode d'essai B.4 (4) et son annexe (9). S'il apparaît que la substance provoque une corrosion ou une forte irritation cutanée, il y a lieu de la considérer comme corrosive ou irritante pour l'oeil, à moins que d'autres éléments ne tendent à prouver le contraire. Auquel cas, un essai oculaire *in vivo* ne serait pas nécessaire. Si la substance n'est pas corrosive ni très irritante pour la peau, il y a lieu de pratiquer un essai oculaire *in vivo*.

Essai in vivo sur des lapins (étapes 8 et 9) : l'étude oculaire *in vivo* doit débiter par un essai initial réalisé sur un seul animal. Si les résultats de cet essai indiquent que la substance est très irritante ou corrosive pour l'oeil, il ne faut pas poursuivre les essais. Si cet essai ne fait apparaître aucun effet de corrosion ni d'irritation marquée, un essai confirmatoire est pratiqué sur deux animaux supplémentaires.

BIBLIOGRAPHIE

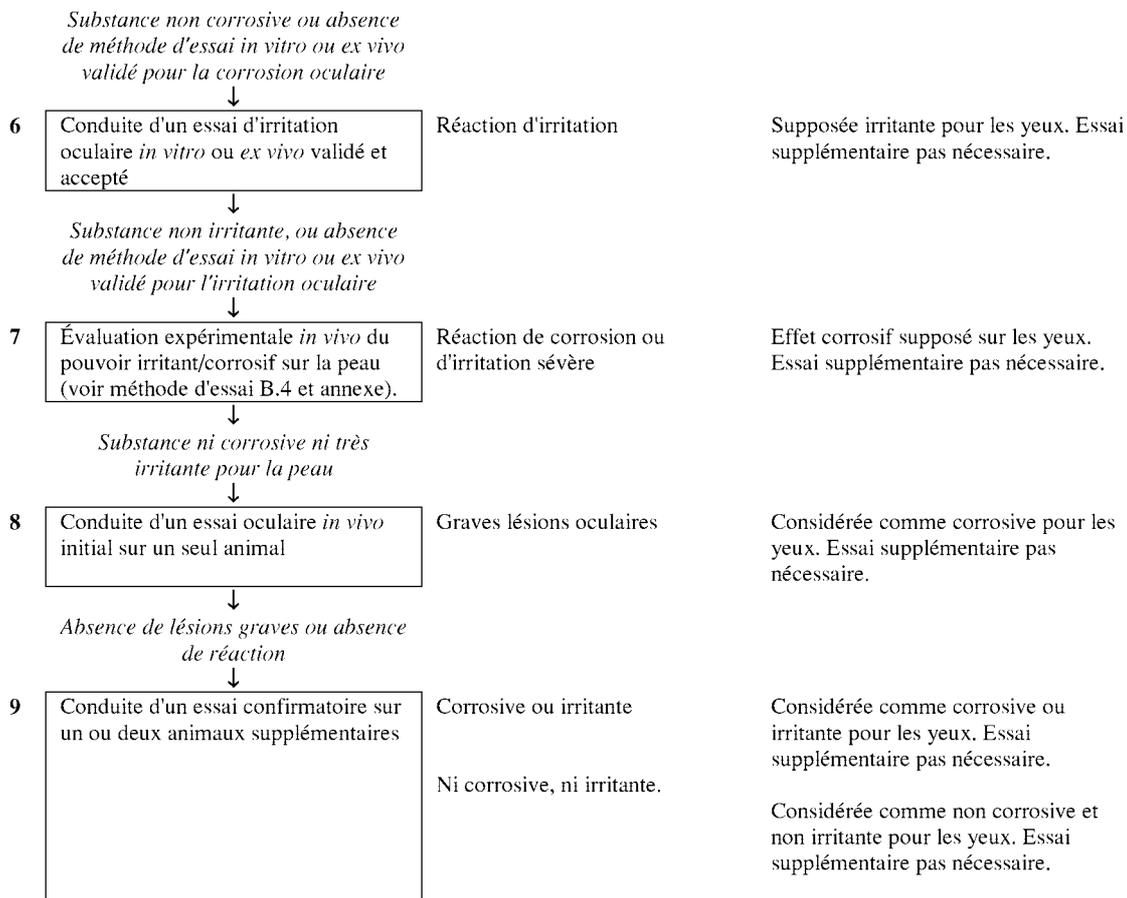
- (1) OECD (1996) OECD Test Guidelines Programme: Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Held in Solna, Sweden, 22 - 24 January 1996 (<http://www1.oecd.org/ehs/test/background.htm>).
- (2) OECD (1998) Harmonized 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) Méthode d'essai B.4. Toxicité aiguë : irritation/corrosion cutanée
- (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) Méthode d'essai B.40 Corrosion cutanée
- (9) Annexe à la méthode d'essai B.4 : Démarche expérimentale séquentielle pour les essais d'irritation et de corrosion cutanées

FIGURE

PROCÉDURE D'ESSAI ET D'ÉVALUATION DE L'IRRITATION ET DE LA CORROSION OCULAIRES

	Activité	Observation	Conclusion
1	Données existantes sur l'humain et/ou l'animal montrant des effets sur les yeux Données existantes sur l'humain et/ou l'animal montrant des effets de corrosion sur la peau Données existantes sur l'humain et/ou l'animal montrant des effets sévères d'irritation cutanée	Graves lésions oculaires Irritante pour les yeux Ni corrosive, ni irritante pour les yeux Corrosive pour la peau. Très irritante pour la peau	Effet déterminant d'emblée; Considérée comme corrosive pour les yeux Essai pas nécessaire. Effet déterminant d'emblée; Considérée comme irritante pour les yeux Essai pas nécessaire. Effet déterminant d'emblée; Considérée comme non corrosive et non irritante pour les yeux Essai pas nécessaire. Effet corrosif supposé sur les yeux Essai pas nécessaire. Supposée irritante pour les yeux Essai pas nécessaire.
	↓ <i>Pas d'information disponible ou informations non concluantes</i> ↓		
2	Conduite d'une analyse RSA sur la corrosion ou l'irritation oculaire Conduite d'une analyse RSA sur la corrosion cutanée	Effet prévu sur les yeux : lésions graves Effet prévu sur les yeux : irritation Effet prévu sur la peau : corrosion	Effet corrosif supposé sur les yeux. Essai pas nécessaire. Supposée irritante pour les yeux. Essai pas nécessaire. Effet corrosif supposé sur les yeux Essai pas nécessaire.
	↓ <i>Effet impossible à prédire ou prédiction incertaine ou négative</i> ↓		
3	Mesure du pH (pouvoir tampon, le cas échéant)	pH ≤ 2 ou $\geq 11,5$ (avec pouvoir tampon élevé, le cas échéant)	Effet corrosif supposé sur les yeux. Essai pas nécessaire.
	↓ <i>$2 < \text{pH} < 11,5$ ou $\text{pH} \leq 2,0$ ou $\geq 11,5$ avec pouvoir tampon faible ou nul, le cas échéant</i> ↓		
4	Évaluation de la toxicité systémique par voie cutanée	Très toxique aux concentrations qui seraient utilisées dans l'essai oculaire	La substance serait trop toxique pour être testée. Essai pas nécessaire.
	↓ <i>Informations non disponibles, ou substance pas très toxique</i> ↓		
5	Conduite d'un essai <i>in vitro</i> ou <i>ex vivo</i> de corrosion oculaire validé et accepté	Réaction de corrosion	Effet corrosif supposé sur les yeux. Essai supplémentaire pas nécessaire.
	↓		



ANNEXE 2F

B.31. ÉTUDE DE LA TOXICITÉ POUR LE DÉVELOPPEMENT PRÉNATAL

1. MÉTHODE

Cette méthode est calquée sur la ligne directrice d'essai n° 414 (2001) de l'OCDE.

1.1 INTRODUCTION

La présente méthode d'essai relative à la toxicité pour le développement est destinée à livrer des informations générales concernant les effets d'une exposition prénatale sur la femelle gravide et sur l'organisme en développement qu'elle porte en elle; cela recouvre notamment l'évaluation des effets sur la mère, ainsi que la mortalité fœtale, les anomalies structurelles ou les altérations de croissance du fœtus. Les déficits fonctionnels, qui représentent pourtant un aspect important du développement, ne sont pas étudiés dans le cadre de la présente méthode d'essai. Ces déficits peuvent être étudiés séparément ou en complément à la présente méthode dans le cadre de la méthode d'essai relative à la neurotoxicité pour le développement. Cette dernière méthode ainsi que la méthode relative à la toxicité pour la reproduction sur deux générations indiquent comment dépister les déficits fonctionnels et d'autres effets postnataux.

Il est possible que la présente méthode d'essai nécessite certaines adaptations dans des cas particuliers, compte tenu, par exemple, des propriétés physico-chimiques ou toxicologiques spécifiques de la substance d'essai. Ces adaptations sont acceptables lorsque des données scientifiques convaincantes donnent à penser qu'elles rendront l'essai plus informatif. Le cas échéant, ces données scientifiques devront être soigneusement consignées dans le rapport d'essai.

1.2 DÉFINITIONS

Toxicologie du développement : l'étude des effets nocifs sur un organisme en développement, qui peuvent résulter d'une exposition antérieure à la conception, contemporaine au développement prénatal ou postnatale, jusqu'à la maturation sexuelle. La toxicité pour le développement se manifeste principalement par 1) la mort de l'organisme, 2) une anomalie structurelle, 3) une altération de croissance, 4) un déficit fonctionnel. Autrefois, la toxicologie du développement était souvent dénommée "tératologie".

Effet nocif : toute altération liée au traitement par rapport à une situation de référence, qui diminue la capacité d'un organisme à survivre, se reproduire ou s'adapter à l'environnement. La toxicologie du développement, prise dans son sens le plus large, inclut tous les effets qui interfèrent avec le développement normal du produit de conception, avant et après la naissance.

Altération de croissance : une altération qui touche les organes ou le poids corporel ou la taille de la progéniture.

Altérations (anomalies) : altérations structurelles du développement qui comprennent les malformations et les variations (28).

Malformation/Anomalie majeure : changement structurel considéré comme préjudiciable à l'animal (peut aussi être léthal) et généralement rare.

Variation/Anomalie mineure : changement structurel considéré comme peu ou pas préjudiciable à pour l'animal; peut être transitoire et peut survenir fréquemment dans la population témoin.

Produit de conception : l'ensemble des produits de la fécondation d'un œuf, à n'importe quel stade du développement entre la fécondation et la naissance, comprenant les membranes extra-embryonnaires et l'embryon ou le fœtus.

Implantation (nidation) : la fixation du blastocyste à la muqueuse épithéliale de l'utérus, y compris la pénétration du blastocyste dans l'épithélium utérin et la nidation dans l'endomètre.

Embryon : le premier stade de développement d'un organisme, plus précisément la phase de développement d'un œuf fécondé qui commence après l'apparition du grand axe et s'achève quand toutes les structures principales sont présentes

Embryotoxicité : nocivité pour la structure, le développement, la croissance et/ou la viabilité d'un embryon.

Fœtus : produit de conception, durant la période post-embryonnaire.

Fœtotoxicité : nocivité pour la structure, le développement, la croissance et/ou la viabilité d'un fœtus.

Avortement : expulsion prématurée hors de l'utérus des produits de conception : embryon ou fœtus non viable.

Résorption : phénomène par lequel un produit de conception qui meurt après l'implantation se résorbe ou a été résorbé .

Résorption précoce : trace d'implantation non accompagnée d'un embryon ou d'un fœtus reconnaissable.

Résorption tardive : embryon ou fœtus mort qui présente des changements dégénératifs externes.

DSET : Dose Sans Effet Toxique (correspond à la NOAEL : No Observed Adverse Effect Level)

1.3 SUBSTANCE DE RÉFÉRENCE

Aucune

1.4 PRINCIPE DE LA METHODE D'ESSAI

Normalement, la substance d'essai est administrée aux femelles gravides, au moins à partir de la nidation et jusqu'à la veille du sacrifice, lequel devrait être programmé à une date aussi proche que possible du jour probable de mise bas, sans être trop tardif pour éviter la perte de données en cas de mise bas prématurée. La méthode d'essai ne porte pas uniquement sur la période de l'organogenèse (comprise, par exemple entre le 5ème et le 15ème jour chez les rongeurs et entre le 6ème et le 18ème jour chez le lapin), mais étudie aussi les effets survenus tout au long de la gestation, depuis le stade pré-implantatoire, selon les besoins, jusqu'à la veille de la césarienne. Les femelles sont sacrifiées peu avant la césarienne, le contenu utérin est examiné et les fœtus étudiés pour détecter les anomalies externes visibles ainsi que les modifications des tissus mous et du squelette.

1.5 DESCRIPTION DE LA METHODE D'ESSAI

1.5.1 **Choix de l'espèce animale**

Il est recommandé de pratiquer l'essai sur l'espèce la plus appropriée et d'employer les espèces et les souches de laboratoire couramment utilisées dans les essais de toxicité prénatale pour le développement. L'espèce de rongeur préféré est le rat et l'espèce non-rongeur préféré est le lapin. Le cas échéant, l'emploi d'une autre espèce doit être justifié.

1.5.2 **Conditions d'encagement et d'alimentation**

L'animalerie doit être à 22°C ($\pm 3^\circ$) pour les rongeurs et à 18°C ($\pm 3^\circ$) pour les lapins, avec un taux d'humidité relative d'au moins 30 % et de préférence inférieur à 70 % sauf durant le nettoyage de la salle, l'idéal se situant entre 50 et 60 %. On appliquera un éclairage artificiel, avec un cycle de 12 heures de clarté et 12 heures d'obscurité. Un régime alimentaire classique pour animaux de laboratoire, avec eau potable à satiété, conviendra.

L'accouplement doit se dérouler dans des cages appropriées. Bien qu'il soit préférable de placer les animaux s'étant accouplés dans des cages individuelles, l'encagement par petits groupes est aussi acceptable.

1.5.3 **Préparation des animaux**

Il convient d'utiliser des animaux sains, acclimatés aux conditions du laboratoire pendant au moins 5 jours et n'ayant pas été soumis à d'autres essais. On indiquera l'espèce, la souche, la source, le sexe, le poids et/ou l'âge des animaux d'expérience. Les animaux de tous les groupes d'essai devraient, dans toute la mesure du possible, être du même âge et du même poids. On emploiera de jeunes femelles adultes et nullipares pour chaque dose. On accouplera les femelles avec des mâles de la même espèce et de la même souche, sans accoupler les membres d'une même fratrie. Dans le cas des rongeurs, le jour 0 de la gestation est celui où l'on observe un bouchon vaginal et/ou la présence de sperme ; s'agissant des lapins, le jour 0 est ordinairement celui du coït ou de l'insémination artificielle si cette technique est utilisée. Les femelles accouplées seront réparties au hasard entre groupes traités et groupes témoins. On installera les cages de façon à réduire au minimum les éventuels effets liés à leur emplacement. Chaque animal sera désigné par un numéro d'identification propre. En cas d'accouplement par lots, les animaux d'un même lot seront répartis uniformément entre les groupes. De la même façon, les femelles inséminées par un même mâle seront réparties uniformément entre les groupes.

1.6 **MODE OPÉRATOIRE**

1.6.1 **Nombre et sexe des animaux**

Chaque groupe traité et témoin doit contenir un nombre de femelles suffisant pour qu'une autopsie puisse être pratiquée sur environ 20 femelles présentant un point d'implantation. Des groupes comptant moins de 16 femelles présentant un point d'implantation risquent d'être inadéquats. La mortalité maternelle n'invalide pas nécessairement l'étude, tant qu'elle demeure inférieure à 10 pour cent environ.

1.6.2 **Préparation des doses**

Si on emploie un véhicule ou un autre additif pour faciliter l'administration des doses, il convient d'être attentif aux effets sur l'absorption, la distribution, le métabolisme et la rétention ou l'excrétion de la substance d'essai, aux effets sur les propriétés chimiques de la substance d'essai, lesquels sont susceptibles de modifier sa toxicité ainsi qu'aux effets sur la consommation de nourriture ou d'eau et sur l'état nutritionnel des animaux. Le véhicule ne doit pas être toxique pour le développement ni influencer sur la reproduction.

1.6.3 **Dosage**

Normalement, la substance d'essai est administrée quotidiennement depuis la nidation (par exemple 5 jours après l'accouplement) jusqu'à la veille du jour où la césarienne est prévue. Si des études préliminaires, le cas échéant, ne font pas état d'un risque élevé de pertes pré-implantatoires, il est possible d'administrer le traitement pendant toute la durée de la gestation, depuis l'accouplement jusqu'à la veille de la césarienne. Nul n'ignore que le stress ou des erreurs de manipulation pendant la gestation peuvent engendrer des pertes prénatales. Afin de prévenir des pertes fœtales non liées au traitement, on évitera de manipuler inutilement les femelles gravides ou de les soumettre à des facteurs de stress externes comme le bruit.

On utilise au moins trois doses différentes et un groupe témoin en parallèle. Des animaux sains sont répartis au hasard entre les groupes traités et témoins. Les doses doivent être espacées de façon à produire une gradation des effets toxiques. Sauf limitations imposées par les propriétés physiques, chimiques ou biologiques de la substance d'essai, la dose la plus élevée devrait avoir une certaine toxicité pour le développement et/ou la mère (signes cliniques ou diminution du poids corporel), sans entraîner la mort ni provoquer des souffrances importantes. Au moins une dose intermédiaire devrait donner lieu à la plus faible manifestation observable de toxicité. La dose la plus faible ne devrait produire aucun signe de toxicité pour la mère ou pour le développement. Il convient de choisir une série décroissante doses afin de mettre en évidence une éventuelle relation dose-effet et une concentration maximale sans effet nocif observé (DSET). L'écart optimal entre les doses d'une série décroissante est généralement d'un facteur deux ou quatre et l'adjonction d'un quatrième groupe d'essai est souvent préférable à la fixation d'écarts trop importants (par exemple, supérieurs à un facteur dix). Bien que le but soit d'établir une DSET maternelle, les études qui n'aboutissent pas à la détermination de cette valeur sont également acceptables (1).

Les doses doivent être choisies en tenant compte de toutes les données de toxicité disponibles ainsi que des informations complémentaires sur le métabolisme et la toxicocinétique de la substance d'essai ou de substances apparentées. Ces informations seront aussi utiles pour justifier l'échelle des doses.

On incorporera un groupe témoin en parallèle. La substance d'essai n'est pas administrée à ce groupe qui n'est traité que par le véhicule, le cas échéant. Tous les groupes doivent recevoir le même volume de substance d'essai ou de véhicule. Les animaux du ou des groupes témoins seront manipulés de la même façon que les animaux du groupe d'essai. Les groupes témoins auxquels on administre le véhicule doivent recevoir la plus grande quantité utilisée de ce dernier (celle que reçoit le groupe traité à la dose la plus faible).

1.6.4 **Essai limite**

Si un essai réalisé à une dose d'au moins 1000 mg/kg de poids corporel/jour, administrée par voie orale, selon la méthode décrite dans cette étude, n'entraîne aucune toxicité apparente chez les femelles gravides ou dans leur progéniture, et qu'aucun effet n'est escompté au vu des données disponibles (concernant, par exemple, des composés présentant une structure et/ou une action métabolique analogues) il n'est pas indispensable de mener une étude complète sur trois doses différentes. Suivant le niveau d'exposition humaine prévu, il peut être nécessaire d'appliquer une dose orale plus élevée dans l'essai limite. Pour d'autres modes d'administration, tels que l'inhalation ou l'application cutanée, ce sont souvent les propriétés physicochimiques de la substance d'essai qui définissent et limitent le niveau maximal d'exposition pouvant être atteint (par exemple, l'application cutanée ne doit faire apparaître aucune toxicité locale grave).

1.6.5 Administration des doses

La substance d'essai ou le véhicule sont habituellement administrés oralement par intubation. Si l'expérimentateur opte pour un autre mode d'administration, il devra motiver sa décision et justifier son choix, et procéder aux modifications nécessaires (2) (3) (4). La substance d'essai doit être administrée à peu près à la même heure chaque jour.

Normalement, on calcule la dose destinée à chaque animal d'après la pesée la plus récente de ce dernier. Il convient toutefois d'être prudent lorsqu'on adapte la dose au cours du dernier tiers de la gestation. On s'appuiera sur les données existantes pour sélectionner la dose de façon à prévenir un excès de toxicité pour la mère. Néanmoins, si on constate une toxicité excessive chez les mères traitées, il faudra les euthanasier. Si plusieurs femelles gravides manifestent des signes de toxicité excessive, on envisagera de sacrifier le groupe traité à cette dose. Si on recourt au gavage, il faudrait de préférence administrer la substance en une seule fois à l'aide d'une sonde gastrique ou d'une canule appropriée. Le volume maximal de liquide administrable en une seule fois dépend de la taille de l'animal. Ce volume ne devrait pas dépasser 1 ml/100 g de poids corporel, sauf dans le cas des solutions aqueuses où l'on peut aller jusqu'à 2 ml/100 g de poids corporel. Lorsqu'on utilise de l'huile de maïs comme véhicule, le volume ne devrait pas excéder 0,4 ml/100 g de poids corporel. On réduira au minimum la variabilité du volume d'essai en adaptant les concentrations de façon à obtenir un volume constant à toutes les doses.

1.6.6 Observation des mères

Les observations cliniques sont effectuées et notées au moins une fois par jour, de préférence à la ou aux mêmes heures, en tenant compte de la période durant laquelle on prévoit que les effets atteindront leur intensité maximale. On consignera l'état des animaux, notamment, les animaux morts ou moribonds, les changements comportementaux pertinents et tous les signes de toxicité apparents.

1.6.7 Poids corporel et consommation de nourriture

Les animaux sont pesés au jour 0 de gestation ou au plus tard au jour 3 si des animaux déjà accouplés sont fournis par un éleveur extérieur, puis au premier jour de traitement et au moins tous les trois jours durant la période d'administration et enfin le jour du sacrifice.

Le relevé de la consommation d'aliments doit être effectué tous les trois jours et coïncider avec les jours de pesée des animaux.

1.6.8 Autopsie

On sacrifiera les femelles un jour avant la date prévue de mise bas. Les femelles qui présentent des signes d'avortement ou de mise bas prématurée avant la date prévue du sacrifice doivent être sacrifiées et faire l'objet d'un examen macroscopique complet.

Juste après le sacrifice ou la mort en cours de l'étude, les mères sont soumises à un examen macroscopique destiné à mettre en évidence d'éventuels changements pathologiques ou anomalies structurelles. Pour demeurer objectif, il est préférable que l'expérimentateur ignore la dose administrée au groupe lors de l'observation des mères au cours de la césarienne et de l'examen subséquent des fœtus.

1.6.9 Examen du contenu utérin

Il y a lieu d'enlever l'utérus juste après le sacrifice ou dès que possible après la mort pour s'assurer de l'état de gravidité des femelles. On examinera aussi les utérus apparemment non gravides (par exemple, par coloration au sulfure d'ammonium chez les rongeurs et par la coloration de Salewski ou par une méthode équivalente appropriée chez les lapins) pour confirmer la non-gravidité (5).

Les utérus gravides sont pesés, col inclus. Les poids des utérus gravides de femelles mortes en cours d'essai ne sont pas déterminés.

On compte le nombre de corps jaunes chez les femelles gravides.

Le contenu utérin est examiné afin de relever le nombre d'embryons ou de fœtus morts et le nombre de fœtus viables. Il est nécessaire de décrire le degré de résorption pour évaluer la date approximative de la mort du produit de conception (voir paragraphe 1.2).

1.6.10 Examen des fœtus

Il convient de déterminer le sexe et le poids corporel de chaque fœtus.

On recherche la présence d'altérations externes sur chaque fœtus.

On examine les fœtus pour voir s'ils présentent des altérations du squelette ou des tissus mous (par exemple des variations et des malformations ou des anomalies) (7) (8) (9) (10) (11) (12) (13) (14) (15) (16) (17) (18) (19) (20) (21) (22) (23) (24). La catégorisation des altérations fœtales est préférable, mais facultative. Si on procède à une catégorisation, il faut stipuler clairement les critères qui définissent chaque catégorie. On vérifiera avec une attention particulière si le développement du tractus génital n'a pas été altéré.

Pour les rongeurs, on prépare environ la moitié de chaque portée en vue de l'examen des altérations squelettiques. Le restant sera préparé en vue de l'examen des altérations des tissus mous, lequel sera conduit au moyen de coupes sériées réalisées suivant des méthodes reconnues ou appropriées ou de techniques soignées de dissection macroscopique.

S'agissant des non-rongeurs, par exemple les lapins, les éventuelles altérations des tissus mous et du squelette doivent être recherchées sur tous les fœtus. On examine les corps de ces fœtus en les disséquant soigneusement pour repérer des altérations des tissus mous; cette opération peut faire appel à une technique permettant d'effectuer un examen plus approfondi de la structure cardiaque interne (25). Les têtes de la moitié des fœtus examinés de cette manière doivent être prélevées et préparées en vue de l'évaluation des altérations des tissus mous (notamment les yeux, le cerveau, les conduits nasaux et la langue), selon des techniques classiques de coupes sériées (26) ou une méthode ayant la même sensibilité. Les corps de ces fœtus et ceux des fœtus intacts restants sont préparés puis examinés pour établir s'ils présentent des altérations squelettiques, à l'aide des mêmes méthodes que pour les rongeurs.

2 RÉSULTATS

2.1 TRAITEMENT DES RÉSULTATS

Les résultats sont consignés séparément pour chaque femelle et sa progéniture, et résumés sous forme de tableaux, reprenant pour chaque groupe d'essai et chaque génération, le nombre d'animaux présents au début de l'essai, le nombre d'animaux morts durant l'essai ou euthanasiés, la date de chaque mort ou euthanasie, le nombre de femelles gravides, le nombre d'animaux présentant des signes de toxicité, la description des signes de toxicité observés, notamment le moment où ils ont débuté, leur durée et leur gravité, les types d'observations pratiquées sur les embryons ou fœtus et toutes les données pertinentes sur la portée.

On évaluera les résultats numériques par une méthode statistique appropriée, en prenant la portée comme unité pour l'analyse des résultats. Il convient d'utiliser une méthode statistique reconnue; le choix de la méthode doit intervenir au stade de la conception de l'étude et doit être justifié. Les résultats concernant les animaux qui n'ont pas survécu jusqu'à la date programmée du sacrifice doivent aussi être consignés. Ces résultats peuvent être inclus dans les moyennes des groupes, s'il y a lieu. La pertinence des résultats obtenus pour ces animaux et partant, la décision de les inclure ou non dans une moyenne de groupe, doit être appréciée au cas par cas.

2.2 ÉVALUATION DES RÉSULTATS

Les résultats de l'étude de toxicité pour le développement prénatal doivent être évalués du point de vue des effets observés. L'évaluation doit comprendre les informations suivantes :

- les résultats des essais maternels et fœtaux, incluant une évaluation de la relation, ou de l'absence de relation, entre l'exposition des animaux à la substance d'essai et la fréquence et la gravité de tous les effets observés ;
- les critères appliqués pour catégoriser, le cas échéant, les altérations externes des fœtus, et les altérations de leurs tissus mous ou de leur squelette ;
- selon les besoins, les données antérieures relatives aux témoins pour affiner l'interprétation des résultats de l'étude ;
- les nombres utilisés pour calculer tous les pourcentages ou indices ;
- l'analyse statistique appropriée des résultats de l'étude; il convient de fournir suffisamment d'informations sur la méthode d'analyse, pour qu'un réviseur ou un statisticien indépendant puisse réévaluer et reconstruire l'analyse.

Pour toute étude ne révélant aucun effet toxique, il y a lieu d'envisager des expériences complémentaires destinées à déterminer l'absorption et la biodisponibilité de la substance d'essai.

2.3 INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Une étude de la toxicité pour le développement prénatal fournit des informations sur les effets de l'exposition répétée à une substance administrée durant la gestation sur les mères et sur le développement intra-utérin de leur progéniture. Les résultats de cette étude doivent être interprétés à la lumière de ceux des études de toxicité subchronique, de reproduction, des études toxicocinétiques et autres. Comme l'étude est centrée à la fois sur la toxicité générale du point de vue de la mère et sur la toxicité pour le développement, ses résultats permettront dans une certaine mesure de distinguer les effets sur le développement qui surviennent en l'absence d'une toxicité générale, des effets qui n'apparaissent qu'à des doses qui sont également toxiques pour la mère (27).

3

RAPPORT**RAPPORT D'ESSAI**

Le rapport d'essai doit inclure les informations particulières énumérées ci-dessous :

Substance d'essai :

- état physique et, s'il y a lieu, propriétés physico-chimiques
- identification, y compris le numéro du CAS s'il est connu
- pureté

Véhicule (le cas échéant):

- justification du choix du véhicule s'il diffère de l'eau.

Animaux d'expérience :

- espèce et souche utilisée
- nombre et sexe des animaux
- origine, conditions d'encagement, régime alimentaire, etc.
- poids de chaque animal au début de l'essai

Conditions d'essai :

- justification du choix des doses appliquées ;
- détails concernant la préparation de la substance d'essai ou son incorporation aux aliments, la concentration obtenue, la stabilité et l'homogénéité de la préparation ;
- détails sur l'administration de la substance d'essai ;
- conversion de la concentration de la substance d'essai (ppm) dans la nourriture ou l'eau de boisson en dose administrée (mg/kg de poids corporel/jour), s'il y a lieu ;
- conditions ambiantes
- détails concernant la qualité de l'alimentation et de l'eau de boisson.

Résultats :

Données relatives à la toxicité pour la mère en fonction des doses, précisant entre autres :

- le nombre d'animaux au début de l'essai, le nombre de survivants, le nombre de femelles gravides, le nombre d'avortements et de mises bas prématurées;
- le jour de la mort si celle-ci est intervenue en cours d'essai et le nombre des animaux ayant survécu jusqu'au jour du sacrifice;
- les résultats concernant les animaux qui n'ont pas survécu jusqu'à la date du sacrifice doivent être consignés, mais non inclus dans les comparaisons statistiques entre les groupes;
- le jour de l'observation de chaque signe clinique anormal et son évolution ultérieure;
- le poids corporel, sa variation et le poids de l'utérus gravide, y compris, si on le souhaite, la variation du poids corporel corrigée en fonction du poids de l'utérus gravide;
- la consommation de nourriture, et d'eau si elle a été mesurée;
- les résultats de l'autopsie, y compris le poids de l'utérus;
- les valeurs de la DSET se rapportant aux effets sur la mère et sur le développement.

Données concernant les effets sur le développement en fonction des doses, pour les portées attestées par des implantations, notamment :

- nombre de corps jaunes ;
- nombre d'implantations, nombre et pourcentage de fœtus vivants et morts et nombre de résorptions;
- nombre et pourcentage de pertes pré- et postimplantatoires.

Données concernant les effets sur le développement en fonction des doses, pour les portées comportant des fœtus vivants, notamment :

- nombre et pourcentage de descendants vivants;
- proportion de mâles et de femelles;
- poids corporel des fœtus, de préférence par sexe et pour les deux sexes confondus;
- malformations externes, des tissus mous et du squelette et autres altérations pertinentes;
- critères de catégorisation, le cas échéant;
- nombre total et pourcentage de fœtus et de portées présentant une quelconque altération externe, des tissus mous ou du squelette; types et fréquence des différentes anomalies et autres altérations pertinentes.

Discussion

Conclusions.

4

BIBLIOGRAPHIE

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

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

ANNEXE 2G

B.35. ETUDE DE TOXICITE POUR LA REPRODUCTION SUR DEUX GENERATIONS

1. METHODE

Cette méthode est calquée sur la ligne directrice d'essai n° 416 (2001) de l'OCDE.

1.1 INTRODUCTION

La présente méthode d'essai relative à la toxicité pour la reproduction sur deux générations est destinée à livrer des informations générales concernant les effets d'une substance d'essai sur l'intégrité et le fonctionnement des appareils reproducteurs mâle et femelle, notamment la fonction gonadique, le cycle œstral, le comportement à l'égard de l'accouplement, la conception, la gestation, la mise-bas, la lactation, le sevrage ainsi que la croissance et le développement de la descendance. L'étude peut aussi montrer les effets de la substance d'essai sur la morbidité et la mortalité néonatales, fournir des données préliminaires sur la toxicité prénatale et postnatale pour le développement et orienter des essais ultérieurs. Cette méthode étudie non seulement la croissance et le développement de la génération F1, mais évalue aussi l'intégrité et le fonctionnement des appareils reproducteurs mâle et femelle, ainsi que la croissance et le développement de la génération F2. Il est possible d'obtenir des informations supplémentaires sur la toxicité pour le développement et les déficits fonctionnels en complétant le présent protocole par des études décrites dans les méthodes d'essai relatives à la toxicité pour le développement et/ou à la neurotoxicité pour le développement, ou en procédant à des études séparées à l'aide de méthodes d'essai appropriées.

1.2 PRINCIPE DE LA METHODE D'ESSAI

La substance d'essai est administrée à différentes doses échelonnées suivant une gradation à plusieurs groupes de mâles et de femelles. On administre la substance aux mâles de la génération P (génération parentale) durant leur croissance et pendant au moins un cycle spermatogène complet (environ 56 jours chez la souris et 70 jours chez le rat) afin de mettre en évidence tous ses effets nocifs sur la spermatogenèse. Les effets sur le sperme sont déterminés d'après plusieurs paramètres, comme la morphologie et la motilité des spermatozoïdes, sur des préparations de tissus et au cours d'un examen histopathologique détaillé. Si l'on dispose de données sur la spermatogenèse provenant d'une précédente étude à doses répétées de durée suffisante, par exemple 90 jours, il n'est pas nécessaire d'inclure les mâles de la génération P dans l'évaluation. Il est toutefois recommandé de conserver des échantillons ou des enregistrements numériques du sperme de la génération P, en vue d'une évaluation ultérieure. Les femelles de la génération P doivent être traitées durant la croissance et pendant plusieurs cycles œstraux complets de manière à pouvoir détecter tous les effets nocifs de la substance d'essai sur le cycle œstral. La substance d'essai est administrée aux animaux de la génération P durant la période d'accouplement, pendant les gestations qui en résultent et jusqu'au sevrage de la descendance F1. Après le sevrage, la descendance F1 continue de recevoir la substance durant toute sa croissance et l'administration se poursuit au cours de l'accouplement et de la production de la génération F2, jusqu'au sevrage de cette dernière.

Tous les animaux subissent un examen clinique et pathologique destiné à mettre en évidence des signes de toxicité ; cet examen s'attache en particulier à l'évaluation des effets sur l'intégrité et le fonctionnement des appareils reproducteurs mâle et femelle, ainsi que sur la croissance et le développement de la descendance.

1.3 DESCRIPTION DE LA METHODE D'ESSAI

1.3.1 **Choix des espèces**

Le rat est l'espèce qui convient le mieux à cet essai. Si on utilise une autre espèce, il faut justifier ce choix et effectuer les adaptations qui s'imposent. Les souches à faible taux de fécondité ou chez lesquelles l'incidence des anomalies du développement est notablement élevée sont à proscrire. Au début de l'étude, la variation pondérale des animaux utilisés doit être minimale et ne doit pas dépasser 20 % du poids moyen des représentants de chaque sexe.

1.3.2 **Conditions d'encagement et d'alimentation**

L'animalerie doit être à 22°C (+3°C), avec un taux d'humidité relative d'au moins 30 % et de préférence inférieur à 70 %, sauf pendant le nettoyage de la salle, l'idéal se situant entre 50 et 60 %. On appliquera un éclairage artificiel, avec un cycle de 12 heures de clarté et 12 heures d'obscurité. Un régime alimentaire classique pour animaux de laboratoire, avec eau potable à satiété, conviendra. Le choix des aliments sera guidé par la nécessité d'y incorporer la substance d'essai, si elle est administrée par cette voie.

Les animaux peuvent être encagés individuellement ou par petits groupes du même sexe. L'accouplement doit se dérouler dans des cages appropriées. Après constatation de la copulation, les femelles s'étant accouplées seront placées dans des cages individuelles aménagées pour la mise-bas ou la maternité. Les rates s'étant accouplées peuvent aussi être encagées par petits groupes et séparées un ou deux jours avant la mise-bas. À l'approche de la mise-bas, on leur fournira des matériaux de nidification appropriés et déterminés.

1.3.3 **Préparation des animaux**

Il convient d'utiliser de jeunes animaux sains, acclimatés aux conditions du laboratoire pendant au moins 5 jours et n'ayant pas été soumis à d'autres essais. On indiquera l'espèce, la souche, la source, le sexe, le poids et/ou l'âge des animaux d'expérience. Il importe de connaître les liens collatéraux entre les animaux, afin de ne pas accoupler les membres d'une même fratrie. Les animaux sont répartis au hasard entre les groupes témoins et les groupes traités (il est recommandé de les regrouper par tranche de poids corporel). Les cages sont placées de manière à réduire au minimum les éventuels effets liés à leur disposition. Chaque animal est désigné par un numéro d'identification propre. Les animaux de la génération P doivent être identifiés avant le début du traitement; ceux de la génération F1 qui sont sélectionnés pour l'accouplement seront identifiés au moment du sevrage. On notera la portée d'origine de tous les animaux de la génération F1 sélectionnés. Il est également recommandé d'identifier chaque petit dès que possible après la naissance, si on envisage de les peser individuellement ou d'effectuer des essais fonctionnels.

Les animaux de la génération P seront âgés de 5 à 9 semaines au début du traitement. Tous les groupes d'essai doivent être aussi homogènes que possible quant au poids et à l'âge des animaux.

1.4 MODE OPÉRATOIRE

1.4.1 Nombre et sexe des animaux

Chaque groupe d'essai ou témoin doit comporter un nombre d'animaux suffisant pour que l'on puisse disposer en fin d'essai d'au moins 20 femelles gravides à terme ou presque. Pour les substances qui occasionnent des effets indésirables (stérilité, toxicité excessive à la dose élevée, par exemple), cela risque d'être impossible. Le but est d'obtenir suffisamment de femelles gravides pour pouvoir procéder à une évaluation significative de l'action de la substance étudiée sur la fertilité, la gestation, le comportement maternel et la période d'allaitement, la croissance et le développement de la descendance F1, depuis la conception jusqu'à la maturité, et sur le développement de leur descendance F2 jusqu'au sevrage. En conséquence, le fait de ne pas avoir obtenu le nombre souhaité de femelles gravides (c'est-à-dire 20) n'invalide pas nécessairement l'étude, et la situation doit être évaluée au cas par cas.

1.4.2 Préparation des doses

Il est recommandé d'administrer la substance d'essai par voie orale (dans la nourriture, l'eau de boisson ou par gavage) à moins qu'une autre voie (cutanée ou par inhalation) ne soit jugée plus adéquate.

S'il y a lieu, la substance d'essai est dissoute ou mise en suspension dans un véhicule approprié. On recommande, si possible, d'envisager d'abord l'utilisation d'une solution ou d'une suspension aqueuse, puis d'une solution ou d'une émulsion dans l'huile (par exemple l'huile de maïs) et en dernier lieu d'une solution dans d'autres véhicules. Si le véhicule n'est pas aqueux, sa toxicité doit être connue. Il faut déterminer la stabilité de la substance d'essai dans le véhicule.

1.4.3 Dosage

On utilise au moins trois doses différentes et un témoin en parallèle. Sauf limitations imposées par les propriétés physiques, chimiques ou biologiques de la substance d'essai, la dose la plus élevée doit faire apparaître une certaine toxicité, sans entraîner la mort ni provoquer de souffrances aiguës. En cas de mortalité inattendue, si le taux de mortalité de la génération parentale est inférieur à environ 10 pour cent, l'étude reste en générale acceptable. Il convient de choisir une série décroissante de doses afin de mettre en évidence une éventuelle relation dose-effet ainsi qu'une dose sans effets toxiques (DSET). L'écart optimal entre chaque dose de la série décroissante est généralement d'un facteur deux ou quatre, et l'adjonction d'un quatrième groupe d'essai est souvent préférable à la fixation d'écarts trop importants (par exemple, supérieurs à un facteur dix). Si la substance d'essai est incorporée à la nourriture, l'écart entre les doses ne doit pas être supérieur à un facteur trois. Le choix des doses sera orienté par toutes les données existantes sur la toxicité, en particulier les résultats des études à doses répétées. Toute information sur le métabolisme et la cinétique de la substance d'essai ou d'un composé apparenté doit également être prise en considération. Ces informations serviront aussi à justifier l'échelle des doses.

Le groupe témoin sera un groupe non traité ou un groupe recevant le véhicule si la substance est administrée dans un véhicule. Exception faite de l'administration de la substance d'essai, les animaux du groupe témoin seront traités de la même manière que les animaux des groupes d'essai. Si un véhicule est employé, on administrera au groupe témoin le plus grand volume de véhicule utilisé. Lorsque la substance d'essai est administrée mélangée aux aliments et qu'il en résulte une diminution de la prise ou la consommation de nourriture, il peut s'avérer nécessaire d'ajouter un groupe témoin nourri en parallèle. Les résultats d'études contrôlées destinées à évaluer les effets d'une diminution de la consommation de nourriture sur les paramètres de la reproduction peuvent remplacer l'utilisation d'un groupe témoin nourri en parallèle.

Il convient d'être attentif, le cas échéant, aux effets du véhicule ou des autres additifs sur l'absorption, la distribution, le métabolisme ou la rétention de la substance d'essai, aux effets sur les propriétés chimiques de la substance d'essai, susceptibles de modifier sa toxicité, ainsi qu'aux effets sur la consommation de nourriture ou d'eau et sur l'état nutritionnel des animaux.

1.4.4 **Essai limite**

Si un essai réalisé à une dose d'au moins 1000 mg/kg de poids corporel/jour administrée par voie orale ou incorporée dans la nourriture ou l'eau de boisson selon un pourcentage équivalent, conformément à la méthode décrite dans cette étude, n'entraîne pas de signes de toxicité observables chez les parents ou dans leur progéniture et qu'aucun effet toxique n'est escompté au vu des données disponibles concernant des composés présentant une structure et/ou une action métabolique analogues, il n'est pas indispensable de mener une étude complète sur plusieurs doses différentes. L'essai limite n'a pas de raison d'être lorsque le niveau d'exposition humaine implique l'utilisation d'une dose orale plus élevée. Pour d'autres modes d'administration, tels que l'inhalation ou l'application cutanée, les propriétés physico-chimiques de la substance d'essai, comme sa solubilité, limitent souvent la concentration maximale applicable.

1.4.5 **Administration des doses**

Les animaux reçoivent la substance d'essai quotidiennement, sept jours sur sept. L'administration par voie orale (dans la nourriture, l'eau de boisson ou par gavage) est préférable. Si l'on opte pour un autre mode d'administration, il convient de justifier ce choix et d'apporter les modifications nécessaires, le cas échéant. On appliquera le même mode d'administration à tous les animaux, durant la période expérimentale adéquate. Si la substance d'essai est administrée par gavage, on procédera à l'aide d'une sonde gastrique. Le volume maximal de liquide administré en une seule fois ne doit pas dépasser 1 ml/100 g de poids corporel (0,4 ml/100 g de poids pour l'huile de maïs), sauf dans le cas des solutions aqueuses où l'on peut aller jusqu'à 2 ml/100 g de poids corporel. Sauf dans le cas de substances irritantes ou corrosives dont les effets s'intensifient généralement aux concentrations supérieures, il y a lieu de réduire au minimum la variabilité du volume d'essai en adaptant les concentrations de façon à obtenir un volume constant à toutes les doses. Dans les études par gavage, les petits ne reçoivent normalement la substance d'essai qu'indirectement, par le lait maternel, jusqu'à ce que l'administration directe débute pour eux, à partir du sevrage. Lorsque la substance d'essai est mélangée à la nourriture ou à l'eau de boisson, les petits reçoivent aussi la substance d'essai directement dès qu'ils commencent à s'alimenter seuls, lors de la dernière semaine d'allaitement.

Il est important de s'assurer que les quantités de substances administrées dans la nourriture ou l'eau de boisson n'interfèrent pas avec la nutrition ou l'équilibre hydrique. Si la substance d'essai est ajoutée à la nourriture, elle peut être administrée à concentration constante dans cette dernière (ppm) ou à dose constante par rapport au poids de l'animal ; il y a lieu de préciser l'option retenue. Si l'on recourt au gavage, il faut toujours administrer la substance d'essai à peu près à la même heure chaque jour et ajuster la dose au moins une fois par semaine pour qu'elle demeure constante par rapport au poids de l'animal. Cet ajustement devra tenir compte de la diffusion placentaire.

1.4.6 Programmes expérimentaux

L'administration quotidienne de la substance d'essai aux mâles et aux femelles de la génération P doit débuter quand ils sont âgés de 5 à 9 semaines. Pour les mâles et les femelles de la génération F1, elle débutera au sevrage ; il faut tenir compte du fait que, lorsque la substance d'essai est administrée dans la nourriture ou l'eau de boisson, il est possible que les petits de la génération F1 soient déjà exposés directement à la substance durant la période d'allaitement. Les deux sexes des générations P et F1 continueront à recevoir la substance pendant au moins 10 semaines avant la période d'accouplement. Le traitement sera poursuivi pour les deux sexes durant les deux semaines de la période d'accouplement. Les mâles qui ne serviront pas à l'évaluation des effets sur la reproduction seront euthanasiés et examinés. Les femelles de la génération P continueront à recevoir la substance d'essai tout au long de la gestation et jusqu'au sevrage de leur descendance F1. Il sera peut-être nécessaire de modifier le programme d'administration des doses à la lumière des informations disponibles sur la substance d'essai, notamment en ce qui concerne la toxicité, l'induction métabolique ou la bioaccumulation. La dose administrée à chaque animal est normalement calculée d'après les résultats de la dernière pesée de l'animal. Toutefois, la prudence s'impose lors de l'ajustement de la dose au cours du dernier tiers de la gestation.

Le traitement des mâles et des femelles P et F1 se poursuit jusqu'à leur sacrifice. Tous les adultes mâles et femelles P et F1 qui ne sont plus nécessaires pour l'évaluation des effets sur la reproduction doivent être euthanasiés. Les descendants F1 qui n'ont pas été sélectionnés pour l'accouplement et tous les descendants F2 seront euthanasiés après le sevrage.

1.4.7 Accouplement

1.4.7.1 *Accouplement de la génération parentale (P)*

Pour chaque accouplement, on réunira une femelle et un mâle traités à la même dose (accouplement 1:1) jusqu'à ce qu'ils aient copulé ou durant deux semaines. Les femelles subiront un examen quotidien destiné à détecter la présence de sperme ou d'un bouchon vaginal. Le jour 0 de la gestation est défini comme étant celui où l'on observe du sperme ou un bouchon vaginal. Si l'accouplement n'a pas lieu, on peut envisager de faire une deuxième tentative en réunissant les femelles avec des mâles du même groupe ayant fait leurs preuves. Les couples doivent être clairement identifiés dans les résultats. On évitera d'accoupler des membres d'une même fratrie.

1.4.7.2 *Accouplement de la génération F1*

S'agissant de l'accouplement de la génération F1, on sélectionne au moins un mâle et une femelle de chaque portée, au moment du sevrage, en vue de les accoupler avec d'autres descendants traités à la même dose, mais issus d'une autre portée, afin d'obtenir la génération F2. La sélection des petits au sein d'une même portée doit se faire au hasard s'ils ne diffèrent pas de façon significative quant au poids corporel ou à l'apparence. Si l'on constate de telles différences, on sélectionnera les meilleurs représentants de chaque portée. D'un point de vue pragmatique, il est plus facile d'opérer cette sélection en fonction du poids corporel, mais il pourrait être plus pertinent de se fonder sur l'apparence. Les descendants F1 ne doivent pas être accouplés avant d'avoir atteint leur pleine maturité sexuelle.

On évaluera les couples sans descendance afin de déterminer la cause apparente de leur stérilité. À cet effet, on pourra donner aux animaux d'autres occasions de s'accoupler avec d'autres mâles ou femelles ayant fait leurs preuves, effectuer un examen microscopique des organes reproducteurs, ou analyser les cycles œstraux ou la spermatogenèse.

1.4.7.3 *Deuxième accouplement*

Dans certains cas, notamment lorsque la taille de la portée est modifiée par le traitement ou lorsqu'un effet équivoque est observé dans le premier accouplement, on préconise d'accoupler une deuxième fois les adultes P ou F1, afin d'obtenir une deuxième portée. Il est recommandé d'accoupler une deuxième fois les mâles ou les femelles qui n'ont pas engendré de portée avec un reproducteur ou une reproductrice ayant fait ses preuves. Si la production d'une deuxième portée est jugée nécessaire, le deuxième accouplement doit avoir lieu environ une semaine après le sevrage de la dernière portée.

1.4.7.4 *Taille de la portée*

On laisse les animaux mettre bas normalement et élever leur progéniture jusqu'au sevrage. La normalisation de la taille des portées est facultative ; si l'on y recourt, il faut décrire en détail la méthode utilisée.

1.5 OBSERVATIONS

1.5.1 **Observations cliniques**

Une observation clinique générale est réalisée chaque jour; en cas d'administration par gavage, l'heure à laquelle cette observation est réalisée doit tenir compte du moment où l'on prévoit que les effets atteindront leur intensité maximale après administration. On notera les changements de comportement, les signes de mise-bas prolongée ou difficile et tous les symptômes de toxicité. En outre, au moins une fois par semaine, chaque animal devra faire l'objet d'un examen plus détaillé qui pourrait être aisément réalisé à l'occasion d'une pesée de l'animal. Deux fois par jour et une fois par jour pendant le week-end, selon les besoins, on recherchera des signes de morbidité et de mortalité sur tous les animaux.

1.5.2 **Poids corporel et consommation de nourriture et d'eau des animaux parents**

Les animaux parents (P et F1) sont pesés le jour de la première administration et ensuite au moins une fois par semaine. Les mères (P et F1) sont pesées au minimum aux jours 0, 7, 14, et 20 ou 21 de la gestation, puis aux mêmes jours que leurs petits durant l'allaitement, et enfin le jour de leur sacrifice. Les résultats sont consignés individuellement pour chaque animal adulte. Durant la période qui précède l'accouplement et pendant la gestation, la consommation de nourriture est mesurée au moins une fois par semaine. La consommation d'eau est relevée au moins une fois par semaine si la substance d'essai est administrée dans l'eau.

1.5.3 **Cycle œstral**

La durée et la normalité du cycle œstral sont évaluées chez les femelles P et F1 à l'aide de frottis vaginaux, avant l'accouplement, et facultativement pendant la période d'accouplement, jusqu'à constatation de preuves d'accouplement. Les cellules vaginales ou cervicales seront prélevées avec soin pour éviter d'agresser la muqueuse et d'induire ainsi une pseudogestation (1).

1.5.4 Paramètres d'évaluation du sperme

On note le poids des testicules et des épидидymes de tous les mâles P ou F1 sacrifiés, en conservant un exemplaire de chaque organe pour l'examen histopathologique (voir paragraphes 1.5.7, 1.5.8.1). On réservera les testicules et les épидидymes d'un sous-lot composé d'au moins dix mâles de chaque génération (P et F1) pour la numération des spermatozoïdes résistantes à l'homogénéisation et des spermatozoïdes stockés dans la queue de l'épididyme. Dans ce même sous-lot de mâles, on recueillera le contenu de la queue de l'épididyme ou du canal déférent en vue d'évaluer la motilité et la morphologie des spermatozoïdes. Si des effets liés au traitement sont observés ou si d'autres études révèlent que la substance peut avoir des effets sur la spermatogénèse, l'évaluation du sperme sera réalisée sur tous les mâles traités aux différentes doses; dans le cas contraire, on pourra limiter la numération aux mâles P et F1 du groupe témoin et du groupe traité à la dose la plus élevée.

Il convient de dénombrer la totalité des spermatozoïdes testiculaires résistantes à l'homogénéisation et des spermatozoïdes de la queue de l'épididyme (2) (3). Le nombre de spermatozoïdes mis en réserve dans la queue de l'épididyme peut être déduit de la concentration et du volume des spermatozoïdes dans la suspension utilisée pour compléter les évaluations qualitatives, et du nombre de spermatozoïdes récupérés après le broyage et/ou l'homogénéisation ultérieurs du tissu caudal restant. La numération doit être effectuée au sein du sous-lot de mâles sélectionnés dans les groupes traités aux différentes doses, immédiatement après le sacrifice, à moins qu'on ne réalise des enregistrements vidéo ou numériques ou qu'on ne congèle des échantillons en vue d'une analyse ultérieure. Dans ces circonstances, le groupe témoin et le groupe traité à la dose la plus élevée peuvent être analysés en premier. Si l'on n'observe pas d'effets liés au traitement (révélés par exemple par la numération, la morphologie ou la motilité des spermatozoïdes), il n'est pas nécessaire d'analyser les groupes traités aux autres doses. Si des effets liés au traitement apparaissent dans le groupe traité à la dose la plus élevée, on évaluera aussi les groupes traités aux doses plus faibles.

La motilité des spermatozoïdes dans l'épididyme ou le canal déférent est évaluée ou enregistrée sur support vidéo immédiatement après le sacrifice. Le sperme, prélevé de façon à éviter autant que possible de léser les organes, est dilué en vue de l'analyse de la motilité selon une méthode acceptable (4). Il convient d'évaluer subjectivement ou objectivement le pourcentage de spermatozoïdes devenant progressivement mobiles. Si l'on pratique une analyse du mouvement assistée par ordinateur (5) (6) (7) (8) (9) (10), la motilité progressive est évaluée d'après les seuils définis par l'utilisateur pour la vitesse moyenne de trajectoire, la rectilignité ou l'index linéaire. Si les échantillons sont enregistrés en vidéo (11) ou si les images sont enregistrées d'une autre manière au moment de l'autopsie, l'analyse subséquente pourra se limiter aux mâles P et F1 du groupe témoin et du groupe traité à la dose la plus élevée, à moins que des effets liés au traitement n'aient été observés, auquel cas il faudra aussi évaluer les groupes traités aux doses plus faibles. En l'absence d'une image vidéo ou numérique, tous les échantillons de tous les groupes traités devront être analysés lors de l'autopsie.

On procédera à une évaluation morphologique d'un échantillon de sperme de l'épididyme ou du canal déférent. Les spermatozoïdes (au moins 200 par échantillon) doivent être examinés dans des préparations fixées et en milieu liquide (12), puis classés en tant que spécimens normaux ou anormaux. Les anomalies morphologiques des spermatozoïdes comprennent, par exemple, la fusion, des têtes isolées et des têtes et/ou des queues déformées. L'évaluation doit être réalisée au sein du sous-lot de mâles sélectionnés dans les groupes traités aux différentes doses, immédiatement après le sacrifice ou ultérieurement à partir des enregistrements vidéo ou numériques. Les frottis, une fois fixés, peuvent aussi être analysés à une date ultérieure. Dans ces circonstances, le groupe témoin et le groupe traité à la dose la plus élevée peuvent être analysés en premier. Si l'on n'observe pas d'effets liés au traitement (sur la morphologie des spermatozoïdes, par exemple), l'analyse des groupes traités aux autres doses devient superflue. Si des effets liés au traitement apparaissent dans le groupe traité à la plus dose élevée, il convient d'évaluer également les groupes traités aux doses plus faibles.

Si l'un des paramètres d'évaluation du sperme mentionnés plus haut a déjà été examiné dans le cadre d'une étude de toxicité systémique d'au moins 90 jours, il ne doit pas nécessairement être réévalué au cours de l'étude de la toxicité sur deux générations. Il est cependant recommandé de conserver des échantillons ou des enregistrements vidéo du sperme de la génération P, pour permettre une évaluation ultérieure si nécessaire.

1.5.5 **Descendance**

On examine chaque portée dès que possible après la mise-bas (jour 0 de l'allaitement), afin d'établir le nombre et le sexe des petits, la mortalité, le nombre de naissances vivantes et la présence d'anomalies macroscopiques. Les petits trouvés morts au jour 0 seront de préférence examinés, s'ils ne sont pas macérés, afin de mettre en évidence d'éventuelles anomalies et de déterminer la cause de la mort, et conservés. Les petits vivants doivent être comptés et pesés individuellement à la naissance (jour 0 de l'allaitement) ou le jour 1, et pesés régulièrement par la suite, par exemple les jours 4, 7, 14 et 21 de l'allaitement. On notera les anomalies physiques et comportementales observées chez les mères ou les petits.

Le développement physique de la descendance est consigné essentiellement sous la forme du gain de poids corporel. D'autres paramètres physiques (ouverture des oreilles et des yeux, sortie des dents, développement de la pilosité, par exemple) peuvent fournir des informations supplémentaires, mais ces observations sont de préférence réservées à l'évaluation de la maturité sexuelle (âge et poids corporel au moment de l'ouverture vaginale ou de la séparation balano-préputiale, par exemple) (13). Il est recommandé de réaliser des explorations fonctionnelles (l'activité motrice, les fonctions sensorielles, l'ontogenèse des réflexes, par exemple) de la descendance F1 avant et/ou après le sevrage, notamment celles qui se rapportent à la maturation sexuelle, si elles ne sont pas explorées dans d'autres études. On détermine l'âge auquel sont survenus l'ouverture vaginale ou la séparation balano-préputiale chez les descendants F1 tout juste sevrés qui ont été sélectionnés en vue de l'accouplement. Il convient de mesurer la distance ano-génitale chez les petits F2, le jour de leur naissance, si l'on a constaté une modification de la proportion de mâles et de femelles ou de l'âge de maturation sexuelle dans la génération F1.

Les observations fonctionnelles ne s'imposent plus pour les groupes présentant des signes évidents de toxicité (diminution sensible de la prise de poids, etc., par exemple). Les explorations fonctionnelles, le cas échéant, seront réalisées sur les petits non sélectionnés pour l'accouplement.

1.5.6 **Examen macroscopique**

Juste après le sacrifice ou la mort si celle-ci survient en cours d'étude, tous les animaux parents (P et F1), tous les petits qui présentent des anomalies externes ou des signes cliniques, ainsi qu'un petit/un sexe/une portée choisi (e) au hasard dans chaque génération (F1 et F2) sont soumis à un examen macroscopique destiné à révéler d'éventuels changements pathologiques ou anomalies structurelles. L'examen des organes reproducteurs doit faire l'objet d'une attention particulière. Il y a lieu d'examiner les petits moribonds qui ont été euthanasiés ainsi que les petits morts, s'ils ne sont pas macérés, afin de détecter d'éventuelles anomalies et/ou établir la cause de la mort, et de les conserver.

On examinera les utérus de toutes les femelles primipares, sans compromettre l'évaluation histopathologique, pour voir s'ils présentent des points d'implantation et les dénombrer.

1.5.7 **Pesée des organes**

Juste après le sacrifice, on détermine le poids corporel de tous les parents P et F1 ainsi que le poids des organes suivants (les deux exemplaires des organes qui vont par paires doivent être pesés séparément) :

- Utérus, ovaires ;
- Testicules, épидидymes (entiers et queues) ;
- Prostate ;
- Vésicules séminales avec glandes coagulantes et leurs liquides, et prostate (ensemble) ;
- Cerveau, foie, reins, rate, hypophyse, glande thyroïde, glandes surrénales et organes cibles connus.

Les poids corporels des petits F1 et F2 retenus pour l'autopsie sont déterminés après le sacrifice, de même que le poids du cerveau, de la rate et du thymus d'un petit/un sexe/une portée choisi(e) au hasard (voir paragraphe 1.5.6).

Si possible, les résultats de l'autopsie et de la pesée des organes doivent être interprétés à la lumière des observations effectuées dans d'autres études à doses répétées.

1.5.8 **Histopathologie**

1.5.8.1 *Animaux parents*

Les organes et tissus ci-après des animaux parents (P et F1), ou des échantillons représentatifs de ces derniers, sont fixés et conservés dans un milieu approprié en vue de l'examen histopathologique.

- Vagin, utérus avec col, et ovaires (conservés dans un fixateur approprié) ;
- Un testicule (conservé dans un fixateur approprié), un épидидyme, les vésicules séminales, la prostate et une glande coagulante ;
- Organe(s) cible(s) précédemment identifié(s) de tous les animaux P et F1 sélectionnés pour l'accouplement.

Tous les animaux P et F1 du groupe témoin et du groupe traité à la dose la plus élevée, qui ont été sélectionnés pour l'accouplement, doivent faire l'objet d'un examen histopathologique complet des organes et tissus susmentionnés. L'examen des ovaires des femelles P est facultatif. Il convient également d'examiner les organes présentant des altérations liées au traitement dans les groupes traités à la dose la plus faible et à la dose intermédiaire, afin de faciliter la détermination de la DSET. De plus, une évaluation histopathologique sera pratiquée sur les organes reproducteurs des animaux traités aux doses faibles et moyennes, chez lesquels on soupçonne une diminution de la fertilité, par exemple, ceux qui ne se sont pas accouplés, qui n'ont pas conçu, n'ont pas engendré ou n'ont pas donné naissance à des descendants sains, ou ceux chez qui on a constaté des modifications du cycle œstral ou du nombre, de la motilité ou de la morphologie des spermatozoïdes. Toutes les lésions macroscopiques telles qu'atrophies ou tumeurs doivent être examinées.

Un examen histopathologique détaillé des testicules doit être effectué (par exemple, fixation dans du liquide de Bouin, inclusion dans la paraffine et coupes transversales de 4-5 µm d'épaisseur) afin de mettre en évidence des effets liés au traitement, notamment une rétention de spermatozoïdes, l'absence de certaines couches ou types de cellules germinales, la présence de cellules géantes multinucléées ou le décollement des cellules spermatogènes dans la lumière des tubules séminifères (14). L'examen d'un épидидyme intact doit porter sur la tête, le corps et la queue, ce qui peut être effectué sur une section longitudinale. On observera l'épididyme pour voir s'il ne s'y produit pas d'infiltration de leucocytes, de changement dans la fréquence des types cellulaires et de phagocytose des spermatozoïdes, et s'il ne renferme pas de cellules aberrantes. L'examen des organes reproducteurs mâles peut être effectué à l'aide d'une coloration à l'acide périodique-Schiff ou à l'hématoxyline.

Après la lactation, l'ovaire devrait contenir des follicules primordiaux et des follicules en croissance ainsi que les grands corps jaunes de la lactation. L'examen histopathologique doit révéler une déplétion qualitative de la population de follicules primordiaux. Les follicules primordiaux des femelles F1 feront l'objet d'une évaluation quantitative ; le nombre d'animaux, le choix de la section ovarienne et la taille des échantillons de sections doivent être statistiquement valables pour la méthode d'évaluation employée. L'examen comprend la numération des follicules primordiaux, lesquels peuvent être combinés à de petits follicules en croissance, aux fins de la comparaison entre les ovaires des femelles traitées et témoins (15) (16) (17) (18) (19).

1.5.8.2 *Petits sevrés*

Les tissus présentant des anomalies macroscopiques et les organes cibles de tous les petits qui présentent des anomalies externes ou des signes cliniques ainsi que ceux du petit/du sexe/de la portée choisi(e) au hasard dans chaque génération (F1 et F2) et non retenu(e) pour l'accouplement seront fixés et conservés dans un milieu approprié en vue de l'examen histopathologique. La description histopathologique complète des tissus conservés sera plus particulièrement axée sur les organes reproducteurs.

2 **RÉSULTATS**

2.1 **TRAITEMENT DES RÉSULTATS**

Les résultats obtenus sur chaque animal seront consignés et résumés sous forme de tableaux, reprenant pour chaque groupe d'essai et chaque génération, le nombre d'animaux présents au début de l'essai, le nombre d'animaux morts durant l'essai ou euthanasiés, la date de la mort ou de l'euthanasie, le nombre d'animaux fertiles, le nombre de femelles gravides, le nombre d'animaux manifestant des signes de toxicité, la description des signes de toxicité observés, notamment le moment où ils ont débuté, leur durée et leur gravité, les types d'altérations histopathologiques et toutes les données pertinentes sur la portée.

Les résultats numériques seront évalués à l'aide d'une méthode statistique appropriée et reconnue; le choix des méthodes statistiques doit intervenir lors de la conception de l'étude et doit être justifié. Les modèles statistiques s'appliquant aux relations "dose-effet" peuvent être utiles à l'analyse des résultats. Le rapport doit fournir suffisamment d'informations sur la méthode d'analyse et le logiciel employés, pour qu'un réviseur ou un statisticien indépendant puisse réévaluer et reconstruire l'analyse.

2.2 ÉVALUATION DES RÉSULTATS

Les résultats de cette étude de toxicité pour la reproduction sur deux générations doivent être évalués en fonction des effets observés, notamment à l'autopsie et lors des examens microscopiques. L'évaluation portera sur la relation, ou l'absence de relation, entre la dose administrée de substance d'essai et la présence, la fréquence et la gravité des anomalies, notamment lésions macroscopiques, organes cibles identifiés, altération de la fertilité, anomalies cliniques, altération de la capacité de reproduction et des performances de la portée, modifications du poids corporel, effets sur la mortalité et tout autre effet toxique. Les propriétés physicochimiques de la substance d'essai et, le cas échéant, les données toxicocinétiques doivent être prises en considération lors de l'évaluation des résultats.

Une étude de toxicité pour la reproduction correctement menée doit fournir une estimation satisfaisante de la dose sans effet et permettre de comprendre les effets nocifs de la substance étudiée sur la reproduction, la parturition, l'allaitement et le développement postnatal, notamment la croissance et la maturation sexuelle.

2.3 INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Une étude de toxicité pour la reproduction sur deux générations fournit des informations sur les effets d'une exposition répétée à une substance durant toutes les phases du cycle de reproduction. L'étude livre notamment des informations sur les paramètres de la reproduction ainsi que sur le développement, la croissance et la survie des descendants. Les résultats de l'étude doivent être interprétés à la lumière des résultats des études subchroniques, prénatales, de développement, toxicocinétiques et autres disponibles. Les résultats de la présente étude peuvent servir à apprécier la nécessité de réaliser d'autres essais sur une substance chimique. L'extrapolation des résultats de l'étude à l'homme présente un intérêt limité. Ces résultats se prêtent davantage à la détermination des concentrations sans effet et des niveaux d'exposition humaine acceptables (20) (21) (22) (23).

3

RAPPORT**RAPPORT D'ESSAI**

Le rapport doit contenir les informations suivantes :

Substance d'essai :

- nature physique et, s'il y a lieu, propriétés physico-chimiques
- identification
- degré de pureté

Véhicule, le cas échéant :

- justification du choix du véhicule s'il diffère de l'eau

Animaux d'expérience :

- espèce et souche
- nombre, âge et sexe des animaux
- origine, conditions d'encagement, régime alimentaire, matériaux de nidification, etc.
- poids de chaque animal au début de l'essai

Conditions d'essai :

- justification du choix des doses
- détails concernant la formulation de la substance d'essai/son incorporation aux aliments, la concentration obtenue
- stabilité et homogénéité de la préparation;
- détails concernant l'administration de la substance d'essai ;
- conversion de la concentration de la substance d'essai (ppm) dans la nourriture ou l'eau de boisson en dose administrée (mg/kg de poids corporel/jour), s'il y a lieu ;
- détails concernant la qualité de l'alimentation et de l'eau de boisson.

Résultats :

- consommation de nourriture, et d'eau si elle a été enregistrée, efficacité alimentaire (gain de poids corporel par gramme d'aliments consommés), et consommation de la substance d'essai par les animaux P et F1, sauf pendant la cohabitation et durant au moins le dernier tiers de la période d'allaitement ;
- données sur l'absorption, le cas échéant ;
- poids corporel des animaux P et F1 sélectionnés pour l'accouplement ;
- données relatives aux portées et au poids des petits ;
- poids corporel au moment du sacrifice et poids absolu et relatif des organes des animaux parents ;
- nature, gravité et durée des signes cliniques (qu'ils soient réversibles ou non) ;
- date de mort en cours d'étude ou animaux ayant survécu jusqu'au sacrifice ;
- manifestation de la toxicité par sexe et par dose, y compris indices d'accouplement, de fécondité, de gestation, de natalité, de viabilité et d'allaitement ; le rapport doit mentionner les chiffres ayant servi au calcul de ces indices ;
- effets toxiques ou autres sur la reproduction, la descendance, la croissance postnatale, etc. ;
- observations à l'autopsie ;
- description détaillée de toutes les observations histopathologiques ;
- nombre de femelles P et F1 ayant un cycle normal et durée du cycle ;
- nombre total de spermatozoïdes dans la queue de l'épididyme, pourcentage de spermatozoïdes progressivement mobiles, pourcentage de spermatozoïdes à morphologie normale et pourcentage de spermatozoïdes par anomalie identifiée ;
- temps écoulé jusqu'à l'accouplement, exprimé en nombre de jours ;
- durée de la gestation ;
- nombre d'implantations, de corps jaunes, taille de la portée ;
- nombre de naissances vivantes et de pertes postimplantatoires ;
- nombre de petits affectés d'anomalies macroscopiques ; nombre de rabougris s'il a été déterminé ;
- paramètres physiques évalués sur les petits et autres données sur le développement postnatal ; il y a lieu de justifier les paramètres physiques évalués ;
- observations fonctionnelles réalisées sur les petits et sur les adultes, suivant le cas ;
- traitement statistique des résultats, le cas échéant.

Discussion

Conclusions, y compris valeurs de la DSET pour les effets sur la mère et sur les petits.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) Sadleir, R.M.F.S. (1979). Cycles and Seasons, In: *Reproduction in Mammals: I. Germ Cells and Fertilization*, C.R. Auston and R.V. Short (eds.), Cambridge, New York.
- (2) Gray, L.E. et al., (1989). A Dose-Response Analysis of Methoxychlor-Induced Alterations of Reproductive Development and Function in the Rat. *Fundamental and Applied Toxicology* 12:92-108.
- (3) Robb, G.W. et al., (1978). Daily Sperm Production and Epididymal Sperm Reserves of Pubertal and Adult Rats. *Journal of Reproduction and Fertility* 54:103-107.
- (4) Klinefelter, G.R. et al., (1991). The Method of Sperm Collection Significantly Influences Sperm Motion Parameters Following Ethane Dimethanesulfonate Administration in the Rat. *Reproductive Toxicology* 5:39-44.
- (5) Seed, J. et al. (1996). Methods for Assessing Sperm Motility, Morphology, and Counts in the Rat, Rabbit, and Dog: a Consensus Report. *Reproductive Toxicology* 10(3):237-244.
- (6) Chapin, R.E. et al., (1992). Methods for Assessing Rat Sperm Motility. *Reproductive Toxicology* 6:267-273.
- (7) Klinefelter, G.R. et al., (1992). Direct Effects of Ethane Dimethanesulphonate on Epididymal Function in Adult Rats: an *In Vitro* Demonstration. *Journal of Andrology* 13:409-421.
- (8) Slott, V.L. et al., (1991). Rat Sperm Motility Analysis: Methodologic Considerations. *Reproductive Toxicology* 5:449-458.
- (9) Slott, V.L. and Perreault, S.D., (1993). Computer-Assisted Sperm Analysis of Rodent Epididymal Sperm Motility Using the Hamilton-Thorn Motility Analyzer. In: *Methods in Toxicology, Part A.*, Academic, Orlando, Florida. pp. 319-333.
- (10) Toth, G.P. et al. (1989). The Automated Analysis of Rat Sperm Motility Following Subchronic Epichlorhydrin Administration: Methodologic and Statistical Considerations. *Journal of Andrology* 10: 401-415.
- (11) Working, P.K. and M. Hurtt, (1987). Computerized Videomicrographic Analysis of Rat Sperm Motility. *Journal of Andrology* 8:330-337.
- (12) Linder, R.E. et al., (1992). Endpoints of 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* 17:298303.
- (14) Russell, L.D. et al., (1990). *Histological and Histopathological Evaluation of the Testis*, Cache River Press, Clearwater, Florida.
- (15) Heindel, J.J. and R.E. Chapin, (eds.) (1993). Part B. Female Reproductive Systems, *Methods in Toxicology*, Academic, Orlando, Florida.
- (16) Heindel, J.J. et al., (1989) Histological Assessment of Ovarian Follicle Number in Mice As a Screen of Ovarian Toxicity. In: *Growth Factors and the Ovary*, A.N. Hirshfield (ed.), Plenum, New York, pp. 421-426.
- (17) Manson, J.M. and Y.J. Kang, (1989). Test Methods for Assessing Female Reproductive and Developmental Toxicology. In: *Principles and Methods of Toxicology*, A.W. Hayes (ed.), Raven, New York.
- (18) Smith, B.J. et al., (1991). Comparison of Random and Serial Sections in Assessment of Ovarian Toxicity. *Reproductive Toxicology* 5:379-383.
- (19) Heindel, J.J. (1999). Oocyte Quantitation and Ovarian Histology. In: *An Evaluation and Interpretation of Reproductive Endpoints for Human Health Risk Assessment*, G. Daston, and C.A. Kimmel, (eds.), ILSI Press, Washington, DC.
- (20) Thomas, J. A. (1991). Toxic Responses of the Reproductive System. In: *Casarett and Doull's Toxicology*, M.O. Amdur, J. Doull, and C.D. Klaassen (eds.), Pergamon, New York.
- (21) Zenick, H. and E.D. Clegg, (1989). Assessment of Male Reproductive Toxicity: A Risk Assessment Approach. In: *Principles and Methods of Toxicology*, A.W. Hayes (ed.), Raven Press, New York.
- (22) Palmer, A.K. (1981). In: *Developmental Toxicology*, Kimmel, C.A. and J. Buelke-Sam (eds.), Raven Press, New York.
- (23) Palmer, A.K. (1978). In *Handbook of Teratology*, Vol. 4, J.G. Wilson and F.C. Fraser (eds.), Plenum Press, New York.

ANNEXE 2H

B.42. SENSIBILISATION CUTANEE : ESSAI DE STIMULATION LOCALE DES GANGLIONS LYMPHATIQUES**1. MÉTHODE**

Cette méthode est équivalente à la ligne directrice TG 429 (2002) de l'OCDE.

1.1 INTRODUCTION

L'essai de stimulation locale des ganglions lymphatiques (ELGL) a été suffisamment validé et accepté pour pouvoir être adopté en tant que nouvelle méthode (1) (2) (3). Il s'agit, en l'occurrence, de la deuxième méthode permettant d'évaluer le pouvoir de sensibilisation cutanée des substances chimiques chez les animaux. L'autre méthode (B.6) fait appel à des essais sur cobayes, notamment l'essai de maximisation sur le cobaye et l'essai de Buehler (4).

L'ELGL offre un autre moyen d'identifier les produits chimiques qui exercent une action sensibilisante sur la peau et de confirmer que certaines substances sont dépourvues de pouvoir sensibilisant significatif. Cela ne signifie pas pour autant que l'ELGL doive systématiquement remplacer l'essai sur le cobaye, mais plutôt qu'il s'agit d'une méthode tout aussi valable, pouvant être utilisée à la place de ce dernier, et dont les résultats, qu'ils soient positifs ou négatifs, n'ont généralement pas besoin d'être reconfirmés.

L'ELGL présente certains avantages ressortissant au progrès scientifique et à la protection des animaux. Il étudie la phase d'induction de la sensibilisation cutanée et fournit des données quantitatives permettant d'évaluer l'effet en fonction de la dose. Les détails de la validation de l'ELGL et une synthèse des travaux qui y sont associés ont été publiés (5)(6)(7)(8). Il est également utile de noter que les sensibilisants légers à modérés recommandés comme témoins positifs dans les essais sur les cobayes conviennent aussi à l'ELGL (6)(8)(9).

L'ELGL, qui est une méthode *in vivo*, ne met pas un terme à l'utilisation des animaux dans l'évaluation de la sensibilisation par contact. Il peut, en revanche, diminuer le nombre d'animaux mobilisés à cette fin. De plus, l'ELGL améliore nettement la façon dont les animaux sont utilisés pour éprouver la sensibilisation par contact. L'ELGL se fonde sur l'observation de phénomènes immunologiques stimulés par des produits chimiques durant la phase d'induction de la sensibilisation. Avec l'ELGL, contrairement aux essais sur cobayes, il n'est pas nécessaire de déclencher des réactions d'hypersensibilité cutanée par une exposition provocatrice. En outre, l'ELGL ne requiert pas d'adjuvant, à la différence de l'essai de maximisation sur les cobayes. Ainsi, l'ELGL diminue la souffrance infligée aux animaux. Malgré les avantages de l'ELGL par rapport aux essais classiques sur les cobayes, il faut reconnaître qu'il présente certaines limites imposant parfois le recours aux essais classiques sur cobayes (par exemple, des résultats faussement négatifs avec certains métaux, des résultats faussement positifs avec certains produits irritants pour la peau) (10).

Voir également Introduction, partie B.

1.2 PRINCIPE DE LA MÉTHODE D'ESSAI

L'ELGL repose sur le principe que les sensibilisants induisent une prolifération primaire de lymphocytes dans le ganglion lymphatique qui draine le site de l'application de la substance chimique. Cette prolifération est proportionnelle à la dose appliquée (et à la puissance de l'allergène) et permet d'obtenir facilement une mesure objective et quantitative de la sensibilisation. L'ELGL évalue cette prolifération d'après l'effet produit en fonction de la dose, en comparant les groupes d'essai aux groupes témoins traités par le véhicule. On détermine le rapport de la prolifération dans les groupes d'essai et de la prolifération observée dans les groupes témoins traités par le véhicule, dit indice de stimulation, lequel doit être au moins égal à trois pour que la substance d'essai continue d'être évaluée en tant que sensibilisant cutané potentiel. Les méthodes décrites ici mesurent la prolifération cellulaire à l'aide d'un marquage radioactif. Cependant, il est possible d'employer d'autres critères pour évaluer la prolifération, à condition que ce choix soit étayé par des données scientifiques pertinentes, notamment la citation de passages complets et une description de la méthode.

1.3 DESCRIPTION DE LA MÉTHODE D'ESSAI

1.3.1 Préparations

1.3.1.1 *Conditions d'hébergement et d'alimentation*

Les animaux sont placés dans des cages individuelles. La température du local expérimental doit être de 22°C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$). L'humidité relative doit atteindre au moins 30 pour cent et rester de préférence inférieure à 70 pour cent, mais en dehors des heures de nettoyage du local, on s'efforcera de maintenir le taux d'humidité autour de 50 à 60 pour cent. On appliquera un éclairage artificiel, alternant 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Les animaux seront nourris avec un mélange classique pour animaux de laboratoire et boiront de l'eau potable à volonté.

1.3.1.2 *Préparation des animaux*

Les animaux sont sélectionnés au hasard, marqués pour permettre leur identification individuelle (mais jamais sur l'oreille) et gardés dans leurs cages pendant au moins cinq jours avant le début du traitement, afin qu'ils s'acclimentent aux conditions du laboratoire. Avant le traitement, on examine tous les animaux pour vérifier qu'ils ne présentent pas de lésions cutanées observables.

1.3.2 Conditions expérimentales :

1.3.2.1 *Animaux d'expérience*

L'espèce retenue pour cet essai est la souris. On utilise de jeunes femelles adultes de la souche CBA/Ca ou CBA/J, nullipares et non gravides. Au début de l'étude, les animaux doivent être âgés de 8 à 12 semaines; l'écart de poids entre les animaux doit être minime et ne doit pas dépasser 20 pour cent du poids moyen. D'autres souches ainsi que des mâles pourront être utilisés s'il existe suffisamment d'informations démontrant l'absence de différences significatives entre les souches et/ou les sexes en ce qui concerne la réaction à l'ELGL.

1.3.2.2 *Test de fiabilité*

Les témoins positifs servent à démontrer le bon fonctionnement de l'essai et la capacité du laboratoire à réaliser correctement cet essai. Le témoin positif devrait réagir positivement à l'ELGL à un niveau d'exposition supposé accroître l'indice de stimulation (IS) >3 par rapport au groupe de témoins négatifs. La dose administrée aux témoins positifs devrait être choisie de telle sorte que l'induction soit claire mais pas excessive. Les substances préférées sont l'aldéhyde hexylcinnamique (N° CAS: 101-86-0, N° EINECS: 202-983-3) et le mercaptobenzothiazole (N° CAS: 149-30-4, N° EINECS: 205-736-8). Dans certains cas, d'autres substances témoins répondant aux critères susmentionnés pourront être employées, à condition que ce choix soit correctement justifié. Bien qu'il faille, en principe, inclure un groupe de témoins positifs dans chaque essai, certains laboratoires d'essai disposent de données antérieures sur des témoins positifs, qui permettent de montrer la constance d'une réaction satisfaisante sur une période de six mois ou plus. Dans ce cas, l'expérimentateur pourra espacer l'incorporation des témoins positifs, en respectant un intervalle maximal de six mois. Quoique la substance utilisée comme témoin positif doive être testée dans un véhicule déclenchant une réaction constante (par exemple acétone, huile d'olive), certaines situations réglementaires exigeront aussi l'essai d'un véhicule moins courant (mélange cliniquement ou chimiquement pertinent). Dans ces circonstances, il y a lieu de tester également l'interaction éventuelle entre une substance servant de témoin positif et ce véhicule inhabituel.

1.3.2.3 *Nombre d'animaux, choix des doses et du véhicule*

Chaque groupe d'essai comprend au moins quatre animaux sur lesquels on teste au moins trois concentrations de la substance d'essai, ainsi qu'un groupe de témoins négatifs traités seulement avec le véhicule de la substance d'essai et, au besoin, un témoin positif. S'il faut recueillir des données individuelles sur les animaux, les groupes d'essai compteront au moins cinq animaux. Mis à part l'absence de traitement par la substance d'essai, les animaux des groupes témoins doivent être manipulés et traités de la même manière que les animaux des groupes d'essai.

La sélection des doses et du véhicule s'effectue conformément aux recommandations données en référence (1). Les doses sont choisies parmi la série de concentrations suivante : 100%, 50%, 25%, 10%, 5%, 2,5%, 1%, 0,5% etc. Le cas échéant, on tiendra compte des données existantes concernant la toxicité aiguë et l'irritation cutanée en sélectionnant les trois concentrations consécutives, de telle façon que la concentration la plus élevée maximise l'exposition tout en évitant la toxicité systémique et une irritation cutanée locale excessive (2) (11).

On choisira le véhicule en fonction de sa capacité à maximiser les concentrations d'essai et la solubilité ainsi qu'à produire une solution ou une suspension se prêtant à l'application de la substance d'essai. Par ordre de préférence, les véhicules recommandés sont le mélange acétone/huile d'olive (4:1 v/v), le diméthylformamide, la méthyléthylcétone, le propylène glycol et le diméthylsulfoxyde (2) (10), mais d'autres véhicules pourront également être utilisés à condition que ce choix soit suffisamment étayé sur le plan scientifique. Certaines situations réclameront un témoin supplémentaire, à savoir un solvant qui se justifie sur le plan clinique ou le mélange dans lequel la substance d'essai est commercialisée. L'expérimentateur veillera tout particulièrement à ce que les matières hydrophiles soient incorporées à un véhicule qui humidifie la peau et ne ruisselle pas immédiatement. Il conviendra donc d'éviter les véhicules totalement aqueux.

1.3.3 **Mode opératoire**

1.3.3.1 *Programme expérimental*

Le programme expérimental se déroule comme suit :

- *Premier jour :*
Mesurer et consigner le poids de chaque animal. Application de 25 µL de la dilution appropriée de la substance d'essai, du véhicule seul, ou du témoin positif (le cas échéant), sur le dos de chaque oreille.
- *Deuxième et troisième jours :*
Répéter la procédure d'application pratiquée le premier jour.
- *Quatrième et cinquième jours :*
Pas de traitement.
- *Sixième jour :*
Noter le poids de chaque animal. Injecter 250 µL de tampon phosphate contenant 20 µCi (7,4e + 8Bq) de ³H-méthylthymidine dans la veine caudale de toutes les souris traitées et témoins. Il est également possible d'injecter 250 µL de solution tampon phosphate contenant 2 µCi (7,4e + 7Bq) de ¹²⁵I-iododéoxyuridine et de la fluorodéoxyuridine 10⁻⁵M dans la veine caudale de toutes les souris.

Cinq heures plus tard, les animaux sont sacrifiés. Après avoir excisé les ganglions rétro-auriculaires de chaque oreille de tous les animaux d'un groupe expérimental, on réunit ces ganglions dans un tampon phosphate (approche collective au niveau d'un groupe d'essai); on peut également exciser les paires de ganglions rétro-auriculaires de chaque animal et les mettre en suspension individuellement dans un tampon phosphate (méthode individuelle au niveau d'un animal). Les détails et les diagrammes relatifs à l'identification et à la dissection des ganglions sont repris à l'annexe I de la référence 10.

1.3.3.2 *Préparation des suspensions cellulaires*

L'expérimentateur préparera une suspension contenant les cellules des ganglions lymphatiques de tout un groupe ou d'un seul animal en pratiquant une séparation mécanique douce à travers une toile en acier inoxydable dont les mailles mesurent 200 µm. Les cellules de ganglions lymphatiques sont lavées deux fois avec un excès de tampon phosphate et précipitées avec de l'acide trichloracétique à 5 pour cent à 4°C pendant 18 heures (1). Les culots sont soit remis en suspension dans 1 mL d'acide trichloracétique puis transférés dans des flacons à scintillation contenant 10 mL de scintillateur liquide pour le comptage du tritium ³H, soit directement transférés dans des tubes compteurs de rayons gamma pour le comptage de l'iode ¹²⁵I.

1.3.3.3 *Mesure de la prolifération cellulaire (radioactivité incorporée)*

L'incorporation de ³H-méthylthymidine se mesure par comptage de scintillations β, en désintégrations par minute (DPM). L'incorporation de ¹²⁵I-iododéoxyuridine se mesure par comptage de l'iode ¹²⁵I et s'exprime également en DPM. Suivant la méthode choisie, l'incorporation sera exprimée en DPM/groupe d'essai (méthode collective au niveau d'un groupe) ou en DPM/animal traité (méthode individuelle au niveau d'un animal).

1.3.3.4 *Observations*

1.3.3.4.1 *Observations cliniques*

Une fois par jour, l'expérimentateur examinera attentivement les animaux afin de détecter d'éventuels signes cliniques, se traduisant par une irritation locale sur le site d'application ou par une toxicité systémique. Toutes les observations sont systématiquement consignées, et ce pour chaque animal séparément.

1.3.3.4.2 *Poids corporel*

Comme indiqué au paragraphe 1.3.3.1, le poids corporel de chaque animal est relevé au début de l'essai et au moment prévu du sacrifice.

1.3.4 **Calcul des résultats :**

Les résultats sont exprimés par l'indice de stimulation (IS). Si l'on utilise la méthode collective, l'indice de stimulation s'obtient en divisant la radioactivité incorporée globalement pour chaque groupe traité par la substance d'essai par la radioactivité incorporée globalement pour le groupe témoin traité par le véhicule ; ce rapport livre un indice de stimulation moyen. Dans le cas de la méthode individuelle, l'IS est obtenu en divisant la moyenne DPM/animal de chaque groupe traité par la substance d'essai et celle du groupe témoin positif par la moyenne DPM/animal du groupe témoin traité par le véhicule. L'indice de stimulation moyen pour les témoins traités par le véhicule est alors égal à 1.

L'utilisation de la méthode individuelle pour calculer l'IS permet d'effectuer une analyse statistique des données. Pour choisir une méthode d'analyse statistique appropriée, l'expérimentateur doit être conscient du risque d'inégalité des variances et des autres problèmes connexes qui pourraient nécessiter une transformation des données ou une analyse statistique non paramétrique. Une bonne façon d'interpréter les données consiste à évaluer toutes les données individuelles des groupes d'essai et des groupes traités par le véhicule, afin d'en tirer la meilleure courbe d'ajustement de la relation dose-effet, compte tenu des intervalles de confiance (8)(12)(13). L'expérimentateur doit toutefois être attentif aux réactions «atypiques» possibles de certains animaux au sein d'un groupe, qui pourraient nécessiter le recours à une autre mesure de la réaction (par exemple, la médiane au lieu de la moyenne) ou l'élimination de la réaction atypique.

Pour qu'une réaction puisse être considérée comme positive, il faut que l'indice de stimulation soit ≥ 3 , tenir compte de la relation dose-effet et, s'il y a lieu, de la signification statistique (3)(6)(8)(12)(14).

Si les résultats obtenus ne sont pas assez concluants, on examinera les diverses propriétés de la substance d'essai, notamment afin de savoir si elle présente une similitude structurelle avec des sensibilisants cutanés connus, si elle déclenche une irritation cutanée excessive, ainsi que la nature de la relation dose-effet observée. Ces considérations, ainsi que d'autres, sont débattues en détail dans un autre document (7).

2 **RÉSULTATS**

Les données doivent être récapitulées sous forme de tableaux montrant les valeurs de DPM moyennes et individuelles et les indices de stimulation pour chaque groupe d'essai (y compris le groupe de témoins traités par le véhicule).

3 **RAPPORT**

RAPPORT D'ESSAI

Le rapport d'essai doit fournir les informations suivantes :

Substance d'essai:

- données d'identification (par exemple numéro CAS, le cas échéant ; source ; pureté ; impuretés connues ; numéro de lot) ;
- état physique et propriétés physico-chimiques (par exemple volatilité, stabilité, solubilité) ;
- s'il s'agit d'un mélange: composition et pourcentages relatifs des constituants.

Véhicule:

- données d'identification (pureté ; concentration, s'il y a lieu ; volume utilisé) ;
- justification du choix du véhicule.

Animaux d'expérience :

- souche de souris utilisée ;
- état microbiologique des animaux, s'il est connu ;
- nombre, âge et sexe des animaux ;
- source des animaux, conditions d'encagement, régime alimentaire, etc.

Conditions expérimentales:

- détails concernant la préparation et l'application de la substance d'essai ;
- justification du choix de la dose, y compris résultats d'une étude d'établissement de la gamme de doses, le cas échéant; concentrations du véhicule et de la substance d'essai et quantité totale de substance appliquée ;
- détails concernant la qualité de la nourriture et de l'eau de boisson (notamment le type de régime alimentaire, sa source et la source d'eau de boisson).

Test de fiabilité :

- résumé des résultats du dernier test de fiabilité, notamment les informations sur la substance, sa concentration et le véhicule utilisé ;
- données antérieures ou concomitantes relatives aux témoins positifs et négatifs utilisés dans les laboratoires d'essai.

Résultats:

- poids individuel des animaux au début de l'essai et au moment programmé du sacrifice ;
- tableau des valeurs de DPM moyennes (méthode collective) ou individuelles (méthode individuelle) ainsi que les échelles des valeurs pour les deux méthodes et indices de stimulation pour chaque groupe d'essai (y compris le groupe de témoins traités par le véhicule) ;
- analyse statistique, si nécessaire ;
- moment du déclenchement des effets et signes de toxicité, y compris irritation cutanée au niveau du site d'application, pour chaque animal.

Discussion des résultats:

-
- Bref commentaire sur les résultats, analyse de la relation dose-effet et analyses statistiques, s'il y a lieu, et conclusion quant au fait de savoir si la substance doit être considérée comme un sensibilisant cutané.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 Kimber, I. and Basketter, D.A. (1992). The murine local lymph node assay; collaborative studies and new directions: A commentary. *Food and Chemical Toxicology* 30, 165-169.
- 2 Kimber, I., Derman, R.J., Scholes E.W, and Basketter, D.A. (1994). The local lymph node assay: developments and applications. *Toxicology*, 93, 13-31.
- 3 Kimber, I., Hilton, J., Dearman, R.J., Gerberick, G.F., Ryan, C.A., Basketter, D.A., Lea, L., House, R.V., Ladies, G.S., Loveless, S.E., Hastings, K.L. (1998). Assessment of the skin sensitisation potential of topical medicaments using the local lymph node assay: An interlaboratory exercise. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 53, 563-79.
- 4 Méthode d'essai 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. *Food and Chemical Toxicology*, 18, 281-4.
- 10 National Institute of Environmental Health Sciences (1999). The Murine Local Lymph Node Assay: A Test Method for Assessing the Allergic Contact Dermatitis Potential of Chemicals/Compounds: The Results of an Independent Peer Review Evaluation Coordinated by the Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) and the National Toxicology Program Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICETAM). NIH Publication No: 99-4494, Research Triangle Park, N.C. (<http://iccvam.niehs.nih.gov>).
- 11 Méthode d'essai B.4.
- 12 Basketter, D.A., Selbie, E., Scholes, E.W. Lees, D. Kimber, I. and Botham, P.A. (1993) Results with OECD recommended positive control sensitisers in the maximisation, Buehler and local lymph node assays. *Food and Chemical Toxicology*, 31, 63-67.
- 13 Basketter D.A., Lea L.J., Dickens A., Briggs D., Pate I., Dearman R.J., Kimber I. (1999). A comparison of statistical approaches to the derivation of 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.

B.43. ÉTUDE DE NEUROTOXICITE CHEZ LES RONGEURS

1. MÉTHODE

Cette méthode d'essai est équivalente à la ligne directrice 424 (1997) de l'OCDE.

Cette méthode d'essai a été conçue dans le but de recueillir des données permettant de confirmer ou de mieux caractériser la neurotoxicité potentielle d'une substance pour des animaux adultes. Elle peut être utilisée en association avec d'autres méthodes d'essai dans le cadre d'études de toxicité à dose répétée ou seule, en tant qu'étude indépendante. Il est recommandé de consulter le Document d'orientation de l'OCDE sur les stratégies d'essais en matière de neurotoxicité (1). Cette recommandation est particulièrement importante lorsqu'on envisage de s'écarter des observations et des protocoles d'essai préconisés dans cette méthode. Le document d'orientation est également utile pour choisir un protocole d'essai adapté à un cas spécifique.

La présente méthode ne s'applique pas à l'évaluation de la neurotoxicité au stade du développement.

1.1 INTRODUCTION

Dans l'évaluation des propriétés toxiques d'un produit chimique, il est important de prendre en considération la possibilité d'effets neurotoxiques. La méthode d'essai concernant la toxicité systémique à dose répétée permet déjà un premier tri des substances potentiellement neurotoxiques. La présente méthode peut être utilisée pour obtenir des informations complémentaires sur les effets neurotoxiques observés dans les études de toxicité systémique à dose répétée, et éventuellement pour confirmer ces effets. Cependant, la neurotoxicité potentielle de substances appartenant à certaines catégories pourra être évaluée de façon plus appropriée en appliquant directement la présente méthode, sans recueillir au préalable les indications qui peuvent être fournies par les études de toxicité systémique à dose répétée. Ce sera notamment le cas lorsque :

- des signes de neurotoxicité ou des lésions neuropathologiques sont observés dans des études de toxicité autres que des études de toxicité systémique à dose répétée, ou
- lorsque les substances présentent des similitudes de structure ou ont d'autres caractéristiques en commun avec des substances neurotoxiques connues.

Cette méthode peut aussi être utile dans d'autres cas; voir référence (1) pour plus de détails.

Cette méthode a été conçue de manière à pouvoir être adaptée, en fonction des besoins spécifiques, aussi bien pour confirmer la neurotoxicité histopathologique d'une substance chimique ou sa neurotoxicité sur le plan du comportement, que pour caractériser et quantifier les neurotoxiques.

Autrefois, la neurotoxicité était assimilée à une forme de neuropathie englobant des lésions neuropathologiques ou des dysfonctionnements neurologiques tels que apoplexie, paralysie ou tremblements. Bien que la neuropathie soit une manifestation importante de la neurotoxicité, il apparaît aujourd'hui clairement qu'il existe de nombreux autres signes de toxicité pour le système nerveux (par exemple, perte de la coordination motrice, déficits sensoriels, diminution de la faculté d'apprentissage et de la mémoire) qui ne sont pas toujours mis en évidence par les études neuropathologiques ou autres.

La présente méthode d'essai de neurotoxicité vise à détecter, chez les rongeurs adultes, les effets importants sur le comportement et les effets neuropathologiques. Bien que des effets sur le comportement, même s'ils ne sont pas accompagnés de changements morphologiques, puissent révéler un impact néfaste sur l'organisme, les changements de comportement ne sont pas tous spécifiques du système nerveux. Par conséquent, tout changement observé doit être évalué par rapport aux données histopathologiques, hématologiques ou biochimiques correspondantes et aux résultats d'autres études de toxicité systémique. Les essais préconisés par la présente méthode pour caractériser et quantifier les réponses neurotoxiques comprennent des procédures histopathologiques et des procédures spécifiquement axées sur le comportement, qui pourront être étayées par des études électrophysiologiques et/ou biochimiques (1)(2)(3)(4) .

Les agents neurotoxiques peuvent agir sur différentes cibles dans le système nerveux et cela, par différents mécanismes. Comme il est impossible de concevoir une seule série d'essais permettant d'évaluer de manière approfondie le potentiel neurotoxique de toutes les substances, il peut s'avérer nécessaire de mettre en œuvre d'autres essais *in vivo* ou *in vitro* spécifiques du type de neurotoxicité observé ou escompté.

La présente méthode d'essai peut également servir, en association avec le document d'orientation de l'OCDE sur les stratégies et les méthodes d'essais en matière de neurotoxicité, à concevoir des études destinées à mieux caractériser la relation dose-effet ou à en améliorer la sensibilité, en vue d'obtenir une meilleure estimation de la concentration sans effet nocif observé ou de mettre en évidence les dangers connus ou suspectés de la substance. On peut ainsi concevoir des études pour identifier et évaluer le ou les mécanisme(s) neurotoxiques ou pour compléter des données déjà fournies par l'application de protocoles de base d'observations du comportement et d'observations neuropathologiques. Lors de ces études, il est inutile de chercher à obtenir en double des données qui seraient de toute façon obtenues en suivant les protocoles préconisés par la cette méthode, si ces données sont déjà disponibles et ne sont pas nécessaires pour l'interprétation des résultats de l'étude.

Les informations recueillies dans cette étude de neurotoxicité, qu'elle soit réalisée de façon indépendante ou couplée à d'autres études, permettent de :

- déterminer si les effets de la substance chimique sur le système nerveux sont permanents ou réversibles;
- mieux caractériser les altérations du système nerveux qui sont liées à l'exposition à la substance et faciliter la compréhension du mécanisme sous-jacent;
- déterminer les relations entre dose et effet et entre temps et effet afin de pouvoir estimer la concentration sans effet nocif observé (laquelle pourra servir à établir les critères de sécurité de la substance).

Dans cette méthode, la substance d'essai est administrée par voie orale. Si d'autres voies, comme la voie dermique ou l'inhalation, paraissent plus appropriées, des modifications des procédures recommandées s'imposent. Le choix de la voie d'administration est dicté par les circonstances de l'exposition humaine et par les informations toxicologiques ou cinétiques disponibles.

1.2 DÉFINITIONS

Effet nocif : toute altération par rapport à une situation de référence, qui est due au traitement et qui diminue l'aptitude d'un organisme à survivre, se reproduire ou s'adapter à l'environnement.

Dose : la quantité de substance d'essai administrée. La dose s'exprime en poids (g, mg) de substance d'essai ou en poids de substance d'essai par unité de poids de l'animal d'expérience (par exemple, mg/kg) ou en concentration dans le régime (ppm).

Dosage : un terme général qui comprend la dose, la fréquence et la durée de l'administration.

Neurotoxicité : une altération de la structure ou de la fonction du système nerveux qui est la conséquence d'une exposition à un agent chimique, biologique ou physique.

Agent neurotoxique : tout agent chimique, biologique ou physique capable d'induire une neurotoxicité.

CSENO : concentration maximale dans effet nocif observé, c'est-à-dire la dose la plus élevée à laquelle aucun effet nocif imputable au traitement n'est observé.

1.3 PRINCIPE DE LA METHODE D'ESSAI

La substance à tester est administrée par voie orale à différents niveaux de dose à plusieurs groupes de rongeurs. L'administration se fait généralement à doses répétées sur une période qui peut être de 28 jours, de 90 jours (étude subchronique) ou d'une année ou plus (étude chronique). Les procédures décrites dans cette méthode peuvent également être appliquées dans le cas d'une étude de neurotoxicité aiguë. Les animaux sont soumis à l'essai afin de détecter ou de caractériser des anomalies de comportement ou d'ordre neurologique. Au cours de chaque période d'observation, différents aspects du comportement qui pourraient être indicatifs d'une atteinte neurotoxique sont évalués. A la fin de l'essai, une partie des animaux de chaque groupe et de chaque sexe sont perfusés *in situ* et des coupes du cerveau, de la moelle épinière et des nerfs périphériques sont préparées et examinées.

Lorsque l'étude est conduite de façon indépendante pour dépister une neurotoxicité ou caractériser des effets neurotoxiques, les animaux de chaque groupe qui ne sont pas utilisés pour la perfusion et l'examen histopathologique (voir Tableau 1) peuvent servir pour des examens du comportement et des examens neuropathologiques, neurochimiques ou électrophysiologiques qui permettent de compléter les données recueillies dans les observations de base préconisées par la présente méthode (1). Ces examens complémentaires peuvent être particulièrement utiles lorsque des observations empiriques ou des effets escomptés laissent prévoir un type spécifique de neurotoxicité ou une cible spécifique pour cette neurotoxicité. Une autre possibilité est d'utiliser les animaux restants dans des évaluations telles que celles qui sont préconisées par les méthodes d'essai de toxicité à doses répétées chez les rongeurs.

Lorsque les procédures de la présente méthode d'essai sont combinées avec celles d'autres méthodes, il faut prévoir un nombre suffisant d'animaux pour pouvoir effectuer les observations requises par les deux études.

1.4 DESCRIPTION DE LA METHODE D'ESSAI

1.4.1 Choix de l'espèce animale

Le rat est l'espèce préférée, mais d'autres espèces de rongeurs peuvent être utilisées moyennant justification du choix. Il convient de recourir aux souches couramment utilisées en laboratoire. Les animaux doivent être adultes, jeunes et sains. Les femelles doivent être nullipares et non gravides. L'administration des doses doit débuter aussitôt après le sevrage, de préférence avant que les animaux n'atteignent l'âge de six semaines et en tout état de cause avant neuf semaines. Cependant, lorsque la présente étude est couplée à d'autres études, cette limite d'âge peut faire l'objet d'un ajustement. Au début de l'étude, les variations de poids entre animaux ne doivent pas dépasser plus ou moins 20 pour cent du poids moyen des animaux du même sexe. Si une étude de toxicité orale à dose répétée de faible durée est réalisée en tant qu'essai préliminaire avant une étude à long terme, il faut utiliser des animaux de même souche et de même provenance dans les deux études.

1.4.2 Conditions d'hébergement et d'alimentation

La température du local des animaux d'expérience doit être de 22°C (\pm 3°C). L'humidité relative doit atteindre au moins 30 pour cent et rester de préférence inférieure à 70 pour cent, mais en dehors des heures de nettoyage du local, on s'efforcera de maintenir le taux d'humidité autour de 50 à 60 pour cent. On appliquera un éclairage artificiel alternant 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Les bruits forts intermittents doivent être réduits au minimum. Pour l'alimentation des animaux, on pourra utiliser la nourriture classique de laboratoire avec de l'eau potable à satiété. Le choix du régime peut être influencé par la nécessité d'assurer un mélange convenable de la substance d'essai lorsqu'elle est administrée dans la nourriture. Les animaux peuvent être placés dans des cages soit individuellement, soit par petits groupes du même sexe.

1.4.3 Préparation des animaux

Des animaux jeunes et sains sont choisis au hasard pour être répartis entre les groupes de contrôle et de traitement. Les cages sont disposées de manière à minimiser les effets possibles dus à l'agencement des cages. Les animaux sont marqués individuellement afin de permettre leur identification. Ils sont maintenus dans les cages pendant cinq jours au moins avant le début de l'étude pour leur permettre de s'acclimater aux conditions du laboratoire.

1.4.4 Voies d'administration et préparation des doses

Dans cette méthode, la substance d'essai est administrée par voie orale. La substance à tester peut être administrée par gavage ou en capsules ou incorporée dans la nourriture ou l'eau de boisson. D'autres voies d'administration (par ex. voie dermique ou inhalation) peuvent être utilisées, mais nécessiteront le cas échéant des modifications du mode opératoire. Le choix de la voie d'administration est dicté par les circonstances de l'exposition humaine et par les informations toxicologiques ou cinétiques disponibles. Le choix de la voie d'administration, ainsi que les éventuelles modifications du mode opératoire doivent être justifiés.

Si nécessaire, la substance d'essai peut être dissoute ou mise en suspension dans un véhicule approprié. Il est recommandé de privilégier les solutions ou suspensions aqueuse. A défaut, on peut utiliser une solution dans l'huile (huile de maïs, par exemple) et, en dernier recours, une solution dans d'autres véhicules. Lorsque le véhicule n'est pas aqueux, il faut en connaître les propriétés toxiques. D'autres caractéristiques du véhicule peuvent avoir de l'importance, notamment des éventuels effets sur l'absorption, la distribution, le métabolisme ou la rétention de la substance d'essai, pouvant agir sur les propriétés toxiques de celle-ci, et des effets sur la consommation de nourriture ou d'eau ou sur l'état nutritionnel des animaux.

1.5 MODE OPÉRATOIRE

1.5.1 Nombre et sexe des animaux

Lorsqu'il s'agit d'une étude indépendante, il faut utiliser au moins vingt animaux (dix femelles et dix mâles) dans chaque groupe de traitement et dans chaque groupe témoin pour les observations cliniques et fonctionnelles. A la fin de l'étude, au moins cinq mâles et cinq femelles sont prélevés parmi ces dix mâles et ces dix femelles pour être perfusés *in situ* et soumis à un examen neuro-histopathologique. Lorsque dans un groupe de dosage, les observations visant à détecter les effets neurotoxiques ne sont réalisées que sur un nombre limité d'animaux, il convient que ces animaux fassent partie de ceux qui seront choisis pour être perfusés. Si l'étude est combinée avec une étude de toxicité à doses répétées, le nombre des animaux doit être suffisant pour que les objectifs des deux études puissent être atteints. Le Tableau 1 donne les nombres minimaux d'animaux par groupe pour différentes combinaisons d'études. S'il est prévu de sacrifier des animaux avant le terme de l'étude ou de constituer des groupes pour observer la réversibilité des effets, leur persistance ou l'apparition différée d'effets toxiques après traitement, ou si des observations complémentaires sont envisagées, il faut augmenter le nombre d'animaux pour s'assurer que le nombre requis pour les observations et les examens histopathologiques sera disponible.

1.5.2 Groupes de traitement et groupes témoins

En règle générale, on doit disposer d'au moins trois groupes d'animaux traités et d'un groupe témoin. Cependant, s'il ressort de l'évaluation d'autres données qu'aucun effet n'est à attendre d'une administration répétée à la dose de 1 000 mg/kg de poids corporel/jour, on peut procéder à un essai limite. Si l'on ne dispose pas de données adéquates, on peut mener une étude préliminaire visant à délimiter la gamme des niveaux de doses à utiliser. À l'exception de l'exposition à la substance à tester, les animaux du groupe témoin doivent être traités exactement de la même manière que les animaux des groupes de traitement. Si la substance à tester est incorporée dans un véhicule, le groupe témoin doit en recevoir un volume égal au plus grand volume utilisé dans les groupes de traitement.

1.5.3 Contrôle de la fiabilité

Le laboratoire chargé de l'étude doit présenter des données attestant de sa capacité à réaliser l'étude et prouvant la sensibilité des méthodes employées. Ces données doivent constituer une preuve évidente de la faculté du laboratoire à détecter et, le cas échéant, à quantifier, les changements observés pour les différents critères d'évaluation, notamment réactions neurovégétatives, réactivité sensorielle, force de préhension et activité motrice. Les références 2 à 9 contiennent des informations sur les substances qui provoquent différents types de réponses neurotoxiques et qui peuvent servir de témoins positifs. Des données antérieures peuvent également être utilisées à condition que les principaux éléments des procédures expérimentales soient restés les mêmes. Des mises à jour périodiques de ce type de données sont recommandées. Chaque fois que le laboratoire modifie un élément essentiel du mode opératoire ou des méthodes employées, de nouvelles données doivent être réunies pour démontrer que la sensibilité des procédures est maintenue.

1.5.4 Choix des doses

Les niveaux de dose doivent être choisis en fonction des données disponibles concernant la toxicité et la toxicocinétique de la substance d'essai ou de substances apparentées. La dose la plus élevée est choisie dans le but de provoquer des effets neurotoxiques ou des effets de toxicité systémique manifeste. Il faut ensuite choisir une série de doses décroissantes de façon à mettre en évidence une éventuelle relation dose-effet et l'absence d'effets nocifs observables au niveau de la dose la plus faible (CSENO). En principe, les niveaux de doses doivent être choisis de telle manière que l'on puisse distinguer les effets neurotoxiques primaires des effets liés à la toxicité systémique. Deux à trois intervalles entre niveaux successifs représentent fréquemment la meilleure solution et il est souvent préférable d'ajouter un quatrième groupe d'essai plutôt que de fixer des intervalles trop espacés (par exemple dépassant un facteur dix) entre les niveaux de dose. Lorsque des estimations réalistes de l'exposition humaine existent, il faut en tenir compte.

1.5.5 Essai limite

Si une étude réalisée à une dose d'au moins 1 000 mg/kg de poids corporel/jour selon la méthode décrite ci-dessus ne provoque aucun effet toxique observable, et que d'après les données obtenues pour des composés de structure analogue, il est peu probable que la substance testée soit toxique, on peut considérer qu'il est inutile d'effectuer une étude complète sur trois niveaux de dose. En fonction de l'exposition humaine escomptée, il pourra s'avérer nécessaire d'administrer une dose plus forte par voie orale pour l'essai limite. Pour les autres voies d'administration, comme l'inhalation ou l'application cutanée, ce sont souvent les propriétés physiques et chimiques de la substance qui déterminent le niveau d'exposition maximal. Dans le cas d'une étude orale aiguë, la dose de l'essai limite doit être au moins 2000 mg/kg.

1.5.6 Administration des doses

La substance à tester est administrée aux animaux quotidiennement, sept jours par semaine, sur une période d'au moins 28 jours. L'administration à raison de cinq jours par semaine ou l'adoption d'une période d'exposition plus courte demandent à être justifiées. Lorsque la substance est administrée par gavage, les animaux doivent recevoir une dose unique introduite au moyen d'une sonde gastrique ou d'une canule d'intubation appropriée. Le volume maximal de liquide pouvant être administré en une fois dépend de la taille de l'animal. Ce volume ne doit pas dépasser 1 ml/100 g de poids corporel. Toutefois, dans le cas d'une solution aqueuse, il est possible d'utiliser jusqu'à 2 ml/100 g de poids corporel. Exception faite pour les substances irritantes ou corrosives, qui donneraient normalement lieu à des effets fortement amplifiés à des concentrations plus élevées, il convient de minimiser les variations du volume administré en ajustant la concentration de façon à maintenir un volume constant à tous les niveaux de dose.

Lorsque la substance est administrée dans la nourriture ou l'eau de boisson, il importe que les quantités de substance utilisées ne modifient pas les bilans nutritionnels ou hydriques normaux. Lorsque la substance est administrée dans la nourriture, deux possibilités sont offertes: soit le maintien d'une concentration constante (exprimée en ppm), soit le maintien d'un niveau de dose constant par rapport au poids corporel de l'animal. L'option choisie doit être précisée. Lorsque la substance est administrée par gavage, la dose doit être administrée chaque jour à la même heure et la quantité doit être ajustée de manière à maintenir un niveau de dose constant par rapport au poids corporel de l'animal. Lorsqu'un essai à dose répétée sert d'étude préliminaire à une étude à long terme, il faut appliquer le même régime alimentaire dans les deux études. Pour les études de toxicité aiguë, si la dose ne peut être administrée en une seule fois, il est possible de la fractionner sur période n'excédant pas 24 heures.

1.6 OBSERVATIONS

1.6.1 Fréquence des observations et essais

Dans les études à doses répétées la période d'observation doit s'étendre sur toute la période de traitement. Dans les études de toxicité aiguë, les observations sont poursuivies pendant 14 jours après le traitement. Les animaux de groupes satellites (qui ne sont pas exposés pendant une certaine période après le traitement) sont observés également pendant 14 jours.

Les observations doivent être suffisamment fréquentes pour favoriser la détection de toute anomalie de comportement ou d'ordre neurologique. Les observations se font de préférence aux mêmes moments chaque jour, en tenant compte de la période au cours de laquelle les effets escomptés du traitement seront les plus marqués. Le Tableau 2 récapitule la fréquence des observations cliniques et des tests fonctionnels. Si des données de cinétique et autres, obtenues dans des études antérieures, indiquent que d'autres moments de la journée sont plus propices aux observations, essais ou observations après traitement, il y a lieu d'adopter un échancier différent afin de recueillir le plus d'informations possible. Les modifications de l'échancier doivent être justifiées.

1.6.1.1 *Surveillance de l'état de santé général et relevés de mortalité/morbidité*

Tous les animaux font l'objet d'un examen minutieux au moins une fois par jour pour vérifier leur état de santé, et des relevés de la morbidité et de la mortalité sont effectués au moins deux fois par jour.

1.6.1.2 *Observations cliniques détaillées*

Tous les animaux choisis pour être soumis à un examen clinique approfondi (voir Tableau 1) subissent cet examen une fois avant la première exposition (pour permettre des comparaisons sur un même individu) et à divers intervalles par la suite, en fonction de la durée de l'étude (voir Tableau 2). Les groupes satellites destinés à l'observation de la réversibilité des effets sont examinés à la fin de la période de récupération. Ces examens doivent être effectués hors de la cage habituelle, sur une aire standard. Les résultats doivent être soigneusement consignés, de préférence à l'aide de systèmes de cotation utilisant des critères ou d'échelles de cotation, pour chaque mesure effectuée. Les critères ou échelles employés doivent être explicitement définis par le laboratoire. Il faut s'efforcer de minimiser les variations des conditions d'essai (mis à part celles qui sont liées au traitement) et prendre les dispositions nécessaires pour que les examens soient effectués par des observateurs expérimentés n'ayant pas connaissance du traitement administré.

Il est recommandé procéder de manière structurée en appliquant systématiquement, pour chaque animal et à chaque moment d'observation, des critères bien définis. Les données utilisées pour définir le niveau normal doivent être présentées. Tous les signes observés doivent être consignés. L'ampleur des signes observés est également consignée chaque fois que cela est possible. Les observations cliniques devraient notamment porter sur les modifications de l'état de la peau, de la fourrure, des yeux, des membranes muqueuses, l'apparition de sécrétions et d'excrétions et de réactions neurovégétatives (sécrétion de larmes, horripilation, variation du diamètre pupillaire, rythme respiratoire inhabituel, respiration par la bouche, tous signes inhabituels de miction ou défécation, urine décolorée, par exemple).

Il convient également de consigner toute réaction inhabituelle en ce qui concerne la position du corps, le niveau d'activité (par exemple, exploration accrue ou diminuée de l'aire standard) et la coordination des mouvements. Il convient également de consigner les modifications dans la démarche (dandinement, ataxie, par exemple), dans la posture (dos arrondi, par exemple) et la réaction à la manipulation, au placement et autres stimuli, ainsi que la présence de mouvements cloniques ou toniques, les convulsions et tremblements, les comportements stéréotypés (par exemple, toilettage excessif, parcours circulaires répétitifs) ou les comportements bizarres (par exemple, tendance à mordre, léchage excessif, automutilation, marche à reculons, vocalisation) ou l'agressivité.

1.6.1.3 *Tests fonctionnels*

Comme dans le cas des observations cliniques, les tests fonctionnels sont réalisés sur tous les animaux sélectionnés à cet effet (voir Tableau) une fois avant l'exposition et fréquemment ensuite. La fréquence des tests fonctionnels dépend également de la durée de l'étude (voir Tableau 2). En plus des périodes d'observation stipulées dans le Tableau 2, des observations fonctionnelles sont réalisées sur des groupes satellites aussi près que possible du sacrifice final. Les tests fonctionnels explorent notamment la réactivité sensorielle à divers stimuli [par exemple, stimuli auditifs, visuels et proprioceptifs (5)(6)(7)], la force de préhension (8) et l'activité motrice (9). Cette dernière doit être mesurée à l'aide d'un dispositif automatique pouvant détecter aussi bien les hausses que les baisses d'activité. Si un autre système défini est utilisé, il doit être quantitatif et de sensibilité et fiabilité démontrées. Chaque dispositif doit être testé afin de garantir sa fiabilité au cours du temps et la cohérence des résultats d'un dispositif à l'autre. On trouvera dans les références bibliographiques susmentionnées une description plus détaillée des modes opératoires. En l'absence d'informations sur le potentiel neurotoxique (par ex., informations sur la relation structure-activité, données épidémiologiques, autres études toxicologiques), il convient d'envisager des tests plus spécialisés d'exploration des fonctions sensorielles et motrices ou de la mémoire et de la faculté d'apprentissage. La référence (1) fournit de plus amples informations sur les tests plus spécialisés et leur utilisation.

Exceptionnellement, les animaux qui montrent des signes de toxicité marqués qui risqueraient de fausser considérablement les résultats du test fonctionnel peuvent ne pas être soumis à ce test. La décision d'écarter des animaux d'un test fonctionnel doit être justifiée.

1.6.2 **Poids corporel et consommation de nourriture et d'eau**

Dans les études allant jusqu'à 90 jours, tous les animaux doivent être pesés au moins une fois par semaine. Il faut également mesurer la quantité de nourriture consommée (ou d'eau consommée, lorsque la substance est administrée par cette voie), au moins une fois par semaine. Dans les études à long terme, tous les animaux sont pesés au moins une fois par semaine pendant les treize premières semaines et au moins une fois toutes les quatre semaines par la suite. La quantité de nourriture consommée (ou d'eau, si la substance est administrée par cette voie) doit être mesurée au moins une fois par semaine pendant les treize premières semaines et à peu près tous les trois mois par la suite, à moins qu'une détérioration de l'état général ou un amaigrissement n'imposent d'autres conditions.

1.6.3 **Ophthalmologie**

Dans les études de plus de 28 jours, un examen ophtalmologique à l'aide d'un ophtalmoscope ou d'un autre appareil approprié doit être effectué avant l'administration de la substance et au terme de l'étude. Cet examen est effectué de préférence sur tous les animaux et en tout état de cause au moins sur ceux du groupe ayant reçu la dose la plus forte ainsi que sur les animaux des groupes témoins. Si des altérations sont détectées dans les yeux, ou si des signes cliniques y incitent, l'examen est étendu à tous les animaux. Dans les études à long terme, un examen ophtalmologique est prévu après treize semaines. Des examens ophtalmologiques ne sont pas nécessaires si les informations pertinentes ont déjà été fournies par d'autres études de durée similaire réalisées à des doses comparables.

1.6.4 Hématologie et biochimie clinique

Lorsque l'étude de neurotoxicité est conduite en combinaison avec une étude de toxicité systémique à doses répétées, les examens hématologiques et les déterminations de biochimie clinique doivent être effectués comme prescrit par la méthode correspondante de l'étude de toxicité systémique. Les échantillons sont à prélever de telle façon que les effets possibles sur le comportement neurologique soient réduits au minimum.

1.6.5 Histopathologie

L'examen neuropathologique doit être conçu dans le but de compléter et d'approfondir les observations faites pendant la phase *in vivo* de l'étude. Les tissus d'au moins cinq animaux de chaque sexe et de chaque groupe (voir le Tableau 1 et le paragraphe suivant) doivent être fixés *in situ* à l'aide des techniques de perfusion et de fixation usuelles (voir le chapitre 5 de la référence 3 et le chapitre 50 de la référence 4). Tout changement important observable doit être consigné. S'il s'agit d'une étude indépendante, réalisée pour dépister une neurotoxicité ou pour caractériser des effets neurotoxiques, les animaux restants peuvent être utilisés pour des examens spécifiques du comportement neurologique (10)(11), des examens neuropathologiques (10)(11)(12)(13), neurochimiques (10)(11)(14)(15) ou électrophysiologiques pouvant éventuellement compléter les procédures et examens décrits ici, ou bien venir s'ajouter aux animaux soumis à l'examen histopathologique. Ces procédures complémentaires sont particulièrement utiles lorsque, à la suite d'observations empiriques ou sur la base des effets escomptés, on peut s'attendre à un type spécifique de neurotoxicité ou à une cible spécifique de celle-ci (2)(3). Ces animaux restants peuvent également servir dans les évaluations pathologiques de routine qui sont décrites dans la méthode à doses répétées.

Les échantillons de tissus sont colorés par une méthode usuelle, par exemple par de l'hématoxyline et de l'éosine, inclus dans de la paraffine et examinés sous le microscope. Si des signes de neuropathie périphérique sont observés ou en cas de suspicion de tels effets, il conviendra d'examiner des échantillons de tissu nerveux périphérique inclus dans du plastique. Certains signes cliniques peuvent également inciter à l'examen d'autres sites ou à l'utilisation de méthodes de coloration spéciales. Les références (3) et (4) fournissent des indications sur les sites supplémentaires à examiner. Des colorants spéciaux peuvent aussi être utiles pour mettre en évidence des types spécifiques d'altérations pathologiques (18).

Un examen histologique doit être réalisé sur des coupes représentatives du système nerveux central et périphérique (voir le chapitre 5 de la référence 3 et le chapitre 50 de la référence 4). Les sites examinés doivent normalement comprendre le cerveau antérieur, le centre des hémisphères cérébraux, comprenant une coupe de l'hippocampe, le cerveau central, le cervelet, la protubérance annulaire, le bulbe rachidien, l'œil avec le nerf optique et la rétine, la moelle épinière et les renflements cervicaux et lombaires, les ganglions de la chaîne dorsale, les fibres de la chaîne dorsale et ventrale, le nerf sciatique proximal, le nerf tibial proximal (au genou) et les ramifications du nerf tibial aux muscles du mollet. Les sections de la moelle épinière et des nerfs périphériques doivent comprendre des coupes transversales et longitudinales. Il faut accorder une attention particulière à la vascularisation du système nerveux. Un échantillon de muscles squelettiques, en particulier du mollet, devrait également être examiné. Une attention particulière devrait être accordée aux régions à structure cellulaire et fibreuse du système nerveux central et périphérique, qui sont connues pour être particulièrement sujettes aux attaques neurotoxiques.

Les références (3) et (4) fournissent des informations sur les altérations neuropathologiques typiquement liées aux expositions à une substance neurotoxique. Il est recommandé de procéder par étapes pour l'examen des échantillons de tissus, en comparant d'abord des coupes du groupe ayant reçu la forte dose avec des coupes du groupe témoin. Si aucune altération neuropathologique n'est constatée dans les échantillons de ces groupes, il n'est pas nécessaire de poursuivre l'analyse. Si des altérations neuropathologiques apparaissent dans le groupe traité à la forte dose, il faut alors examiner successivement des échantillons de tous les tissus potentiellement affectés des groupes traités à la dose intermédiaire et à la dose faible.

Si l'examen qualitatif met en évidence des signes d'altérations neuropathologiques, il convient de procéder à un second examen de toutes les régions du système nerveux qui présentent ces altérations. Dans tous les groupes de dosage, il convient de réaliser des coupes de toutes les régions potentiellement affectées, qui seront ensuite codées, puis examinées à l'aveugle dans un ordre aléatoire. La fréquence et la gravité de chaque lésion sont consignées. Quand toutes les régions de tous les groupes ont été cotées, le code est cassé et une analyse statistique est faite afin de déterminer la relation dose-réponse. Il faut donner la description des différents degrés de gravité de chaque lésion.

Les résultats de l'examen neuropathologique doivent être évalués à la lumière des observations et déterminations fonctionnelles, ainsi que des résultats des études de toxicité systémique réalisées sur la substance.

2 RÉSULTATS

2.1 TRAITEMENT DES RÉSULTATS

Il faut présenter les résultats relatifs à chaque individu. En outre, toutes les données doivent être résumées sous forme de tableaux montrant pour chaque groupe d'essai ou groupe témoin, le nombre d'animaux au début de l'essai, le nombre d'animaux trouvés morts ou euthanasiés au cours de l'essai, le moment de chaque décès ou sacrifice, le nombre d'animaux manifestant des signes de toxicité, une description de ces signes, y compris le moment de leur apparition, leur durée, leur type et leur gravité, le nombre d'animaux présentant des lésions, le type de ces dernières et leur gravité.

2.2 ÉVALUATION ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats de l'étude doivent être évalués sur les plans de la fréquence, de la gravité et de la corrélation des effets neuropathologiques et de comportement (le cas échéant, neurochimiques et électrophysiologiques si des examens supplémentaires ont été pratiqués) avec d'autres effets nocifs observés. Dans la mesure du possible, les résultats numériques devraient être évalués au moyen d'une méthode statistique adéquate et communément acceptée. Les méthodes statistiques doivent être choisies au moment de la conception de l'étude.

3 RAPPORT

Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit comporter les informations ci-après:

Substance d'essai:

- nature physique (y compris isomérisation, pureté et propriétés physico-chimiques);
- données permettant l'identification.

Véhicule (le cas échéant):

- justification du choix du véhicule.

Animaux d'expérience:

- espèce/souche utilisées;
- nombre, âge et sexe des animaux;
- source, conditions d'encagement, acclimatation, alimentation, etc.;
- poids de chaque animal au début de l'essai.

Conditions de l'essai:

- description détaillée de la formulation de la substance à tester et/ou de la préparation alimentaire, concentration atteinte, stabilité et homogénéité de la préparation;
- précisions sur les doses administrées, le véhicule, le volume et la forme physique du mélange administré;
- précisions sur le mode d'administration de la substance à tester;
- justification du choix des niveaux de dose;
- justification du choix de la voie et de la durée d'exposition;
- conversion de la concentration (en ppm) de la substance à tester dans la nourriture ou dans l'eau de boisson en dose (en mg/kg de poids corporel/jour), le cas échéant;
- précisions sur la qualité des aliments et de l'eau.

Procédures d'observation et d'essais :

- précisions sur l'affectation des animaux de chaque groupe aux sous-groupes de perfusion;
- précisions sur les systèmes de cotation, les critères et les échelles utilisés pour chaque détermination lors des observations cliniques détaillées;
- précisions sur les tests fonctionnels d'exploration de la réactivité sensorielle à divers stimuli (par exemple stimuli auditifs, visuels et proprioceptifs); précisions sur l'évaluation de la force de préhension; précisions sur l'évaluation de l'activité motrice (y compris détails sur les dispositifs automatiques de détection de l'activité) et sur les autres procédures;
- précisions sur les examens ophtalmologiques et, le cas échéant, hématologiques et sur les tests de biochimie clinique, avec indication des valeurs de référence;
- précisions sur les procédures spécifiques de recherche des modifications du comportement et des altérations neuropathologiques, neurochimiques et électrophysiologiques.

Résultats:

- poids corporel/variations du poids corporel et poids au moment du sacrifice;
- consommation d'aliments et d'eau, le cas échéant ;
- informations sur les réactions de toxicité, par sexe et par niveau de dose, y compris les symptômes de toxicité ou mortalité ;
- nature, gravité et durée (moment du début et évolution observée) des observations cliniques détaillées (préciser si les effets sont réversibles ou non) ;
- description détaillée des résultats de tous les tests fonctionnels ;
- résultats de l'autopsie
- description détaillée de toutes les observations concernant le comportement, les modifications neuropathologiques, neurochimiques et électrophysiologiques, le cas échéant;
- données concernant l'absorption et le métabolisme, si disponibles
- traitement statistique des résultats, le cas échéant

Discussion des résultats :

- informations concernant la relation dose-réponse
- rapport entre tout autre effet toxique et une conclusion quant au potentiel neurotoxique de la substance
- concentration sans effet nocif observé.

Conclusions:

- une appréciation sur la neurotoxicité globale de la substance est demandée.

4

BIBLIOGRAPHIE

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). Spencer, P.S. and Schaumburg, H.H. eds., Williams and Wilkins Co., Baltimore/London, 726-742.
5. Tupper D.E. and Wallace, R.B. (1980). Utility of the Neurologic Examination in Rats. *Acta Neurobiol. Exp.*, 40, 999-1003.
6. Gad, S.C. (1982). A Neuromuscular Screen for Use in Industrial Toxicology. *J. Toxicol. Environ. Health*, 9, 691-704.
7. Moser V.C., McDaniel, K.M. and Phillips, P.M. (1991). Rat Strain and Stock Comparisons Using a Functional Observational Battery: Baseline Values and Effects of amitraz. *Toxic. Appl. Pharmacol.*, 108, 267-283.

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

Tableau 1 :
Nombres minimaux d'animaux requis par groupe selon que l'étude de neurotoxicité est conduite séparément ou en combinaison avec d'autres études

	ÉTUDE DE NEUROTOXICITÉ CONDUITE COMME:			
	Étude séparée	Étude combinée avec une étude sur 28 jours	Étude combinée avec une étude sur 90 jours	Étude combinée avec une étude de toxicité chronique
Nombre total d'animaux par groupe	10 mâles et 10 femelles	10 mâles et 10 femelles	15 mâles et 15 femelles	25 mâles et 25 femelles
Nombre d'animaux sélectionnés pour les tests fonctionnels y compris les observations cliniques détaillées	10 mâles et 10 femelles	10 mâles et 10 femelles	10 mâles et 10 femelles	10 mâles et 10 femelles
Nombre d'animaux sélectionnés pour la perfusion <i>in situ</i> et l'examen neuro-histopathologique	5 mâles et 5 femelles	5 mâles et 5 femelles	5 mâles et 5 femelles	5 mâles et 5 femelles
Nombre d'animaux sélectionnés pour les essais de toxicité à dose répétée, de toxicité subchronique et chronique, les études hématologiques, de biochimie clinique, histopathologiques, etc., comme indiqué dans les lignes directrices correspondantes		5 mâles et 5 femelles	10 mâles [†] et 10 femelles [‡]	20 mâles [†] et 20 femelles [‡]
Observations complémentaires, le cas échéant	5 mâles et 5 femelles			

[†] - Ce nombre comprend cinq animaux sélectionnés pour les test fonctionnels et les observations cliniques détaillées faisant partie de l'étude de neurotoxicité.

Tableau 2 :
Fréquence des observations cliniques et périodicité des tests fonctionnels

Type d'observation		Durée de l'étude			
		Étude de toxicité aiguë	28 jours	90 jours	Étude de toxicité chronique
Sur tous les animaux	État de santé général	quotidiennement	Quotidiennement	quotidiennement	quotidiennement
	Mortalité/morbidité	deux fois par jour	deux fois par jour	deux fois par jour	deux fois par jour
	Observations cliniques détaillées	<ul style="list-style-type: none"> - avant la première exposition - dans les huit heures suivant l'administration, au moment où l'effet est censé être le plus prononcé - aux jours 7 et 14 après administration 	<ul style="list-style-type: none"> - avant la première exposition - une fois par semaine ensuite 	<ul style="list-style-type: none"> - avant la première exposition - une fois pendant la première ou la deuxième semaine d'exposition - une fois par mois ensuite 	<ul style="list-style-type: none"> - avant la première exposition - une fois à la fin du premier mois d'exposition - tous les trois mois ensuite
Sur les animaux sélectionnés pour les observations fonctionnelles	Tests fonctionnels	<ul style="list-style-type: none"> - avant la première exposition - dans les huit heures suivant l'administration, au moment où l'effet est censé être le plus prononcé - aux jours 7 et 14 après administration 	<ul style="list-style-type: none"> - avant la première exposition - pendant la quatrième semaine du traitement le plus près possible de la fin de la période d'exposition 	<ul style="list-style-type: none"> - avant la première exposition - une fois pendant la première ou la deuxième semaine d'exposition - une fois par mois ensuite 	<ul style="list-style-type: none"> - avant la première exposition - une fois à la fin du premier mois d'exposition - tous les trois mois ensuite

ANNEXE 2I

C.21. MICRO-ORGANISMES DU SOL: ESSAI DE TRANSFORMATION DE L'AZOTE

1. METHODE

La présente méthode d'essai reprend l'essai TG 216 (2000) de l'OCDE.

1.1 INTRODUCTION

La présente méthode d'essai décrit une méthode de laboratoire conçue pour étudier les effets à long terme des substances chimiques, après une exposition unique, sur l'activité de transformation de l'azote par les micro-organismes du sol. L'essai s'appuie principalement sur les recommandations de l'Organisation européenne et méditerranéenne pour la protection des plantes (1). Toutefois, d'autres lignes directrices, notamment celles du Biologische Bundesanstalt allemand (2), de l'agence de protection de l'environnement des États-Unis (3) de la SETAC (4) et de l'Organisation internationale de normalisation (ISO) (5), ont également été prises en considération. Lors d'un atelier de l'OCDE sur la sélection des sols et des sédiments, qui s'est tenu à Belgirate, Italie, en 1995 (6), le nombre et le type de sols à utiliser dans le cadre de cet essai ont été définis. Les recommandations relatives au prélèvement, à la manipulation et au stockage des échantillons de sol s'appuient sur des lignes directrices de l'ISO (7) et sur les recommandations de l'atelier de Belgirate. Pour déterminer et évaluer les caractéristiques toxiques des substances d'essai, il peut être nécessaire de déterminer leurs effets sur l'activité microbienne du sol, par exemple lorsqu'il est nécessaire de disposer de données sur les effets secondaires potentiels des produits phytosanitaires sur la microflore du sol ou bien en cas de risque d'exposition des micro-organismes du sol à des substances chimiques autres que les produits phytosanitaires. L'essai de transformation de l'azote est effectué pour déterminer les effets de ces substances chimiques sur la microflore du sol. Si l'essai porte sur des produits agrochimiques (produits phytosanitaires, engrais, produits chimiques sylvicoles), deux essais sont effectués : l'essai de transformation de l'azote et l'essai de transformation du carbone. S'il s'agit d'autres substances que les produits agrochimiques, l'essai de transformation de l'azote suffit. Toutefois, si les valeurs CE_{50} de l'essai de transformation de l'azote relatives à ces substances chimiques correspondent à celles des inhibiteurs de la nitrification commerciaux (nitrapyrine), un essai de transformation du carbone peut être effectué afin d'obtenir des informations complémentaires.

Les sols sont formés de composés vivants et non vivants qui existent sous forme de mélanges complexes et hétérogènes. Les micro-organismes jouent un rôle important dans la décomposition et la transformation de la matière organique en sol fertile et un grand nombre d'espèces contribuent aux différents aspects de la fertilisation des sols. Toute interférence à long terme avec ces processus biochimiques risque de perturber le cycle des éléments nutritifs et par conséquent d'altérer la fertilité du sol. La transformation du carbone et de l'azote se produit dans tous les sols fertiles. Bien que les colonies microbiennes responsables de ces processus diffèrent d'un sol à un autre, les voies de transformation sont identiques pour l'essentiel.

La méthode d'essai décrite ici est conçue pour détecter les effets nocifs à long terme d'une substance sur le processus de transformation de l'azote à la surface aérobie des sols. La méthode d'essai permet également d'estimer les effets des substances sur la transformation du carbone par la microflore du sol. La formation de nitrate se produit par suite de la dégradation des liaisons carbone-azote. Par conséquent, si l'on trouve des taux identiques de production de nitrate dans des sols traités et dans les sols témoins, il est très probable que les voies de dégradation principales du carbone soient intactes et fonctionnelles. Le substrat choisi pour l'essai (farine de luzerne en poudre) présente un bon rapport carbone-azote (généralement entre 12/1 et 16/1). De ce fait, la carence en carbone est réduite pendant l'essai et si la population microbienne est endommagée par une substance chimique, elle peut se reconstituer dans un délai de 100 jours.

Les essais à partir desquels la présente méthode d'essai a été mise au point étaient conçus avant tout pour des substances dont il est possible d'estimer la quantité qui pénètre dans le sol. C'est le cas par exemple, des produits phytosanitaires dont la dose d'application dans le champ est connue. Pour les produits agrochimiques, il suffit de pratiquer un essai sur deux doses correspondant au taux d'application prévu ou estimé. Les produits agrochimiques peuvent être testés sous forme de principes actifs (p.a.) ou de produits formulés. Toutefois, l'essai n'est pas limité aux produits agrochimiques. En modifiant la quantité de substance d'essai appliquée au sol, et le mode d'évaluation des données, on détermine les effets d'une série de concentrations sur la transformation de l'azote pour les substances chimiques autres que les produits agrochimiques. L'essai peut également être utilisé pour les substances chimiques dont on ne connaît pas la quantité qui pénètre dans le sol. Les résultats de ces essais sont utilisés pour préparer une courbe dose-réponse et calculer les valeurs CE_x , où x est défini comme le pourcentage d'effet.

1.2 DEFINITIONS

Transformation de l'azote: dégradation par des micro-organismes de la matière organique contenant de l'azote, par le processus d'ammonification et de nitrification, en son produit final, le nitrate inorganique.

CE_x (concentration produisant x% d'effet): concentration de la substance d'essai dans le sol qui produit x pour cent d'inhibition de la transformation de l'azote en nitrate.

CE₅₀ (concentration produisant 50% d'effet): concentration de la substance d'essai dans le sol qui produit 50 pour cent (50%) d'inhibition de la transformation de l'azote en nitrate.

1.3 SUBSTANCES DE REFERENCE

Aucune.

1.4 PRINCIPE DE LA METHODE

Le sol tamisé est amendé avec de la farine végétale en poudre puis traité avec la substance d'essai ou laissé non traité (témoin). Si l'essai porte sur des produits agrochimiques, il est recommandé d'utiliser au moins deux concentrations d'essai et celles-ci doivent être choisies en fonction de la concentration maximale prévisible dans le champ. Au bout de 0, 7, 14 et 28 jours d'incubation, des échantillons de sol traité et des échantillons témoins sont extraits avec un solvant approprié, et les quantités de nitrate présentes dans les extraits sont déterminées. Le taux de formation de nitrate dans les échantillons traités est comparé au taux des échantillons témoins, et l'écart en pourcentage entre l'échantillon traité et l'échantillon témoin est calculé. Tous les essais durent au moins 28 jours. Si, au 28^{ème} jour, les différences entre les sols traités et les sols non traités sont égales ou supérieures à 25%, les mesures sont poursuivies pendant une durée maximale de 100 jours. Lorsque l'essai porte sur des produits non agrochimiques, une série de concentrations de substance d'essai sont ajoutées aux échantillons de sol, et les quantités de nitrate formées dans les échantillons traités et les échantillons témoins sont mesurées au bout de 28 jours d'incubation. Les résultats des essais avec une série de concentrations sont analysés à l'aide d'un modèle de régression, et les valeurs CE_x sont calculées (CE₅₀, CE₂₅ et/ou CE₁₀). Voir définitions.

1.5 VALIDITÉ DE L'ESSAI

L'évaluation des résultats des essais effectués avec des produits agrochimiques repose sur des différences relativement faibles (valeur moyenne $\pm 25\%$) entre les concentrations en nitrate dans les échantillons témoins et les échantillons traités, de sorte qu'une variabilité importante des témoins peut entraîner des résultats erronés. C'est pourquoi la variation entre les témoins doit être inférieure à $\pm 15\%$.

1.6 DESCRIPTION DE LA METHODE

1.6.1 Appareillage

Des récipients d'essai en matériau chimiquement inerte sont utilisés. Ces récipients doivent avoir une contenance adaptée à la méthode d'incubation utilisée, c'est-à-dire : incubation en vrac ou avec une série d'échantillons individuels (voir le paragraphe 1.7.1.2). Il convient de veiller à la fois à minimiser l'évaporation et à permettre l'échange gazeux pendant l'essai (les récipients d'essai peuvent par exemple être couverts d'une feuille de polyéthylène perforée). Lorsque l'essai porte sur des substances volatiles, il convient d'utiliser des récipients hermétiques et étanches au gaz. La taille de ces récipients doit être telle qu'ils soient remplis environ au quart de leur contenance avec l'échantillon de sol.

Le matériel courant de laboratoire suivant est utilisé:

- agitateur: agitateur mécanique ou équivalent;
- centrifugeuse (3000 g) ou appareil de filtration (avec du papier filtre sans nitrate);
- instrument de sensibilité et de reproductibilité adapté à l'analyse des nitrates.

1.6.2 **Sélection et nombre de sols**

Un seul sol est utilisé. Les caractéristiques recommandées sont les suivantes:

- teneur en sable: supérieure à 50% et inférieure à 75%;
- pH: 5,5 – 7,5;
- teneur en carbone organique: 0,5 – 1,5%;
- la biomasse microbienne doit être mesurée (8)(9) et sa teneur en carbone doit être égale à 1% au moins du carbone organique total du sol.

Dans la plupart des cas, un sol possédant ces caractéristiques représente les conditions les plus défavorables, puisque l'adsorption de la substance chimique de l'essai est minimale et que l'exposition de la microflore est maximale. Il est donc généralement inutile d'effectuer des essais avec d'autres sols. Toutefois, dans certains cas, par exemple lorsque l'utilisation principale prévue de la substance d'essai concerne des sols particuliers comme les sols forestiers acides, ou dans le cas de substances chimiques chargées électrostatiquement, il peut être nécessaire d'utiliser un sol différent.

1.6.3 **Prélèvement et stockage des échantillons de sol**

1.6.3.1 *Prélèvement*

Il est nécessaire de fournir des informations détaillées sur l'historique du site de prélèvement. Ces détails doivent comprendre la localisation exacte, le couvert végétal, les dates de traitement aux produits phytosanitaires, les traitements aux engrais organiques et inorganiques, les apports biologiques ou les contaminations accidentelles. Le site choisi pour le prélèvement de sol doit être de nature à permettre une utilisation de longue durée. Les pâturages permanents, les champs plantés de céréales annuelles (à l'exception du maïs) ou à ensemencement dense en engrais verts conviennent. Le site de prélèvement retenu ne doit pas avoir été traité avec des produits phytosanitaires pendant un an au moins avant le prélèvement des échantillons. De même, aucun engrais organique ne doit avoir été appliqué pendant au moins six mois. L'utilisation d'engrais minéraux est acceptable uniquement si elle satisfait aux exigences de la culture et aucun échantillon de sol ne doit être prélevé que trois mois au moins après l'application d'engrais. L'utilisation de sol traité avec des engrais ayant des effets biocides connus (comme le cyanamide calcique) doit être évitée.

Il convient d'éviter de prélever des échantillons pendant ou immédiatement après de longues périodes (plus de 30 jours) de sécheresse ou de saturation en eau. En ce qui concerne les sols labourés, les échantillons doivent être prélevés à une profondeur de 0 à 20 cm. En ce qui concerne les herbages (pâture) ou les sols qui ne sont pas labourés pendant de longues périodes (au moins une période végétative), la profondeur maximale du prélèvement peut être légèrement supérieure à 20 cm (25 cm par exemple).

Les échantillons de sol doivent être transportés dans des récipients et dans des conditions de température de nature à garantir que les propriétés initiales du sol ne soient pas altérées de manière significative.

1.6.3.2 *Stockage*

Il est préférable d'utiliser des sols qui viennent d'être extraits du site. S'il n'est pas possible d'éviter le stockage dans le laboratoire, les sols peuvent être entreposés dans le noir à $4\pm 2^\circ\text{C}$ pendant une durée maximale de trois mois. Pendant la durée de stockage des sols, des conditions aérobies doivent être assurées. Si les sols sont prélevés dans une zone où il gèle au moins trois mois par an, il peut être envisagé de stocker le sol pendant six mois entre moins 18°C et moins 22°C . La biomasse microbienne des sols stockés est mesurée avant chaque expérience et le carbone présent dans la biomasse doit être égal à 1% au moins de la teneur totale en carbone organique du sol (voir le paragraphe 1.6.2).

1.6.4 **Manipulation et préparation du sol pour l'essai**

1.6.4.1 *Pré-incubation*

Si le sol a été stocké (voir le paragraphe 1.6.3.2), il est recommandé de procéder à une pré-incubation pendant 2 à 28 jours. La température et la teneur en eau du sol pendant la pré-incubation doivent être les mêmes que celles utilisées pendant l'essai (voir les paragraphes 1.6.4.2 et 1.7.1.3).

1.6.4.2 *Propriétés physico-chimiques*

Le sol est débarrassé manuellement des gros objets (pierres, débris végétaux, etc.) puis tamisé humide sans séchage excessif jusqu'à obtention d'une granulométrie inférieure ou égale à 2 mm. La teneur en eau de l'échantillon de sol doit être ajustée avec de l'eau distillée ou désionisée à une valeur située entre 40% et 60% de la capacité maximale de rétention d'eau.

1.6.4.3 *Amendement à l'aide d'un substrat organique*

Le sol doit être amendé à l'aide d'un substrat organique approprié, comme de la farine de luzerne verte en poudre (composant principal: *Medicago sativa*) avec un rapport C/N situé entre 12/1 et 16/1. Le rapport luzerne-sol recommandé est de 5 g de luzerne par kilogramme de sol (poids sec).

1.6.5 **Préparation de la substance d'essai à appliquer au sol**

La substance d'essai est généralement appliquée à l'aide d'un excipient. L'excipient peut être de l'eau (pour les substances solubles dans l'eau) ou un solide inerte comme du sable de quartz fin (granulométrie: 0,1-0,5mm). Il convient d'éviter les excipients liquides autres que l'eau (solvants organiques tels que l'acétone ou le chloroforme) car ils peuvent endommager la microflore. Si l'on utilise du sable comme excipient, celui-ci peut être traité par la substance d'essai dissoute ou en suspension dans un solvant approprié. Dans ce cas, le solvant doit être éliminé par évaporation avant de mélanger l'excipient avec le sol. Pour obtenir une répartition optimale de la substance d'essai dans le sol, un rapport de 10 g de sable par kilogramme de sol (poids sec) est recommandé. Les échantillons témoins sont traités avec une quantité équivalente d'eau et/ou de sable de quartz uniquement.

Lorsque l'on teste des substances chimiques volatiles, il convient d'éviter dans la mesure du possible les pertes pendant le traitement et il convient d'essayer de veiller à la répartition homogène dans l'échantillon de sol (la substance d'essai doit être injectée dans le sol en plusieurs endroits).

1.6.6 **Concentrations d'essai**

Si l'essai porte sur des produits agrochimiques, il convient d'utiliser au moins deux concentrations. La concentration la plus faible doit correspondre au moins à la quantité maximale susceptible de pénétrer dans le sol dans des conditions réelles alors que la concentration la plus élevée doit être un multiple de la concentration la plus faible. Les concentrations de substance d'essai ajoutées au sol sont calculées en supposant une incorporation uniforme à une profondeur de 5 cm et une densité apparente du sol de 1,5. Dans le cas des produits agrochimiques appliqués directement sur le sol, ou des substances chimiques dont on peut prévoir la quantité qui pénètre dans le sol, les concentrations d'essai recommandées sont égales à la concentration maximale prévisible dans l'environnement (CPE) et cinq fois cette concentration. Les substances qui doivent être appliquées sur le sol plusieurs fois au cours d'une même saison doivent être testées à des concentrations calculées en multipliant la CPE par le nombre maximal d'applications prévu. La concentration la plus élevée testée ne doit toutefois pas dépasser dix fois la dose maximale d'une application. Si l'essai porte sur des produits non agrochimiques, une série géométrique de cinq concentrations au moins est utilisée. Les concentrations testées doivent couvrir la gamme nécessaire pour déterminer les valeurs CE_x .

1.7 EXÉCUTION DE L'ESSAI

1.7.1 Conditions expérimentales

1.7.1.1 *Traitement et contrôle*

Si l'essai porte sur des produits agrochimiques, le sol est divisé en trois fractions de poids égal. Deux fractions sont mélangées à l'excipient contenant le produit, et la troisième avec l'excipient sans produit (témoin). Il est recommandé de préparer un minimum de trois réplicats de sol traité et non traité. Si l'essai porte sur des produits non agrochimiques, le sol est divisé en six fractions de poids égal. Cinq échantillons sont mélangés avec l'excipient contenant la substance d'essai, et le sixième est mélangé avec l'excipient sans la substance chimique. Il est recommandé de préparer trois réplicats de sol traité et de témoins. Il convient de veiller à la répartition homogène de la substance d'essai dans les échantillons de sol traité. Pendant le mélange, il convient d'éviter la compression ou le compactage de l'échantillon de sol.

1.7.1.2 *Incubation des échantillons de sol*

L'incubation des échantillons de sol peut être effectuée de deux façons: sous forme d'échantillons en vrac de sol traité et de sol non traité ou sous forme d'une série de sous-échantillons individuels et de taille identique de chaque sol traité et non traité. Toutefois, lorsque l'essai porte sur des substances volatiles, l'essai doit être effectué uniquement avec une série de sous-échantillons individuels. Lorsque les sols sont incubés en vrac, de grandes quantités de chaque sol traité et non traité sont préparées et les sous-échantillons à analyser sont prélevés en fonction des besoins pendant l'essai. La quantité préparée initialement pour chaque traitement et pour le contrôle dépend de la taille des sous-échantillons, du nombre de réplicats utilisés pour l'analyse et du nombre maximal de temps de prélèvement. Les sols incubés en vrac doivent être soigneusement mélangés avant de procéder au sous-échantillonnage. Lorsque les sols sont incubés sous forme d'échantillons individuels, on divise chaque sol en vrac traité et non traité dans le nombre requis de sous-échantillons, et ceux-ci sont utilisés selon les besoins. Dans les expériences où l'on peut prévoir plus de deux temps de prélèvement, une quantité suffisante de sous-échantillons doit être préparée pour tenir compte de tous les réplicats et de tous les temps de prélèvement. Au moins trois exemplaires d'échantillons du sol d'essai doivent être incubés en milieu aérobie (voir le paragraphe 1.7.1.1). Pendant tous les essais, il convient d'utiliser des récipients appropriés comportant un espace libre suffisant afin d'éviter le développement de conditions anaérobies. Lorsque l'essai porte sur des substances volatiles, il doit être effectué uniquement avec une série de sous-échantillons individuels.

1.7.1.3 *Conditions et durée de l'essai*

L'essai est effectué dans le noir à température ambiante de $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Pendant l'essai, la teneur en eau des échantillons de sol doit être maintenue entre 40% et 60% de la capacité maximale de rétention d'eau du sol (voir le paragraphe 1.6.4.2) avec une marge de $\pm 5\%$. De l'eau distillée, désionisée peut être ajoutée si nécessaire.

La durée minimale de l'essai est de 28 jours. Si l'essai porte sur des produits agrochimiques, on compare les taux de formation de nitrate dans les échantillons traités et dans les échantillons témoins. Si ceux-ci diffèrent de plus de 25% au jour 28, on poursuit l'essai jusqu'à obtenir une différence égale ou inférieure à 25%, ou pendant une durée maximale de 100 jours. En ce qui concerne les produits non agrochimiques, l'essai est arrêté au bout de 28 jours. Au jour 28, les quantités de nitrate dans les échantillons traités et les échantillons témoins sont déterminées et les valeurs CE_x sont calculées.

1.7.2 Prélèvement et analyse des sols

1.7.2.1 *Échelonnement des prélèvements*

Si l'essai porte sur des produits agrochimiques, les échantillons de sol font l'objet d'une analyse de mesure de nitrate aux jours 0, 7, 14 et 28. S'il est nécessaire de prolonger l'essai, de nouvelles mesures doivent être effectuées tous les 14 jours après le jour 28.

Lorsque l'essai porte sur des produits non agrochimiques, au moins cinq concentrations d'essai sont utilisées et les échantillons de sol sont analysés pour mesurer le nitrate au début (jour 0) et à la fin de la période d'exposition (28 jours). Une mesure intermédiaire, par exemple au jour 7, peut être ajoutée si nécessaire. Les données obtenues au jour 28 sont utilisées pour déterminer la valeur CE_x de la substance chimique. Si on le souhaite, on peut utiliser les données des témoins du jour 0 afin de mesurer la quantité initiale de nitrate dans le sol.

1.7.2.2 *Analyse des échantillons de sol*

La quantité de nitrate formé dans chaque échantillon traité et dans chaque témoin est déterminée à chaque temps de prélèvement. Le nitrate est extrait du sol en agitant les échantillons en présence d'un solvant d'extraction, par exemple, une solution de 0,1 M de chlorure de potassium. Un rapport de 5 ml de solution de KCl par gramme d'équivalent poids sec de sol est recommandé. Afin d'optimiser l'extraction, les récipients contenant le sol et la solution d'extraction ne doivent pas être remplis à plus de la moitié de leur contenance. Les mélanges sont agités à 150 tpm pendant 60 minutes. Les mélanges sont centrifugés ou filtrés et les phases liquides sont analysées pour mesurer le nitrate. Les extraits liquides débarrassés de particules peuvent être stockés à moins 20 ± 5 °C pendant une durée pouvant aller jusqu'à six mois avant d'être analysés.

2 **DONNÉES**

2.1 **TRAITEMENT DES RÉSULTATS**

Si l'essai porte sur des produits agrochimiques, la quantité de nitrate formé dans chaque échantillon de sol doit être enregistrée, et les valeurs moyennes de tous les réplicats doivent être présentées sous forme de tableau. Les taux de transformation de l'azote doivent être évalués à l'aide de méthodes statistiques appropriées et généralement reconnues (F-test, seuil de signification de 5%). Les quantités de nitrate formé sont exprimées en mg nitrate/kg poids sec /jour. On compare le taux de formation de nitrate dans chaque échantillon traité avec le taux dans le témoin, et on calcule l'écart en pourcentage par rapport au témoin.

Si l'essai porte sur des produits non agrochimiques, la quantité de nitrate formé dans chaque réplicat est déterminée, et une courbe dose-réponse est établie pour déterminer les valeurs CE_x . Les quantités de nitrate (mg nitrate/kg poids sec de sol) trouvées dans les échantillons traités au bout de 28 jours sont comparées aux quantités observées dans les échantillons témoins. A partir de ces résultats, on calcule le pourcentage de valeurs d'inhibition pour chaque concentration d'essai. Une courbe de pourcentages en fonction de la concentration est établie, et on utilise ensuite une méthode statistique pour calculer les valeurs CE_x . Les seuils de confiance ($p = 0.95$) des CE_x calculées sont également déterminés à l'aide des méthodes standards (10)(11)(12).

Les substances d'essai qui contiennent d'importantes quantités d'azote peuvent être à l'origine des quantités de nitrate qui se forment pendant l'essai. Si ces substances sont testées à une concentration élevée (par exemple, dans le cas des substances chimiques destinées à être utilisées en applications répétées), des contrôles appropriés doivent être prévus dans l'essai (sol plus substance d'essai mais sans farine végétale). Les résultats de ces contrôles doivent être pris en compte dans le calcul des valeurs CE_x .

2.2 **INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS**

Lorsqu'on évalue les résultats d'essais avec des produits agrochimiques, et que la différence de taux de formation de nitrate entre l'échantillon le moins traité (concentration maximale prévisible) et le témoin est égale ou inférieure à 25% quel que soit le temps de prélèvement après le jour 28, le produit peut être considéré comme n'ayant aucune influence à long terme sur la transformation de l'azote dans le sol. Lorsqu'on évalue les résultats d'essais avec des substances chimiques autres que les produits agrochimiques, on utilise les valeurs CE_{50} , CE_{25} et/ou CE_{10} .

3

RAPPORT D'ESSAI

Le rapport d'essai doit comporter les informations suivantes:

Identification complète du sol utilisé à savoir:

- coordonnées géographiques du site (latitude, longitude);
- information sur l'historique du site (couvert végétal, traitement aux produits phytosanitaires, traitement aux engrais, contamination accidentelle, etc.);
- type d'utilisation (sol agricole, forestier, etc.);
- profondeur du prélèvement (cm);
- teneur en sable/limon/argile (% poids sec);
- valeurs du pH (dans l'eau);
- teneur en carbone organique (% poids sec);
- teneur en azote (% poids sec);
- concentration initiale en nitrate (mg nitrate/kg poids sec);
- capacité d'échange cationique (mmol/kg);
- biomasse microbienne en pourcentage du carbone organique total;
- référence des méthodes utilisées pour la détermination de chaque paramètre;
- toutes les informations relatives au prélèvement et au stockage des échantillons de sol;
- détails de la pré-incubation du sol s'il y a lieu.

Substance d'essai:

- nature physique et, s'il y a lieu, propriétés physico-chimiques;
- données d'identification des substances chimiques, s'il y a lieu, comprenant la formule structurale, la pureté (pour les produits phytosanitaires, le pourcentage de produit actif), la teneur en azote.

Substrat:

- source du substrat;
- composition (farine de luzerne, farine de luzerne verte);
- teneur en carbone, azote (% poids sec);
- taille du tamis (mm).

Conditions de l'essai:

- détails de la modification du sol avec un substrat organique;
- nombre de concentrations de la substance d'essai utilisée et, le cas échéant, justification des concentrations sélectionnées;
- procédure d'application de la substance d'essai au sol;
- température d'incubation;
- teneur en eau du sol au début et pendant le déroulement de l'essai;
- méthode d'incubation du sol utilisée (en vrac ou en série de sous-échantillons individuels);
- nombre de réplicats;
- temps de prélèvement;
- méthode utilisée pour l'extraction du nitrate du sol;

Résultats:

- procédure analytique et matériel utilisé pour analyser le nitrate;
- tableaux indiquant les valeurs individuelles et moyennes des mesures du nitrate;
- variation entre réplicats dans les échantillons traités et dans les échantillons témoins;
- explications des corrections apportées aux calculs, le cas échéant;
- la variation en pourcentage des taux de formation de nitrate à chaque temps de prélèvement ou, le cas échéant, la valeur CE_{50} avec une limite de confiance de 95 pour cent, les autres valeurs CE_x (CE_{25} ou CE_{10}) avec des intervalles de confiance, et un graphique de la courbe dose-réponse;
- traitement statistique des résultats;
- toutes informations et observations utiles pour l'interprétation des résultats.

RÉFÉRENCES

- (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: Substrate-induced respiration method.
- (9) ISO 14240-2 (1997). Soil quality - Determination of soil microbial biomass - Part 2: Fumigation-extraction method.
- (10) Litchfield, J.T. and Wilcoxon F. (1949). A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *Jour. Pharmacol. and Exper. Ther.*, 96, 99-113.
- (11) Finney, D.J. (1971). *Probit Analysis*. 3rd ed., Cambridge, London and New-York.
- (12) Finney, D.J. (1978). *Statistical Methods in biological Assay*. Griffin, Weycombe, UK.

C.22. MICRO-ORGANISMES DU SOL: ESSAI DE TRANSFORMATION DU CARBONE

1. METHODE

La présente méthode d'essai reprend l'essai TG 217 (2000) de l'OCDE.

1.1 INTRODUCTION

La présente méthode d'essai décrit une méthode de laboratoire conçue pour étudier les effets à long terme des substances chimiques, après une exposition unique, sur l'activité de transformation du carbone par les micro-organismes du sol. L'essai s'appuie principalement sur les recommandations de l'Organisation européenne et méditerranéenne pour la protection des plantes (1). Toutefois, d'autres lignes directrices, notamment celles du Biologische Bundesanstalt allemand (2), de l'agence de protection de l'environnement des États-Unis (3) et de la SETAC (4), ont également été prises en considération. Lors d'un atelier de l'OCDE sur la sélection des sols et des sédiments, qui s'est tenu à Belgirate, Italie, en 1995 (5), le nombre et le type de sols à utiliser dans le cadre de cet essai ont été définis. Les recommandations relatives au prélèvement, à la manipulation et au stockage des échantillons de sol s'appuient sur des lignes directrices de l'ISO (6) et sur les recommandations de l'atelier de Belgirate.

Pour déterminer et évaluer les caractéristiques toxiques des substances d'essai, il peut être nécessaire de déterminer leurs effets sur l'activité microbienne du sol, par exemple lorsqu'il est nécessaire de disposer de données sur les effets secondaires potentiels des produits phytosanitaires sur la microflore du sol ou bien en cas de risque d'exposition des micro-organismes du sol à des substances chimiques autres que les produits phytosanitaires. L'essai de transformation du carbone est effectué pour déterminer les effets de ces substances chimiques sur la microflore du sol. Si l'essai porte sur des produits agrochimiques (produits phytosanitaires, engrais, produits chimiques sylvicoles), deux essais sont effectués: l'essai de transformation du carbone et l'essai de transformation de l'azote. S'il s'agit d'autres substances que les produits agrochimiques, l'essai de transformation de l'azote suffit. Toutefois, si les valeurs CE_{50} de l'essai de transformation de l'azote relatives à ces substances chimiques correspondent à celles des inhibiteurs de la nitrification (nitrapyrine) commerciaux, un essai de transformation du carbone peut être effectué afin d'obtenir des informations complémentaires.

Les sols sont formés de composés vivants et non vivants qui existent sous forme de mélanges complexes et hétérogènes. Les micro-organismes jouent un rôle important dans la décomposition et la transformation de la matière organique en sol fertile et un grand nombre d'espèces contribuent aux différents aspects de la fertilisation des sols. Toute interférence à long terme avec ces processus biochimiques risque de perturber le cycle des éléments nutritifs et par conséquent d'altérer la fertilité du sol. La transformation du carbone et de l'azote se produit dans tous les sols fertiles. Bien que les colonies microbiennes responsables de ces processus diffèrent d'un sol à un autre, les voies de transformation sont identiques pour l'essentiel.

La méthode d'essai décrite ici est conçue pour détecter les effets nocifs à long terme d'une substance sur le processus de transformation du carbone à la surface aérobie des sols. L'essai est sensible aux changements de taille et d'activité des colonies microbiennes responsables de la transformation du carbone puisqu'il soumet ces colonies à la fois au stress chimique et à la carence en carbone. Un sol sableux pauvre en matière organique est utilisé. Ce sol est traité avec la substance d'essai et il est incubé dans des conditions permettant un métabolisme microbien rapide. Dans ces conditions, les sources de carbone présentes dans le sol sont rapidement épuisées. Cela provoque la carence en carbone qui tue à la fois les cellules microbiennes et qui induit la dormance et/ou la sporulation. Si la durée de l'essai est supérieure à 28 jours, on peut mesurer la somme de ces réactions dans les témoins (sol non traité) en mesurant la perte progressive de biomasse microbienne active métaboliquement (7). Si la biomasse d'un sol carencé en carbone, dans les conditions de l'essai, est affectée par la présence d'une substance chimque, celle-ci peut ne pas retrouver le même niveau que l'échantillon témoin. C'est pourquoi la perturbation provoquée par la substance d'essai à n'importe quel moment de l'essai perdurera souvent jusqu'à la fin de l'essai.

Les essais à partir desquels la présente méthode d'essai a été mise au point étaient conçus principalement pour des substances dont il est possible d'estimer la quantité qui pénètre dans le sol. C'est le cas par exemple des produits phytosanitaires dont la dose d'application dans le champ est connue. Pour les produits agrochimiques, il suffit de pratiquer un essai sur deux doses correspondant au taux d'application prévu ou estimé. Les produits agrochimiques peuvent être testés sous forme de principes actifs (p.a.) ou de produits formulés. Toutefois, l'essai n'est pas limité aux substances chimiques dont les concentrations dans l'environnement peuvent être estimées. En modifiant à la fois la quantité de substance d'essai appliquée au sol, et le mode d'évaluation des données, on peut également utiliser l'essai pour les substances chimiques dont on ne connaît pas la quantité susceptible d'atteindre le sol. C'est pourquoi, dans le cas des produits non-agrochimiques, les effets d'une série de concentrations sur la transformation du carbone sont déterminés. Les résultats de ces essais sont utilisés pour préparer une courbe dose-réponse et calculer les valeurs CE_x , où x est défini comme le pourcentage d'effet.

1.2 DEFINITIONS

Transformation du carbone: dégradation par des micro-organismes de la matière organique en son produit final, le dioxyde de carbone inorganique.

CE_x (concentration produisant $x\%$ d'effet): concentration de la substance d'essai dans le sol qui produit x pour cent d'inhibition de la transformation du carbone en dioxyde de carbone.

CE_{50} (concentration produisant 50% d'effet): concentration de la substance d'essai dans le sol qui produit 50 pour cent d'inhibition de la transformation du carbone en dioxyde de carbone.

1.3 SUBSTANCES DE REFERENCE

Aucune.

1.4 PRINCIPE DE LA METHODE

Le sol tamisé est traité avec la substance d'essai ou laissé non traité (témoin). Si l'essai porte sur des produits agrochimiques, il est recommandé d'utiliser au moins deux concentrations d'essai et celles-ci doivent être choisies en fonction de la concentration maximale prévisible dans le champ. Au bout de 0, 7, 14 et 28 jours d'incubation, les échantillons de sol traité et les échantillons témoins sont mélangés avec du glucose, et les taux de respiration induits par le glucose sont mesurés pendant 12 heures consécutives. Les taux de respiration sont exprimés en dioxyde de carbone dégagé (mg dioxyde de carbone/kg sol sec/h) ou oxygène consommé (mg oxygène/kg sol/h). On compare le taux moyen de respiration dans les échantillons de sol traité avec celui des échantillons témoins et on calcule l'écart en pourcentage entre l'échantillon traité et l'échantillon témoin. Tous les essais ont une durée de 28 jours au moins. Si, au 28^{ème} jour, les différences entre les sols traités et les sols non traités sont égales ou supérieures à 25%, les mesures se poursuivent à intervalles de 14 jours pendant une durée maximale de 100 jours. Si l'essai porte sur des substances chimiques autres que les produits agrochimiques, une série de concentrations de la substance d'essai est ajoutée aux échantillons de sol, et les taux de respiration induits par le glucose (moyenne des quantités de dioxyde de carbone formé ou l'oxygène consommé) sont mesurés au bout de 28 jours. Les résultats des essais effectués avec une série de concentrations sont analysés à l'aide d'un modèle de régression, et les valeurs CE_x sont calculées (CE_{50} , CE_{25} et/ou CE_{10}). Voir définitions.

1.5 VALIDITE DE L'ESSAI

L'évaluation des résultats des essais effectués avec des produits agrochimiques repose sur des différences relativement faibles (valeur moyenne $\pm 25\%$) entre le dioxyde de carbone dégagé ou l'oxygène consommé dans (ou par) les échantillons témoins et les échantillons de sol traité, de sorte qu'une variabilité importante des témoins peut entraîner des résultats erronés. C'est pourquoi la variation entre les témoins doit être inférieure à $\pm 15\%$.

1.6 DESCRIPTION DE LA METHODE

1.6.1 **Appareillage**

Des récipients d'essai en matériau chimiquement inerte sont utilisés. Ces récipients doivent avoir une contenance adaptée à la méthode d'incubation utilisée, c'est-à-dire : incubation en vrac ou avec une série d'échantillons individuels (voir le paragraphe 1.7.1.2). Il convient de veiller à la fois à minimiser l'évaporation et à permettre l'échange gazeux pendant l'essai (les récipients d'essai peuvent par exemple être couverts d'une feuille de polyéthylène perforée). Lorsque l'essai porte sur des substances volatiles, il convient d'utiliser des récipients hermétiques et étanches. La taille de ces récipients doit être telle qu'ils soient remplis environ au quart de leur contenance avec l'échantillon de sol.

Pour déterminer la respiration induite par le glucose, des systèmes d'incubation et des instruments de mesure de la production de dioxyde de carbone ou de la consommation d'oxygène sont nécessaires. On trouve des exemples de ces systèmes et de ces instruments dans la littérature (8) (9) (10) (11).

1.6.2 **Sélection et nombre de sols**

Un seul sol est utilisé. Les caractéristiques recommandées sont les suivantes:

- teneur en sable: supérieure à 50% et inférieure à 75%;
- pH: 5,5 - 7,5;
- teneur en carbone organique: 0,5 – 1,5%;
- la biomasse microbienne doit être mesurée (12)(13) et sa teneur en carbone doit être égale à 1% au moins du carbone organique total du sol.

Dans la plupart des cas, un sol possédant ces caractéristiques correspond aux conditions les plus défavorables, puisque l'adsorption de la substance chimique de l'essai est minimale et que l'exposition de la microflore est maximale. Il est donc généralement inutile d'effectuer des essais avec d'autres sols. Toutefois, dans certains cas, par exemple lorsque l'utilisation principale prévue de la substance d'essai concerne des sols particuliers comme les sols forestiers acides, ou dans le cas de substances chimiques chargées électrostatiquement, il peut être nécessaire d'utiliser un sol différent.

1.6.3 **Prélèvement et stockage des échantillons de sol**

1.6.3.1 *Prélèvement*

Il est nécessaire de fournir des informations détaillées sur l'historique du site de prélèvement. Ces détails doivent comprendre la localisation exacte, le couvert végétal, les dates de traitement avec des produits phytosanitaires, les traitements aux engrais organiques et inorganiques, les apports biologiques ou les contaminations accidentelles. Le site choisi pour le prélèvement de sol doit être de nature à permettre une utilisation de longue durée. Les pâturages permanents, les champs plantés de céréales annuelles (à l'exception du maïs) ou à ensemencement dense en engrais verts conviennent. Le site de prélèvement retenu ne doit pas avoir été traité avec des produits phytosanitaires pendant un an au moins avant les prélèvements. De même, aucun engrais organique ne doit avoir été appliqué pendant au moins six mois. L'utilisation d'engrais minéraux est acceptable uniquement si elle satisfait aux exigences de la culture, et les échantillons de sol ne doivent être prélevés qu'au moins trois mois après l'application d'engrais. L'utilisation de sol traité avec des engrais aux effets biologiques connus (cyanamide calcique) doit être évitée.

Il convient d'éviter de prélever des échantillons pendant ou immédiatement après de longues périodes (plus de 30 jours) de sécheresse ou de saturation en eau. En ce qui concerne les sols labourés, les échantillons doivent être prélevés à une profondeur de 0 à 20 cm. En ce qui concerne les herbages (pâture) ou les sols qui ne sont pas labourés pendant de longues périodes (au moins une période végétative), la profondeur maximale du prélèvement peut être légèrement supérieure à 20 cm (25 cm par exemple). Les échantillons de sol doivent être transportés dans des récipients et dans des conditions de température de nature à garantir que les propriétés initiales du sol ne soient pas altérées de manière significative.

1.6.3.2 *Stockage*

Il est préférable d'utiliser des sols qui viennent d'être extraits du site. S'il n'est pas possible d'éviter le stockage dans le laboratoire, les sols peuvent être entreposés dans le noir à 4 ± 2 °C pendant une durée maximale de trois mois. Pendant la durée de stockage des sols, des conditions aérobies doivent être assurées. Si les sols sont prélevés dans une zone où il gèle au moins trois mois par an, il peut être envisagé de stocker le sol pendant six mois à moins 18 °C. La biomasse microbienne des sols stockés est mesurée avant chaque expérience et le carbone présent dans la biomasse doit être égal à 1% au moins de la teneur totale en carbone organique du sol (voir le paragraphe 1.6.2).

1.6.4 **Manipulation et traitement du sol pour l'essai**

1.6.4.1 *Pré-incubation*

Si le sol a été stocké (voir les paragraphes 1.6.4.2 et 1.7.1.3), il est recommandé de procéder à une pré-incubation pendant 2 à 28 jours. La température et la teneur en eau du sol pendant la pré-incubation doivent être les mêmes que celles utilisées pendant l'essai (voir les paragraphes 1.6.4.2 et 1.7.1.3).

1.6.4.2 *Propriétés physico-chimiques*

Le sol est débarrassé manuellement des gros objets (pierres, débris végétaux, etc.) puis tamisé humide sans séchage excessif jusqu'à obtention d'une granulométrie inférieure ou égale à 2 mm. La teneur en eau de l'échantillon doit être ajustée avec de l'eau distillée ou désionisée à une valeur située entre 40% et 60% de la capacité maximale de rétention d'eau.

1.6.5 **Préparation de la substance d'essai à appliquer au sol**

La substance d'essai est généralement appliquée à l'aide d'un excipient. L'excipient peut être de l'eau (pour les substances solubles dans l'eau) ou un solide inerte comme du sable de quartz fin (granulométrie: 0,1-0,5 mm). Il convient d'éviter les excipients liquides autres que l'eau (solvants organiques tels que l'acétone ou le chloroforme) car ils peuvent endommager la microflore. Si l'on utilise du sable comme excipient, celui-ci peut être traité par la substance d'essai dissoute ou en suspension dans un solvant approprié. Dans ce cas, le solvant doit être éliminé par évaporation avant de mélanger l'excipient avec le sol. Pour obtenir une répartition optimale de la substance d'essai dans le sol, un rapport de 10 g de sable par kilogramme de sol (poids sec) est recommandé. Les échantillons témoins sont traités avec une quantité équivalente d'eau et/ou de sable de quartz uniquement.

Lorsque l'on teste des substances chimiques volatiles, il convient d'éviter dans la mesure du possible les pertes pendant le traitement et il convient d'essayer de veiller à la répartition homogène dans l'échantillon de sol (la substance d'essai doit être injectée dans le sol en plusieurs endroits).

1.6.6 **Concentrations d'essai**

Si l'essai porte sur des produits phytosanitaires ou sur d'autres substances chimiques dont les concentrations dans l'environnement peuvent être estimées, il convient d'utiliser au moins deux concentrations. La concentration la plus faible doit correspondre au moins à la quantité maximale susceptible de pénétrer dans le sol dans des conditions réelles alors que la concentration la plus élevée doit être un multiple de la concentration la plus faible. Les concentrations de substance d'essai ajoutées au sol sont calculées en supposant une incorporation uniforme à une profondeur de 5 cm et une densité apparente du sol de 1,5. Dans le cas des produits agrochimiques appliqués directement sur le sol, ou des substances chimiques dont on peut prévoir la quantité qui pénètre dans le sol, les concentrations d'essai recommandées sont égales à la concentration maximale prévisible dans l'environnement (CPE) et cinq fois cette concentration. Les substances qui doivent être appliquées sur le sol plusieurs fois au cours d'une même saison doivent être testées à des concentrations calculées en multipliant la CPE par le nombre maximal d'applications prévues. La concentration la plus élevée testée ne doit toutefois pas dépasser dix fois la dose maximale d'application unique.

Si l'essai porte sur des produits non agrochimiques, une série géométrique de cinq concentrations au moins est utilisée. Les concentrations testées doivent couvrir la gamme nécessaire pour déterminer les valeurs CE_x .

1.7 EXÉCUTION DE L'ESSAI

1.7.1 Conditions expérimentales

1.7.1.1 *Traitement et contrôle*

Si l'essai porte sur des produits agrochimiques, le sol est divisé en trois fractions de poids égal. Deux fractions sont mélangées avec l'excipient contenant le produit, et la troisième avec l'excipient sans produit (témoin). Il est recommandé de préparer un minimum de trois réplicats de sol traité et non traité. Si l'essai porte sur des produits non agrochimiques, le sol est divisé en six fractions de poids égal. Cinq échantillons sont mélangés avec l'excipient contenant la substance d'essai, et le sixième est mélangé avec l'excipient sans la substance chimique. Il est recommandé de préparer trois réplicats de sol traité et de témoins. Il convient de veiller à la répartition homogène de la substance d'essai dans les échantillons de sol traité. Pendant le mélange, il convient d'éviter la compression ou le compactage du sol.

1.7.1.2 *Incubation des échantillons de sol*

L'incubation des échantillons de sol peut être effectuée de deux façons: sous forme d'échantillons en vrac de sol traité et de sol non traité ou sous forme d'une série de sous-échantillons individuels et de taille identique de chaque sol traité et non traité. Toutefois, lorsque l'essai porte sur des substances volatiles, l'essai doit être effectué uniquement avec une série de sous-échantillons individuels. Lorsque les sols sont incubés en vrac, de grandes quantités de chaque sol traité et non traité sont préparées et les sous-échantillons à analyser sont prélevés en fonction des besoins pendant l'essai. La quantité préparée initialement pour chaque traitement et pour le contrôle dépend de la taille des sous-échantillons, du nombre de réplicats utilisés pour l'analyse et du nombre maximal de temps de prélèvement. Les sols incubés en vrac doivent être soigneusement mélangés avant de procéder au sous-échantillonnage. Lorsque les sols sont incubés sous forme d'échantillons individuels, on divise chaque sol en vrac traité et non traité dans le nombre requis de sous-échantillons, et ceux-ci sont utilisés selon les besoins. Dans les expériences où l'on peut prévoir plus de deux temps de prélèvement, une quantité suffisante de sous-échantillons doit être préparée pour tenir compte de tous les réplicats et de tous les temps de prélèvement. Au moins trois exemplaires de sol d'essai doivent être incubés en milieu aérobie (voir le paragraphe 1.7.1.1). Pendant tous les essais, il convient d'utiliser des récipients appropriés comportant un espace libre suffisant afin d'éviter le développement de conditions anaérobies. Lorsque l'essai porte sur des substances volatiles, il doit être effectué uniquement avec une série de sous-échantillons individuels.

1.7.1.3 *Conditions et durée de l'essai*

L'essai est effectué dans le noir à température ambiante de $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Pendant l'essai, la teneur en eau des échantillons de sol doit être maintenue entre 40% et 60% de la capacité maximale de rétention d'eau du sol (voir le paragraphe 1.6.4.2) avec une marge de $\pm 5\%$. De l'eau distillée, désionisée peut être ajoutée si nécessaire.

La durée minimale de l'essai est de 28 jours. Si l'essai porte sur des produits agrochimiques, on compare les quantités de dioxyde de carbone dégagé ou d'oxygène consommé dans les échantillons traités et dans les échantillons témoins. Si celles-ci diffèrent de plus de 25% au jour 28, on poursuit l'essai jusqu'à obtenir une différence égale ou inférieure à 25%, ou pendant une durée maximale de 100 jours, si celle-ci est la plus courte. Si l'essai porte sur des produits non agrochimiques, l'essai est arrêté au bout de 28 jours. Au jour 28, les quantités de dioxyde de carbone dégagé ou d'oxygène consommé dans les échantillons traités et les échantillons témoins sont déterminées et les valeurs CE_x sont calculées.

1.7.2 Prélèvement et analyse des sols

1.7.2.1 *Échelonnement des prélèvements*

Si l'essai porte sur des produits agrochimiques, les échantillons de sol font l'objet d'une analyse de mesure des taux de respiration induits par le glucose aux jours 0, 7, 14 et 28. S'il est nécessaire de prolonger l'essai, de nouvelles mesures doivent être effectuées tous les 14 jours après le jour 28.

Lorsque l'essai porte sur des produits non agrochimiques, au moins cinq concentrations d'essai sont utilisées et les échantillons de sol sont analysés pour mesurer la respiration induite par le glucose au début (jour 0) et à la fin de la période d'exposition (28 jours). Une mesure intermédiaire, par exemple au jour 7, peut être ajoutée si nécessaire. Les données obtenues au jour 28 sont utilisées pour déterminer la valeur CE_x de la substance chimique. Si on le souhaite, on peut utiliser les données des témoins du jour 0 afin d'estimer les quantités initiales de biomasse microbienne métaboliquement active dans le sol (12).

1.7.2.2 *Mesure des taux de respiration induits par le glucose*

Le taux de respiration induit par le glucose est déterminé dans chaque échantillon de sol traité et dans chaque témoin à chaque temps de prélèvement. Les échantillons de sol sont mélangés avec une quantité de glucose suffisante pour entraîner une réaction respiratoire maximale immédiate. La quantité de glucose nécessaire pour provoquer une réaction respiratoire maximale dans un sol donné peut être déterminée dans un essai préliminaire à l'aide d'une série de concentrations de glucose (14). Toutefois, dans le cas des sols sableux contenant 0,5-1,5% de carbone organique, 2000 mg à 4000 mg de glucose par kg de poids sec sont généralement suffisants. Le glucose peut être réduit en poudre avec du sable de quartz propre (10 g sable/kg poids sec) et mélangé de façon homogène avec le sol.

Les échantillons de sol amendés avec le glucose sont incubés dans un appareil adapté pour mesurer les taux de respiration en continu, toutes les heures, ou toutes les deux heures (voir section 1.6.1) à 20 ± 2 °C. Le dioxyde de carbone dégagé ou l'oxygène consommé est mesuré pendant 12 heures consécutives et les mesures doivent commencer le plus rapidement possible, c'est-à-dire 1 à 2 heures après l'adjonction de glucose. On mesure la quantité totale de dioxyde de carbone dégagé ou d'oxygène consommé pendant les 12 heures et on détermine le taux moyen de respiration.

2 **DONNÉES**

2.1 **TRAITEMENT DES RÉSULTATS**

Si l'essai porte sur des produits agrochimiques, le dioxyde de carbone dégagé ou l'oxygène consommé par chaque réplicat doit être enregistré, et les valeurs moyennes de tous les réplicats doivent être présentées sous forme de tableau. Les résultats doivent être évalués à l'aide de méthodes statistiques appropriées et généralement reconnues (F-test, seuil de signification de 5%). Les taux de respiration induits par le glucose sont exprimés en mg de dioxyde de carbone/kg poids sec/h ou mg oxygène/poids sec/h. Le taux moyen de formation de dioxyde de carbone ou le taux moyen de consommation d'oxygène de chaque échantillon traité est comparé à celui du témoin, et l'écart en pourcentage par rapport au témoin est calculé.

Si l'essai porte sur des produits non agrochimiques, les quantités de dioxyde de carbone dégagé ou d'oxygène consommé dans chaque réplicat sont déterminées, et une courbe dose-réponse est établie pour déterminer les valeurs CE_x . Les taux de respiration induits par le glucose (mg de dioxyde de carbone/kg poids sec/h ou mg oxygène/poids sec/h) observés dans les échantillons traités au bout de 28 jours sont comparés à ceux des échantillons témoins. A partir de ces résultats, on calcule le pourcentage des valeurs d'inhibition pour chaque concentration d'essai. Une courbe de pourcentages en fonction de la concentration est établie, et on utilise ensuite une méthode statistique pour calculer les valeurs CE_x . Les seuils de confiance ($p = 0.95$) des CE_x calculées sont également déterminés à l'aide des méthodes standards (15)(16)(17).

2.2 **INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS**

Lorsqu'on évalue les résultats d'essais avec des produits agrochimiques, et que la différence de taux de respiration entre l'échantillon le moins traité (concentration maximale prévisible) et l'échantillon témoin est égale ou inférieure à 25% quel que soit le temps de prélèvement après le jour 28, le produit peut être considéré comme n'ayant aucune influence à long terme sur la transformation du carbone dans le sol. Lorsqu'on évalue les résultats d'essais avec des substances chimiques autres que les produits agrochimiques, on utilise les valeurs CE_{50} , CE_{25} et/ou CE_{10} .

3

RAPPORT D'ESSAI**RAPPORT DE L'ESSAI**

Le rapport de l'essai doit comporter les informations suivantes:

Identification complète du sol utilisé, à savoir:

- coordonnées géographiques du site (latitude, longitude);
- information sur l'historique du site (couvert végétal, traitement aux produits phytosanitaires, traitement aux engrais, contamination accidentelle, etc.)
- type d'utilisation (sol agricole, forestier, etc.);
- profondeur du prélèvement (cm);
- teneur en sable/limon/argile (% poids sec);
- pH (dans l'eau);
- teneur en carbone organique (% poids sec);
- teneur en azote (% poids sec);
- capacité d'échange cationique (mmol/kg);
- biomasse microbienne initiale en pourcentage du carbone organique total;
- référence des méthodes utilisées pour la détermination de chaque paramètre;
- toutes les informations relatives au prélèvement et au stockage des échantillons de sol;
- détails de la pré-incubation du sol s'il y a lieu.

Substance d'essai:

- nature physique et, s'il y a lieu, propriétés physico-chimiques;
- données d'identification des substances chimiques, s'il y a lieu, notamment la formule structurale, la pureté (pour les produits phytosanitaires, le pourcentage de produit actif), la teneur en azote.

Conditions de l'essai:

- détails de la modification du sol avec un substrat organique;
- nombre de concentrations de la substance d'essai utilisée et, le cas échéant, justification des concentrations sélectionnées;
- procédure d'application de la substance d'essai au sol;
- température d'incubation;
- teneur en eau du sol au début et pendant le déroulement de l'essai;
- méthode d'incubation du sol utilisée (en vrac ou en série de sous-échantillons individuels);
- nombre de réplicats;
- temps de prélèvement.

Résultats:

- méthode et matériel utilisés pour mesurer les taux de respiration;
- tableaux indiquant les valeurs individuelles et les valeurs moyennes des quantités de dioxyde de carbone ou d'oxygène;
- variation entre réplicats dans les échantillons traités et dans les échantillons témoins ;
- explications des corrections apportées aux calculs, s'il y a lieu;
- la variation en pourcentage des taux de respiration induits par le glucose à chaque temps de prélèvement ou, le cas échéant, la valeur CE_{50} avec une limite de confiance de 95 pour cent, les autres valeurs CE_x (CE_{25} ou CE_{10}) avec des intervalles de confiance, et un graphique de la courbe dose-réponse;
- traitement statistique des résultats, s'il y a lieu;
- toutes informations et observations utiles pour l'interprétation des résultats.

RÉFÉRENCES

- (1) EPPO (1994). Decision-Making Scheme for the Environmental Risk Assessment of Plant Protection Chemicals. Chapter 7: Soil Microflora. EPPO Bulletin 24: 1-16, 1994.
- (2) BBA (1990). Effects on the Activity of the Soil Microflora. BBA Guidelines for the Official Testing of Plant Protection Products, VI, 1-1 (2nd eds., 1990).
- (3) EPA (1987). Soil Microbial Community Toxicity Test. EPA 40 CFR Part 797.3700. Toxic Substances Control Act Test Guidelines; Proposed rule. September 28, 1987.
- (4) SETAC-Europe (1995). Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides, Ed. M.R. Lynch, Pub. SETAC-Europe, Brussels.
- (5) OECD (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/Sediments, Belgirate, Italy, 18-20 January 1995.
- (6) ISO 10381-6 (1993). Soil quality - Sampling. Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in the laboratory.
- (7) Anderson, J.P.E. (1987). Handling and Storage of Soils for Pesticide Experiments, in "Pesticide Effects on Soil Microflora", Eds. L. Somerville and M.P. Greaves, Chap. 3: 45-60.
- (8) Anderson, J.P.E. (1982). Soil Respiration, in "Methods of Soil Analysis - Part 2: Chemical and Microbiological Properties". Agronomy Monograph N° 9. Eds. A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney. 41: 831- 871.
- (9) ISO 11266-1. (1993). Soil Quality - Guidance on Laboratory Tests for Biodegradation in Soil: Part 1. Aerobic Conditions.
- (10) ISO 14239 (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. TRANSFORMATION AEROBIE ET ANAEROBIE DANS LE SOL

1. METHODE

La présente méthode d'essai reprend la méthode TG 307 (2002) de l'OCDE

1.1 INTRODUCTION

La présente méthode d'essai s'appuie sur les lignes directrices existantes (1)(2)(3)(4)(5)(6)(7)(8)(9). La méthode décrite ici est conçue pour mesurer la transformation aérobie et anaérobie des substances chimiques dans le sol. Les expériences ont pour but de déterminer (i) le taux de transformation de la substance d'essai, et (ii) la nature des produits de transformation auxquels les végétaux et les organismes du sol peuvent être exposés, ainsi que les taux de formation et de déplétion de ces produits. Ces études sont nécessaires pour les substances chimiques qui sont appliquées directement sur le sol ou qui sont susceptibles d'atteindre l'environnement du sol. Les résultats de ces études de laboratoire peuvent également être utilisés pour mettre au point des protocoles d'échantillonnage et d'analyse destinés à des études dans des domaines voisins.

Il est généralement suffisant d'effectuer des études aérobies et anaérobies avec un seul type de sol pour déterminer les voies de transformation (8)(10)(11). Les taux de transformation doivent être déterminés dans trois autres sols au moins (8)(10).

Un atelier de l'OCDE sur la sélection des sols et des sédiments, organisé à Belgirate, en Italie en 1995 (10) a défini, notamment, le nombre et le type de sols à utiliser dans le cadre de cet essai. Les types de sol testés doivent être représentatifs des conditions environnementales d'utilisation ou de rejet prévus. Par exemple, les substances chimiques devant être appliquées sous des climats subtropicaux ou tropicaux doivent être testées avec des Ferrasols ou des Nitosols (système FAO). Cet atelier a également formulé des recommandations relatives au prélèvement, à la manipulation et au stockage des échantillons de sol, sur la base des lignes directrices de l'ISO (15). L'utilisation de sols de rizières est également étudiée dans le cadre de cette méthode.

1.2 DEFINITIONS

Substance d'essai: toute substance, qu'il s'agisse de la substance mère ou des produits de transformation correspondants.

Produits de transformation: toute substance résultant de réactions de transformations biotiques ou abiotiques de la substance d'essai et en particulier le CO₂ et les produits qui se trouvent dans les résidus liés.

Résidus liés: les "résidus liés" désignent des composés du sol, végétaux ou animaux, qui subsistent dans la matrice après extraction, sous forme de la substance mère ou de ses métabolite(s)/produits de transformation. La méthode d'extraction ne doit pas modifier de manière substantielle les composés eux-mêmes ni la structure de la matrice. La nature de la liaison peut être clarifiée en partie par des méthodes d'extraction qui modifient la matrice et par des techniques analytiques complexes. C'est de cette façon que l'on a déterminé jusqu'ici la nature de la liaison, covalente, ionique et de la liaison par sorption ou piégeage. De manière générale, la formation de résidus liés abaisse sensiblement la bioaccessibilité et la biodisponibilité (12) [modifié d'après l'UICPA 1984 (13)].

Transformation aérobie: réaction se produisant en présence d'oxygène moléculaire (14).

Transformation anaérobie: réaction se produisant en l'absence d'oxygène moléculaire (14).

Sol: mélange de constituants chimiques minéraux et organiques, ces derniers contenant des composés à haute teneur en carbone et en azote, et à poids moléculaire élevé, contenant de petits (principalement micro) organismes. Le sol peut être manipulés sous deux formes:

- (a) non brassé, tel qu'il s'est formé au cours du temps, en couches caractéristiques d'un grand nombre de types de sol;
- (b) brassé, tel qu'on le trouve habituellement dans les terres arables ou qu'il est recueilli en creusant et tel qu'il est utilisé dans la présente méthode d'essai (14).

Minéralisation: dégradation complète d'un composé organique en CO₂ et H₂O dans des conditions aérobies, et en CH₄, CO₂ et H₂O dans des conditions anaérobies. Dans le cadre de la présente méthode d'essai, lorsqu'on utilise un composé marqué au ¹⁴C, la minéralisation désigne la dégradation importante au cours de laquelle un atome de carbone marqué est oxydé quantitativement avec dégagement de la quantité correspondante de ¹⁴CO₂ (14).

Demi-vie: t_{0,5}, temps nécessaire à la transformation de 50% d'une substance d'essai lorsque la transformation peut être décrite par une cinétique du premier ordre; la demi-vie est indépendante de la concentration.

DT₅₀ (temps de dégradation 50): période au cours de laquelle la concentration de la substance d'essai diminue de 50%; elle est différente de la demi-vie t_{0,5} lorsque la transformation ne suit pas une cinétique du premier ordre.

DT₇₅ (temps de dégradation 75): période au cours de laquelle la concentration de la substance d'essai diminue de 75%.

DT₉₀ (temps de dégradation 90): période au cours de laquelle la concentration de la substance d'essai diminue de 90%.

1.3 SUBSTANCES DE RÉFÉRENCE

Des substances de référence doivent être utilisées pour caractériser et/ou identifier les produits de transformation par des méthodes spectroscopiques et chromatographiques.

1.4 APPLICABILITÉ DE L'ESSAI

La méthode s'applique à toutes les substances chimiques (non marquées ou radiomarquées) pour lesquelles il existe une méthode analytique présentant une précision et une sensibilité suffisantes. Elle peut être appliquée aux composés légèrement volatils, non-volatils, solubles ou insolubles dans l'eau. L'essai ne doit pas être appliqué aux substances chimiques fortement volatiles à partir du sol (fumigants, solvants organiques) et qui ne peuvent donc pas être maintenues dans le sol dans les conditions expérimentales de cet essai.

1.5 INFORMATIONS RELATIVES À LA SUBSTANCE D'ESSAI

Une substance d'essai marquée ou non marquée peut être utilisée pour mesurer le taux de transformation. Il est nécessaire d'utiliser du matériel marqué pour étudier les voies de transformation et établir un bilan massique. Le marquage au ¹⁴C est recommandé mais l'utilisation d'autres isotopes, comme ¹³C, ¹⁵N, ³H, ³²P, peut aussi être utile. Dans la mesure du possible, le marquage doit être situé dans la(les) partie(s) la(les) plus stable(s) de la molécule¹. La pureté de la substance d'essai doit être d'au moins 95 %.

Avant de procéder à un essai sur la transformation aérobie et anaérobie dans le sol, il convient de disposer des informations suivantes sur la substance d'essai:

- (a) solubilité dans l'eau (Méthode A.6)
- (b) solubilité dans les solvants organiques;
- (c) pression de vapeur (Méthode A.4) et constante de la loi de Henry;
- (d) coefficient de partage n-octanol/eau (Méthode A.8);
- (e) stabilité chimique dans le noir (hydrolyse) (Méthode C.7);
- (f) coefficient pK_a si une molécule est susceptible de subir une protonation ou une déprotonation [Ligne directrice 112 de l'OCDE] (16).

Il peut également être utile de disposer d'informations relatives à la toxicité de la substance d'essai sur les micro-organismes du sol [Méthodes d'essai C.21 et C.22] (16).

Il faut disposer des méthodes analytiques (dont des méthodes d'extraction et de purification) nécessaires à la quantification et à l'identification de la substance d'essai et de ses produits de transformation.

¹ Par exemple, si la substance d'essai contient un cycle, il est nécessaire de marquer ce cycle; si la substance d'essai contient deux cycles ou plus, il peut être nécessaire d'effectuer des études distinctes pour évaluer le devenir de chaque cycle marqué et obtenir des informations fiables sur la formation de produits de transformation.

1.6 PRINCIPE DE LA METHODE

Les échantillons de sol sont traités avec la substance d'essai et incubés dans le noir dans des flacons de type biomètres ou dans des systèmes à circulation continue dans des conditions de laboratoire contrôlées (à température et humidité constantes). Après un intervalle de temps approprié, les échantillons de sol sont extraits et analysés pour mesurer la substance mère et les produits de transformation. Les produits volatils sont aussi collectés pour analyse au moyen de dispositifs d'absorption appropriés. A l'aide de produit marqué au ^{14}C , il est possible de mesurer les différents taux de minéralisation de la substance d'essai en piégeant le $^{14}\text{CO}_2$ dégagé et un bilan massique, notamment la formation de résidus liés au sol, peut être établi.

1.7 CRITÈRES DE QUALITÉ

1.7.1 Récupération

L'extraction et l'analyse, en double exemplaire au moins, des échantillons de sol immédiatement après l'addition de la substance d'essai donnent une première indication de la reproductibilité de la méthode analytique et de l'uniformité de la procédure d'application de la substance d'essai. Les taux de récupération concernant les étapes ultérieures des expériences sont fournis par les bilans massiques respectifs. Ces taux de récupération doivent osciller entre 90% et 110% pour les substances chimiques marquées (8) et entre 70% et 110% pour les substances chimiques non marquées (3).

1.7.2 Reproductibilité et sensibilité de la méthode analytique

La reproductibilité de la méthode analytique (à l'exception du rendement d'extraction initial) servant à quantifier la substance d'essai et les produits de transformation peut être contrôlée en effectuant en double les analyses du même extrait de sol, incubé suffisamment longtemps pour permettre la formation de produits de transformation.

Le seuil de détection de la méthode d'analyse de la substance d'essai et des produits de transformation doit être au moins égal à $0,01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de sol (substance d'essai) ou 1% de la dose appliquée si celle-ci est inférieure. Le seuil de quantification doit également être spécifié.

1.7.3 Précision des données de transformation

L'analyse de régression des concentrations de la substance d'essai en fonction du temps permet d'obtenir les informations sur la précision de la courbe de transformation et de calculer les limites de confiance des demi-vies (en cas de cinétique du pseudo premier ordre) ou des valeurs DT_{50} et, le cas échéant, des valeurs DT_{75} et DT_{90} .

1.8 DESCRIPTION DE LA METHODE

1.8.1 Appareils et réactifs chimiques

Les incubateurs sont composés de circuits fermés statiques ou de systèmes à circulation continue adaptés (7)(17). Les figures 1 et 2, respectivement, présentent des exemples d'incubateur à circulation continue et de flacons de type biomètre. Les deux types d'incubateur présentent des avantages et des inconvénients (7)(17).

Matériel courant de laboratoire, notamment:

- Instruments d'analyse: chromatographie gaz-liquide, chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), chromatographie en couche mince, y compris les systèmes de détection appropriés pour analyser les substances radiomarquées ou non-marquées ou la méthode de dilution isotopique inverse;
- Instruments destinés à l'identification (spectromètre de masse, chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS, HPLC-MS, RMN, etc.);
- Compteur à scintillation liquide;
- Appareillage d'oxydation pour la combustion des produits radioactifs ;
- Centrifugeuse;
- Appareil d'extraction (par exemple, tubes de centrifugation pour extraction à froid et appareil pour extraction en continu sous reflux de type soxhlet);

- Instrumentation pour concentrer les solutions et les extraits (évaporateur rotatif);
- Bain-marie;
- Mélangeurs mécaniques (pétrin, mélangeur rotatif).

Les réactifs chimiques utilisés sont, par exemple:

- NaOH, de pureté analytique, $2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, ou une autre base appropriée (par exemple, KOH, éthanolamine);
- H_2SO_4 , de pureté analytique, $0,05 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$;
- Éthylène glycol, de pureté analytique;
- Matériaux d'absorption solide tels que chaux sodée et tampons de polyuréthane;
- Solvants organiques, de pureté analytique, tels qu'acétone, méthanol, etc.;
- Liquide de scintillation.

1.8.2 Application de la substance d'essai

Pour l'incorporer et la répartir dans le sol, on peut dissoudre la substance d'essai dans l'eau (désionisée ou distillée) ou, si nécessaire, dans une quantité minimale d'acétone ou d'autres solvants organiques (6) dans lesquels la substance d'essai est suffisamment soluble et stable. Toutefois, la quantité de solvant sélectionnée ne doit pas avoir une influence significative sur l'activité microbienne du sol (voir les paragraphes 1.5 et 1.9.2-1.9.3). Il convient d'éviter d'utiliser des solvants qui inhibent l'activité microbienne, comme le chloroforme, le dichlorométhane et autres solvants halogénés.

La substance d'essai peut également être ajoutée sous forme solide, mélangée avec du sable de quartz (6) ou dans un petit sous-échantillon de sol séché à l'air et stérilisé. Si la substance d'essai est ajoutée à l'aide d'un solvant, le solvant doit pouvoir s'évaporer avant que le sous-échantillon chargé soit ajouté à l'échantillon original de sol non-stérile.

Pour les substances chimiques courantes, dont la principale voie de pénétration dans le sol passe par les boues d'épuration ou le traitement agricole, il convient de commencer par ajouter la substance d'essai dans la boue avant de l'introduire dans l'échantillon de sol. (voir les paragraphes 1.9.2 et 1.9.3)

Il n'est pas recommandé d'utiliser systématiquement des produits formulés. Toutefois, pour les substances peu solubles, l'utilisation de produit formulé peut être une solution appropriée.

1.8.3 Sols

1.8.3.1 Sélection du sol

Pour déterminer la voie de transformation, on peut utiliser un sol représentatif; un limon sableux, un limon fin, un limon ou un sable limoneux [selon la classification de la FAO et de l'USDA (18)] avec un pH de 5,5-8,0, une teneur en carbone organique de 0,5-2,5% et une biomasse microbienne d'au moins 1% de carbone organique total est recommandée (10).

Pour les études des taux de transformation, il convient d'utiliser au moins trois sols supplémentaires représentatifs de la gamme de sols concernés. La teneur en carbone organique, le pH, la teneur en argile et la biomasse microbienne des sols doivent varier (10).

Pour tous les sols, il convient d'établir au moins les caractéristiques suivantes: texture (% sable, % limon, % argile) [selon la classification de la FAO et de l'USDA (18)], pH, capacité d'échange cationique, carbone organique, densité apparente, caractéristiques de rétention d'eau² et biomasse microbienne (pour les études aérobies uniquement). Des informations complémentaires sur les propriétés du sol peuvent être utiles pour interpréter les résultats. Les méthodes recommandées dans les références (19)(20)(21)(22)(23) peuvent être utilisées pour déterminer les caractéristiques du sol. La biomasse microbienne doit être déterminée à l'aide de la méthode de respiration induite par le substrat (SIR) (25)(26) ou d'autres méthodes (20).

² La caractéristique de rétention d'eau d'un sol peut être mesurée comme capacité au champ, capacité de rétention d'eau ou comme potentiel de succion (pF). Pour les explications, voir l'Annexe 1. Il convient d'indiquer dans le rapport d'essai si les caractéristiques de rétention d'eau et la densité apparente des sols ont été déterminées sur des échantillons de sol non brassé ou avec des échantillons brassés (transformés).

1.8.3.2 *Prélèvement, manipulation et stockage des sols*

Il est nécessaire de fournir des informations détaillées sur l'historique du site de prélèvement, qui englobent la localisation, le couvert végétal, les traitements aux substances chimiques, les traitements aux engrais organiques et inorganiques, les apports biologiques ou d'autres contaminations. Si les sols ont été traités avec la substance d'essai ou ses analogues structuraux au cours des quatre années précédentes, ils ne doivent pas être utilisés pour les études de transformation (10)(15).

Le sol doit être fraîchement extrait du site (de l'horizon A ou de la couche supérieure de 20 cm) avec une teneur en eau facilitant le tamisage. Pour les sols autres que les sols de rizières, il faut éviter de prélever les échantillons pendant ou immédiatement après de longues périodes (> 30 jours) de sécheresse, de gel ou d'inondations (14). Les échantillons doivent être transportés de façon à minimiser les modifications de la teneur en eau du sol et conservés dans le noir avec libre circulation d'air, dans la mesure du possible. Un sac en polyéthylène à fermeture non étanche est généralement indiqué à cet effet.

Le sol doit être traité le plus rapidement possible après le prélèvement. Il convient de retirer les gros débris végétaux, animaux et les pierres avant de passer le sol à travers un tamis de 2 mm pour retirer les petits débris de pierres, et les débris animaux et végétaux. Il convient d'éviter de sécher et de broyer le sol de manière importante avant de le tamiser (15).

Lorsqu'il est difficile de prélever des échantillons en hiver (sol gelé ou recouvert d'une couche de neige), ceux-ci peuvent être prélevés sur un lot de sol stocké dans une serre sous couvert végétal (herbe ou mélange d'herbe et de trèfle). Il est nettement préférable d'effectuer des études avec des sols qui viennent d'être extraits du site, mais si le sol prélevé et traité doit être stocké avant le début de l'étude, les conditions de stockage doivent être appropriées et leur durée doit être limitée ($4 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant une durée maximale de trois mois) afin de préserver l'activité microbienne³. On trouvera des instructions détaillées sur le prélèvement, la manipulation et le stockage des sols à utiliser pour les expériences de biotransformation sous les références (8)(10)(15)(26)(27).

Avant son utilisation dans le cadre du présent essai, le sol traité doit être préincubé afin de permettre la germination et l'élimination des semences, et de rétablir l'équilibre du métabolisme microbien après le passage des conditions de prélèvement ou de stockage aux conditions d'incubation. Une période de pré-incubation de 2 à 28 jours approchant les conditions de température et d'humidité de l'essai réel est généralement indiquée (15). La durée du stockage et de la préincubation ne doit pas dépasser trois mois au total.

1.9 EXÉCUTION DE L'ESSAI

1.9.1 **Conditions de l'essai**

1.9.1.1 *Température de l'essai*

Au cours de toute la période d'essai, les sols doivent être incubés dans le noir, à température constante, respectant les conditions climatiques dans lesquelles l'utilisation ou le rejet interviendra. Une température de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ est recommandée pour toutes les substances d'essai susceptibles d'entrer en contact avec le sol dans les climats tempérés. La température doit être enregistrée.

Pour les substances chimiques appliquées ou libérées dans les climats froids (par exemple dans les pays nordiques, pendant l'automne/hiver), des échantillons de sol supplémentaires doivent également être incubés mais à une température plus basse (par exemple à $10 \pm 2^\circ\text{C}$).

³ Des résultats récents indiquent que les sols des zones tempérées peuvent également être stockés à -20°C pendant plus de trois mois (28)(29) sans perte significative de l'activité microbienne.

1.9.1.2 *Teneur en humidité*

Pour les essais de transformation en milieu aérobie, la teneur en humidité du sol⁴ doit être ajustée et maintenue à une pF située entre 2,0 et 2,5 (3). La teneur en humidité du sol est exprimée en masse d'eau par masse de sol sec et elle doit être contrôlée régulièrement (toutes les 2 semaines par exemple) en pesant les flacons d'incubation et les pertes en eau doivent être compensées par l'adjonction d'eau (de préférence de l'eau du robinet stérilisée par filtration). Il convient de veiller à éviter ou à réduire les pertes de substance d'essai et/ou des produits de transformation par évaporation et/ou photodégradation (le cas échéant) pendant l'ajout d'eau.

Pour les essais de transformation dans des conditions anaérobies et de rizière, le sol est saturé en eau par submersion.

1.9.1.3 *Conditions d'incubation aérobies*

Dans les systèmes à circulation continue, les conditions aérobies sont maintenues par lessivage périodique ou par aération continue avec de l'air humidifié. Dans les flacons de type biomètre, l'échange d'air est maintenu par diffusion.

1.9.1.4 *Conditions aérobies stériles*

Pour obtenir des informations sur l'importance de la transformation abiotique d'une substance d'essai, les échantillons de sol peuvent être stérilisés (pour les méthodes de stérilisation, voir les références 16 et 29), traités avec une substance d'essai stérile (par exemple, l'addition de solution à travers un filtre stérile) et aérés avec de l'air stérile humidifié comme décrit au paragraphe 1.9.1.3. Pour les sols de rizière, le sol et l'eau doivent être stérilisés et l'incubation doit être effectuée comme décrit au paragraphe 1.9.1.6.

1.9.1.5 *Conditions d'incubation anaérobies*

Afin de créer et de maintenir des conditions anaérobies, le sol traité avec la substance d'essai et incubé dans des conditions aérobies pendant 30 jours ou une demi-vie ou DT_{50} (si celle-ci est plus courte) est ensuite recouvert d'eau (couche de 1-3 cm d'eau) et le système d'incubation est balayé avec un gaz inerte (azote ou argon)⁵. Le système d'essai doit permettre de mesurer le pH, la concentration en oxygène et le potentiel redox et comprendre des dispositifs de piégeage des produits volatils. Le système de type biomètre doit être fermé pour éviter toute entrée d'air par diffusion.

1.9.1.6 *Conditions d'incubation dans les sols de rizière*

Pour étudier la transformation dans les sols de rizière, le sol est recouvert d'une couche d'eau de 1-5 cm environ et la substance d'essai appliquée à la phase aqueuse (9). Une profondeur de couche de sol de 5 cm au moins est recommandée. Le système est ventilé avec de l'air comme en situation aérobie. Le pH, la concentration en oxygène et le potentiel redox de la couche aqueuse doivent être surveillés et enregistrés. Une période de pré-incubation de deux semaines au moins est nécessaire avant de commencer les études de transformation (voir le paragraphe 1.8.3.2).

⁴ Le sol ne doit jamais être trop humide ni trop sec afin de maintenir des conditions adéquates d'aération et de nutrition de la microflore du sol. Les teneurs en eau recommandées pour une croissance microbienne optimale vont de 40 à 60% de capacité de rétention d'eau (WHC) et de 0,1 à 0,33 bar (6). Cette fourchette est équivalente à un intervalle de pF de 2,0 – 2,5. L'Annexe 2 présente la teneur habituelle en eau de plusieurs types de sol.

⁵ Les conditions aérobies sont prédominantes dans les sols de surface et même dans les sols sub-surface comme le montre un projet de recherche financé par l'UE [K. Takagi et al. (1992). Microbial diversity and activity in subsoils: Methods, field site, seasonal variation in subsoil temperatures and oxygen contents. Proc. Internat. Symp. Environm. Aspects Pesticides Microbiol., 270-277, 17-21 août 1992, Sigtuna, Suède]. Les conditions anaérobies peuvent ne se produire qu'occasionnellement sur des sols inondés après d'importantes chutes de pluie ou sur des sols de rizières submergées.

1.9.1.7 *Durée de l'essai*

En règle générale, les études des taux et des voies de transformation ne doivent pas dépasser 120 jours⁶ (3)(6)(8), parce qu'au-delà, dans un système artificiel en laboratoire qui ne peut se reconstituer naturellement, on peut attendre une diminution de l'activité microbienne du sol avec le temps. S'il est nécessaire de caractériser la déplétion de la substance d'essai et la formation et la déplétion des principaux produits de transformation, les études peuvent être poursuivies pendant une période plus longue (de 6 à 12 mois) (8). Des périodes d'incubation plus longues doivent être justifiées dans le rapport d'essai et accompagnées de mesures de la biomasse pendant et à la fin de ces périodes.

1.9.2 **Exécution de l'essai**

On place 50 à 200 g de sol environ (sur la base du poids sec) dans chaque flacon d'incubation (voir les figures 1 et 2 à l'annexe 3) et on traite le sol avec la substance d'essai en utilisant l'une des méthodes décrites au paragraphe 1.8.2. Si l'on utilise des solvants organiques pour appliquer la substance d'essai, il convient de les éliminer du sol par évaporation. Puis, le sol est soigneusement mélangé à l'aide d'une spatule et/ou en agitant le flacon. Si l'étude est menée dans des conditions de sol de rizière, le sol et l'eau doivent être soigneusement mélangés après l'application de la substance d'essai. De petits aliquots (1 g par exemple) des sols traités doivent être analysés pour mesurer la substance d'essai afin de vérifier l'uniformité de la répartition. D'autres méthodes sont décrites ci-dessous.

Le taux de traitement doit correspondre à la dose d'application la plus élevée d'un produit phytosanitaire recommandée dans les instructions d'utilisation et à l'incorporation uniforme à une profondeur appropriée dans le champ (couche supérieure du sol sur 10 cm⁷). Par exemple, pour les substances chimiques appliquées sur le feuillage ou sans enfouissement dans le sol, la profondeur appropriée pour calculer la quantité de substance chimie à ajouter à chaque flacon est de 2,5 cm. Pour les substances chimiques enfouies dans le sol, la profondeur appropriée est la profondeur d'enfouissement spécifiée dans les instructions d'utilisation. Pour les substances chimiques courantes, la dose d'application doit être estimée sur la base de la voie de pénétration la plus pertinente; par exemple, lorsque les boues d'épuration sont la principale voie de pénétration dans le sol, la substance chimie doit être dosée dans la boue à une concentration correspondant à la concentration prévue et la quantité de boue ajoutée au sol doit correspondre à la charge normale en boue des sols agricoles. Si cette concentration n'est pas suffisamment élevée pour identifier les principaux produits de transformation, l'incubation d'échantillons de sol contenant des taux plus élevés peut être utile, mais il convient d'éviter des taux excessifs qui influencent les fonctions microbiennes du sol (voir les paragraphes 1.5 et 1.8.2).

Un autre moyen consiste à traiter un lot plus important (de 1 à 2 kg) de sol avec la substance d'essai, en le mélangeant soigneusement dans un mélangeur adapté puis en le transférant en petites fractions de 50 à 200 g dans les flacons d'incubation (par exemple à l'aide de répartiteurs). De petits aliquots (1 g par exemple) du lot de sol traité doivent être analysés afin de vérifier l'uniformité de la répartition de la substance d'essai. Cette procédure est préférable car elle permet une répartition plus uniforme de la substance d'essai dans le sol.

De même, les échantillons de sol non traités sont incubés dans les mêmes conditions (aérobies) que les échantillons traités avec la substance d'essai. Ces échantillons sont utilisés pour mesurer la biomasse pendant le déroulement et à la fin des essais.

⁶ Les études aérobies doivent être terminées en moins de 120 jours sous réserve que la voie de transformation et la minéralisation se soient effectivement produites à cette date. Il est possible de mettre fin à l'essai au bout de 120 jours, ou lorsque 90% au moins de la substance d'essai sont transformés, mais seulement si il y a formation de 5% de CO₂ au moins.

⁷ Calcul de la concentration initiale en fonction de la superficie à l'aide de l'équation suivante:

$$C_{sol} [mg/kg_{sol}] = \frac{A [kg/ha] \cdot 10^6 [mg/kg]}{l [m] \cdot 10^4 [m^2/ha] \cdot d [kg_{sol}/m^3]}$$

C_{sol} = concentration initiale dans le sol [mg·kg⁻¹]

A = Taux d'application [kg·ha⁻¹]; l = épaisseur de la couche de sol du champ [m]; d = densité apparente du sol sec [kg·m⁻³].

En règle générale, si on applique un taux de 1 kg·ha⁻¹ on obtient une concentration de 1 mg·kg⁻¹ environ dans une couche de 10 cm (en supposant une densité apparente de 1 g·cm⁻³).

Lorsque la substance d'essai est appliquée dans le sol dissous dans un (ou plusieurs) solvant(s) organique(s), des échantillons de sol traité avec la même quantité de solvant(s) sont incubés dans les mêmes conditions (aérobies) que les échantillons traités avec la substance d'essai. Ces échantillons sont utilisés pour mesurer la biomasse au début, pendant le déroulement et à la fin des essais afin de contrôler les effets du(des) solvant(s) sur la biomasse microbienne.

Les flacons contenant le sol traité sont attachés au système à circulation continue décrit à la Figure 1 ou fermés par la colonne d'absorption présentée dans la Figure 2 (voir l'Annexe 3).

1.9.3 Échantillonnage et mesures

Les flacons d'incubation en deux exemplaires sont retirés à des intervalles appropriés et les échantillons de sol extraits à l'aide de solvants appropriés de polarité différente et analysés pour mesurer la substance d'essai et/ou les produits de transformation. Une étude bien conçue comprend un nombre suffisant de flacons de façon à pouvoir sacrifier deux flacons à chaque prélèvement. De plus, des solutions d'absorption ou des matériaux d'absorption solides sont retirés à différents intervalles de temps (tous les 7 jours au cours du premier mois et, au bout d'un mois, tous les 17 jours) pendant et à la fin de l'incubation de chaque échantillon de sol et analysés pour mesurer les produits volatils. Par ailleurs, au moins 5 points supplémentaires de prélèvement devraient être prévus en plus de l'échantillon de sol prélevé directement après application (échantillon de 0 jour). Les intervalles de temps doivent être choisis de façon à pouvoir établir la courbe de déplétion de la substance d'essai et les courbes de formation et de déplétion des produits de transformation (par exemple 0, 1, 3, 7 jours; 2, 3 semaines; 1, 2, 3 mois, etc.).

Lorsqu'on utilise une substance d'essai marquée au ^{14}C , la radioactivité non extractible est quantifiée par combustion et un bilan massique est calculé pour chaque intervalle de prélèvement.

Dans le cas de l'incubation anaérobie et des sols de rizière, la phase sol et la phase aqueuse peuvent être analysées ensemble pour mesurer la substance d'essai et les produits de transformation ou séparées par filtration ou centrifugation avant extraction et analyse.

1.9.4 Essais facultatifs

Il peut être utile d'effectuer des études aérobies non stériles à d'autres températures et humidités de sol pour estimer l'influence de la température et de l'humidité du sol sur le taux de transformation d'une substance d'essai et/ou de ses produits de transformation dans le sol.

On peut essayer d'effectuer une caractérisation plus poussée de la radioactivité non extractible en utilisant, par exemple, l'extraction par un fluide supercritique.

2 DONNÉES

2.1 TRAITEMENT DES RÉSULTATS

Les quantités de substance d'essai, de produits de transformation, de substances volatiles (en % uniquement), et non extractibles doivent être données en pourcentage de la concentration initiale appliquée et, s'il y a lieu, en $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de sol (sur la base du poids sec de sol) à chaque intervalle de prélèvement. Pour chaque intervalle de prélèvement, un bilan massique doit être donné en pourcentage de la concentration initiale appliquée. La représentation graphique des concentrations de la substance d'essai en fonction du temps permet d'estimer sa durée de demi-vie de la transformation ou sa DT_{50} . Les produits de transformation principaux doivent être identifiés et leurs concentrations doivent également être présentées graphiquement en fonction du temps afin de montrer leurs taux de formation et de déplétion. On entend par produit de transformation principal tout produit représentant $\geq 10\%$ de la dose appliquée à n'importe quel moment de l'étude.

Les produits volatils piégés donnent une indication du potentiel de volatilité d'une substance d'essai et de ses produits de transformation à partir du sol.

Il est possible de déterminer avec plus de précision les demi-vies ou les valeurs DT_{50} et, s'il y a lieu, les valeurs DT_{75} et DT_{90} en utilisant des méthodes de calcul basées sur des modèles cinétiques appropriés. La durée de demi-vie et les valeurs DT_{50} doivent être notées dans le rapport avec la description du modèle cinétique utilisé, l'ordre de la cinétique et le coefficient de détermination (r^2). La cinétique du premier ordre est préférable sauf si $r^2 < 0,7$. Si nécessaire, les calculs doivent aussi être appliqués aux principaux produits de transformation. Des exemples des modèles appropriés sont décrits sous les références 31 à 35.

Dans le cas des études de taux effectuées à des températures différentes, les taux de transformation doivent être décrits comme fonction de la température à l'intérieur de l'intervalle de température de l'expérience en appliquant la formule de la relation d'Arrhenius:

$$k = A \cdot e^{-B/T} \text{ or } \ln k = \ln A - \frac{B}{T},$$

où $\ln A$ et B sont des constantes de régression, respectivement, l'intersection et la pente de la droite d'interpolation produite par régression linéaire de $\ln k$ par rapport à $1/T$, où k est la constante de vitesse à la température T et T la température en degrés Kelvin. Il convient de prendre soin à l'intervalle limité de température à l'intérieur de laquelle la relation d'Arrhenius est valable dans le cas où la transformation dépend de l'activité microbienne.

2.2 ÉVALUATION ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Bien que les études soient effectuées dans un système artificiel en laboratoire, les résultats permettent d'estimer le taux de transformation de la substance d'essai ainsi que les taux de formation et de déplétion des produits de transformation dans des conditions de terrain (36)(37).

L'étude des voies de transformation d'une substance d'essai donne des informations sur la façon dont la structure de la substance appliquée est modifiée dans le sol par des réactions chimiques et microbiennes.

3 RAPPORT

RAPPORT D'ESSAI

Le rapport d'essai doit comporter les informations suivantes:

Substance d'essai:

- nom courant, nom chimique, numéro de fichier CAS, formule structurale (indiquant la(les) position (s) du(des) marquage(s) lorsqu'on utilise un produit radiomarké) et propriétés physico-chimiques pertinentes (voir le paragraphe 1.5);
- pureté (impuretés) de la substance d'essai;
- pureté radiochimique de la substance marquée et activité spécifique (s'il y a lieu);

Substances de référence:

- nom et structure chimique des substances de référence utilisées pour caractériser et/ou identifier le produit de transformation;

Sol d'essai:

- détails du site de prélèvement;
- date et procédure d'échantillonnage du sol;
- propriétés des sols: pH, teneur en carbone organique, texture (% sable, % limon, % argile), capacité d'échange cationique, densité apparente, caractéristique de rétention d'eau, et biomasse microbienne;
- durée et conditions de stockage du sol (s'il y a lieu);

Conditions d'essai:

- dates de réalisation des études;
- quantité de substance d'essai appliquée;
- solvants utilisés et méthode d'application de la substance d'essai;
- poids de sol traité initialement et prélevé à chaque intervalle pour analyse;
- description du système d'incubation utilisé;
- débit d'écoulement de l'air (pour les systèmes à circulation continue uniquement);
- température au début de l'expérience;
- teneur en humidité du sol pendant l'incubation;
- biomasse microbienne au début, pendant le déroulement et à la fin des études aérobies;
- pH, concentration en oxygène et potentiel redox au début, pendant le déroulement et à la fin des études anaérobies et des sols de rizière;
- méthode(s) d'extraction;
- méthodes de quantification et d'identification de la substance d'essai et des principaux produits de transformation dans le sol et matériau d'absorption;
- nombre de réplicats et nombre de témoins.

Résultats:

- résultat de la détermination de l'activité microbienne;
- reproductibilité et sensibilité des méthodes analytiques utilisées;
- taux de récupération (les pourcentages acceptables pour que l'étude soit valable sont présentés au paragraphe 1.7.1);
- tableaux de résultats exprimés en % de la dose initiale appliquée et, s'il y a lieu, en $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de sol (sur la base de poids sec);
- bilan massique pendant et à la fin des études;
- caractérisation de la radioactivité non extractible (liée) ou des résidus dans le sol;
- quantification du CO_2 dégagé et des autres composés volatiles;
- graphes représentant la concentration de la substance d'essai dans le sol en fonction du temps et, s'il y a lieu, des principaux produits de transformation;
- demi-vie ou DT_{50} , DT_{75} et DT_{90} pour la substance d'essai et, s'il y a lieu, des principaux produits de transformation, ainsi que les limites de confiance;
- estimation de la vitesse de dégradation abiotique dans des conditions stériles;
- évaluation de la cinétique de transformation de la substance d'essai et, s'il y a lieu, des principaux produits de transformation;
- voies de transformation proposées, s'il y a lieu;
- discussion et interprétation des résultats;
- données brutes (chromatogramme des échantillons, calcul des vitesses de transformation des échantillons et moyens utilisés pour identifier les produits de transformation).

4

RÉFÉRENCES

- (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) Union européenne (UE) (1995). Directive 95/36/CE de la Commission, du 14 juillet 1995, modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques. Annexe II, Partie A et Annexe III, Partie A: Devenir et comportement dans l'environnement.
- (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 - Japon 2000 - Draft Guidelines for transformation studies of pesticides in soil - Aerobic metabolism study in soil under paddy field conditions (flooded).
- (10) OCDE (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/Sediments. Belgirate, Italie, 18-20 janvier 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) Ligne directrice de l'OCDE 304 A: Biodégradabilité intrinsèque dans le sol (adoptée le 12 mai 1981)
- (15) ISO 10381-6 (1993). Qualité des sols - Échantillonnage - Partie 6: Guide du prélèvement, de la manipulation et du stockage des sols pour l'évaluation des processus microbiens en laboratoire.
- (16) Annexe V à la directive 67/548/CEE
- (17) Guth, J.A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. In Progress in Pesticide Biochemistry. D.H. Hutson, T.R. Roberts, Eds. J. Wiley & Sons. Vol 1, 85-114.
- (18) Soil Texture Classification (US and FAO systems): Weed Science, 33, 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 No 9, 2nd Edition.
- (20) Methods of Soil Analysis (1982). Part 2, Chemical and Microbiological Properties. A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Kelney, Eds. Agronomy Series No 9, 2nd Edition.
- (21) ISO Standard Compendium Environment (1994). Soil Quality - General aspects; chemical and physical méthodes of analysis; biological methods of analysis. First Edition.
- (22) Mückenhausen, E. (1975). Die Bodenkunde und ihre geologischen, geomorphologischen, mineralogischen und petrologischen Grundlagen. DLG-Verlag, Frankfurt, Main.
- (23) Scheffer, F., Schachtschabel, P. (1975). Lehrbuch der Bodenkunde. F. Enke Verlag, Stuttgart.
- (24) Anderson, J.P.E., Domsch, K.H. (1978) A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. Soil Biol. Biochem. 10, 215-221.
- (25) ISO 14240-1 and 2 (1997). Soil Quality - Determination of soil microbial biomass - Part 1: Substrate-induced respiration method. Part 2: fumigation-extraction method.
- (26) Anderson, J.P.E. (1987). Handling and storage of soils for pesticide experiments. In Pesticide Effects on Soil Microflora. L. Somerville, M.P. Greaves, Eds. Taylor & Francis, 45-60.

- (27) Kato, Yasuhiro. (1998). Mechanism of pesticide transformation in the environment: Aerobic and bio-transformation of pesticides in aqueous environment. Proceedings of the 16th Symposium on Environmental Science of Pesticide, 105-120.
- (28) Keuken O., Anderson J.P.E. (1996). Influence of storage on biochemical processes in soil. In Pesticides, Soil Microbiology and Soil Quality, 59-63 (SETAC-Europe).
- (29) Stenberg B., Johansson M., Pell M., Sjö Dahl-Svensson K., Stenström J., Torstensson L. (1996). Effect of freeze and cold storage of soil on microbial activities and biomass. In Pesticides, Soil Microbiology and Soil Quality, 68-69 (SETAC-Europe).
- (30) Gennari, M., Negre, M., Ambrosoli, R. (1987). Effects of ethylene oxide on soil microbial content and some chemical characteristics. Plant and Soil 102, 197-200.
- (31) Anderson, J.P.E. (1975). Einfluss von Temperatur und Feuchte auf Verdampfung, Abbau und Festlegung von Diallat im Boden. Z. PflKrankh Pflschutz, Sonderheft VII, 141-146.
- (32) Hamaker, J.W. (1976). The application of mathematical modelling to the soil persistence and accumulation of pesticides. Proc. BCPC Symposium: Persistence of Insecticides and Herbicides, 181-199.
- (33) Goring, C.A.I., Laskowski, D.A., Hamaker, J.W., Meikle, R.W. (1975). Principles of pesticide degradation in soil. In "Environmental Dynamics of Pesticides". R. Haque 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 résidus. 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.

ANNEXE 1

SUCCION, CAPACITE AU CHAMP (FC) ET CAPACITE DE RETENTION D'EAU (WHC)(1)

Hauteur de la colonne d'eau [cm]	pF ^(a)	bar ^(b)	Remarques
10 ⁷	7	10 ⁴	Sol sec
1,6 · 10 ⁴	4,2	16	Point de flétrissement
10 ⁴	4	10	
10 ³	3	1	
6 · 10 ²	2,8	0,6	
3,3 · 10 ²	2,5	0,33 ^(c)	} Échelle de la capacité au champ ^(d)
10 ²	2	0,1	
60	1,8	0,06	
33	1,5	0,033	} Capacité de rétention d'eau (approximation)
10	1	0,01	
1	0	0,001	Sol saturé en eau

(a) pF = log de la colonne d'eau en cm.

(b) 1 bar = 10⁵ Pa.

(c) Correspond à une teneur en eau approximative de 10% dans le sable, de 35% dans le limon et de 45% dans l'argile.

(d) La capacité au champ n'est pas constante mais varie selon le type de sol de pF 1,5 à 2,5.

La *suction* est mesurée en cm de colonne d'eau ou en bar. Comme l'échelle de valeur de la suction est très large, celle-ci est exprimée simplement en pF, qui est égal au logarithme de la colonne d'eau en cm.

La *capacité au champ* (FC) est définie comme la quantité d'eau qui peut être stockée contre la gravité par un sol naturel 2 jours après une longue période de pluie ou après une irrigation suffisante. Elle est déterminée dans un sol non brassé in situ dans le champ. Cette mesure ne peut donc pas s'appliquer aux échantillons de sol brassé. Les valeurs de capacité au champ déterminées dans les sols brassés peuvent présenter une variabilité systématique importante.

La *capacité de rétention d'eau* (WHC) est déterminée en laboratoire avec un sol non brassé et un sol brassé en saturant une colonne de sol avec de l'eau par capillarité. Elle est particulièrement utile pour les sols brassés et peut être jusqu'à 30 % supérieure à la capacité au champ (1). Elle est également plus facile à déterminer expérimentalement que des valeurs de capacité au champ fiables.

(1) Mückenhausen, E. (1975). Die Bodenkunde und ihre geologischen, geomorphologischen, mineralogischen und petrologischen Grundlagen. DLG-Verlag, Frankfurt, Main.

ANNEXE 2

TENEUR EN HUMIDITE (g d'eau pour 100 g de sol sec) DE DIFFERENTS TYPES DE SOL PROVENANT DE DIFFERENTS PAYS

Type de sol	Pays	Teneur en humidité à		
		WHC ¹	pF = 1,8	pF = 2,5
Sable	Allemagne	28,7	8,8	3,9
Sable limoneux	Allemagne	50,4	17,9	12,1
Sable limoneux	Suisse	44,0	35,3	9,2
Limon fin	Suisse	72,8	56,6	28,4
Limon argileux	Brésil	69,7	38,4	27,3
Limon argileux	Japon	74,4	57,8	31,4
Limon sableux	Japon	82,4	59,2	36,0
Limon fin	États-Unis	47,2	33,2	18,8
Limon sableux	États-Unis	40,4	25,2	13,3

¹ Capacité de rétention d'eau

ANNEXE 3

Figure 1

Exemple d'appareil à circulation continue pour étudier la transformation des substances chimiques dans le sol (1)(2)

- | | | |
|--|---|--|
| 1: robinet à pointeau | 4: flacon pour le métabolisme du sol (saturé en eau uniquement pour les conditions anaérobies et de rizière;) | 7, 8: piège d'hydroxyde de sodium pour le CO ₂ & autres acides volatils |
| 2: bouteille de lavage du gaz contenant de l'eau | 5: piège à éthylène glycol pour les composés volatils organiques | 9: débitmètre. |
| 3: ultramembrane (conditions stériles uniquement), taille de pore 0,2 µm | 6: piège à acide sulfurique pour les composés alcalins volatils | |

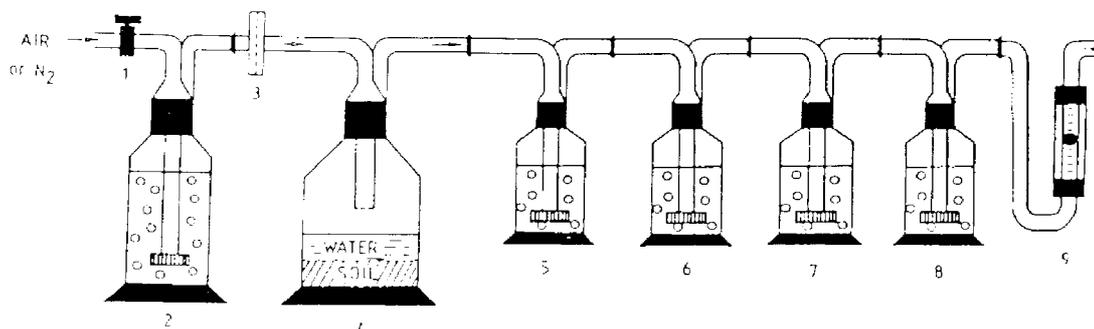
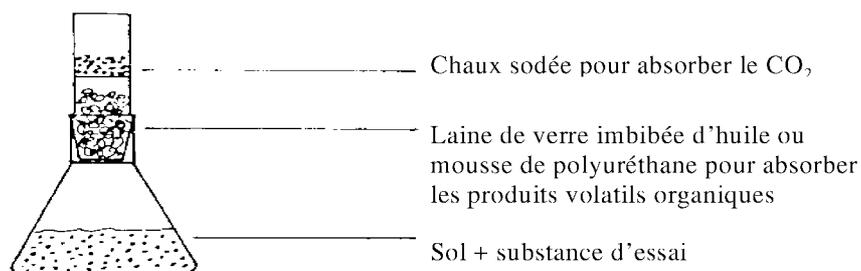


Figure 2

Exemple de flacon de type biomètre pour l'étude de la transformation des substances chimiques dans le sol (3)



- (1) Guth, J.A. (1980). The study of transformations. In Interactions between Herbicides and the Soil (R.J. Hance, Ed.), Academic Press, 123-157.
- (2) Guth, J.A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. In Progress in Pesticide Biochemistry. D.H. Hutson, T.R. Roberts, Eds. J. Wiley & Sons. Vol 1, 85-114.
- (3) Anderson, J.P.E. (1975). Einfluss von Temperatur und Feuchte auf Verdampfung, Abbau und Festlegung von Diallylat im Boden. Z. PflKrankh Pflschutz, Sonderheft VII, 141-146.

C.24. TRANSFORMATION AEROBIE ET ANAEROBIE DANS LES SYSTEMES SEDIMENTAIRES AQUATIQUES

1. METHODE

La présente méthode d'essai reprend l'essai TG 308 (2002) de l'OCDE.

1.1 INTRODUCTION

Les substances chimiques peuvent pénétrer dans les eaux de surface peu ou très profondes par des voies telles que l'application directe, la déperdition lors de l'épandage, le ruissellement, le drainage, l'élimination des déchets, les effluents industriels, domestiques ou agricoles et le dépôt atmosphérique. La présente méthode d'essai décrit une méthode de laboratoire conçue pour évaluer la transformation aérobie et anaérobie des substances chimiques organiques dans les systèmes sédimentaires aquatiques. Elle s'appuie sur les lignes directrices existantes (1)(2)(3)(4)(5)(6). Un atelier de l'OCDE sur la sélection des sols et des sédiments, qui s'est tenu à Belgirate, en Italie en 1995 (7) a défini notamment le nombre et le type de sédiments à utiliser dans le cadre de cet essai. Il a également formulé des recommandations relatives au prélèvement, à la manipulation et au stockage des échantillons de sédiments, sur la base des lignes directrices de l'ISO (8). Ces études sont nécessaires pour les substances chimiques qui sont introduites directement dans l'eau ou qui sont susceptibles de pénétrer dans le milieu aquatique par les voies décrites ci-avant.

La phase aqueuse supérieure des systèmes sédimentaires aquatiques présente souvent des conditions aérobies. La couche superficielle du sédiment peut être aérobie ou anaérobie, alors qu'en profondeur, le sédiment est généralement anaérobie. Afin de tenir compte de toutes ces possibilités, le présent document décrit des essais aérobies et anaérobies. L'essai aérobie simule une colonne d'eau aérobie sur une couche de sédiment aérobie et une sous-couche avec un gradient anaérobie. L'essai anaérobie simule un système eau-sédiment complètement anaérobie. Si selon les circonstances, il est nécessaire de s'écarter sensiblement de ces recommandations, par exemple en utilisant des carottes de sédiment intact ou des sédiments qui ont pu être exposés à la substance d'essai, il existe d'autres méthodes à cette fin (9).

1.2 DEFINITIONS

Il convient d'utiliser dans tous les cas les unités standard internationales (SI).

Substance d'essai: toute substance, qu'il s'agisse de la substance mère ou des produits de transformation correspondants.

Produits de transformation: toutes les substances résultant des réactions de transformation biotiques et abiotiques de la substance d'essai et notamment le CO₂ et les résidus liés.

Résidus liés: les "résidus liés" désignent des composés du sol, végétaux ou animaux, qui subsistent dans la matrice après extraction, sous la forme de la substance mère ou de ses métabolite(s). La méthode d'extraction ne doit pas modifier de manière substantielle les composés eux-mêmes ni la structure de la matrice. La nature de la liaison peut être clarifiée en partie par les méthodes d'extraction qui modifient la matrice et des techniques analytiques sophistiquées. C'est de cette façon que l'on a déterminé jusqu'ici la nature de la liaison, covalente ionique, par sorption ou piégeage. De manière générale, la formation de résidus liés abaisse sensiblement la bioaccessibilité et la biodisponibilité (10) [modifié d'après l'UICPA 1984 (11)].

Transformation aérobie: (oxydation): réaction se produisant en présence d'oxygène moléculaire (12).

Transformation anaérobie: (réduction): réaction se produisant en l'absence d'oxygène moléculaire (12).

Eaux naturelles: eaux superficielles provenant de mares, rivières, fleuves, etc.

Sédiment: mélange de constituants chimiques minéraux et organiques, ces derniers contenant des composés à haute teneur en carbone et en azote et à masse moléculaire élevée. Il est déposé par les eaux naturelles avec lesquelles il forme une interface.

Minéralisation: dégradation complète d'un composé organique en CO₂ et H₂O dans des conditions aérobies, et en CH₄, CO₂ et H₂O dans des conditions anaérobies. Dans le cadre de la présente méthode d'essai, lorsqu'on utilise un composé radiomarqué, la minéralisation désigne la dégradation importante au cours de laquelle un atome de carbone marqué est oxydé ou réduit quantitativement avec dégagement de la quantité correspondante de ¹⁴CO₂ ou de ¹⁴CH₄, respectivement.

Demi-vie, t_{0,5}, temps nécessaire à la transformation de 50% d'une substance d'essai lorsque la transformation peut être décrite par une cinétique du premier ordre; elle est indépendante de la concentration initiale.

DT₅₀ (temps de dégradation 50): période au cours de laquelle la concentration initiale de la substance d'essai diminue de 50%.

DT₇₅ (temps de dégradation 75): période au cours de laquelle la concentration initiale de la substance d'essai diminue de 75%.

DT₉₀ (temps de dégradation 90): période au cours de laquelle la concentration initiale de la substance d'essai diminue de 90%.

1.3 SUBSTANCES DE REFERENCE

Des substances de référence doivent être utilisées pour caractériser et/ou identifier les produits de transformation par des méthodes spectroscopiques et chromatographiques.

1.4 INFORMATIONS RELATIVES À LA SUBSTANCE D'ESSAI

Une substance d'essai marquée ou non marquée peut être utilisée pour mesurer le taux de transformation, bien qu'il soit préférable d'utiliser du matériel marqué. Il est nécessaire d'utiliser du matériel marqué pour étudier les voies de transformation et établir un bilan massique, le marquage au ¹⁴C est recommandé mais l'utilisation d'autres isotopes, comme ¹³C, ¹⁵N, ³H, ³²P, peut aussi être utile. Dans la mesure du possible, le marquage doit être situé dans la partie(s) la plus stable de la molécule¹. La substance d'essai doit avoir une pureté chimique et/ou radiochimique d'au moins 95%.

Avant de procéder à un essai, il convient de disposer des informations suivantes sur la substance d'essai:

- (a) solubilité dans l'eau (méthode A.6);
- (b) solubilité dans les solvants organiques;
- (c) pression de vapeur (Méthode A.4) et constante de la loi de Henry;
- (d) coefficient de partage n-octanol/eau (Méthode A.8);
- (e) coefficient d'adsorption (K_d, K_f ou K_{oc}, s'il y a lieu) (Méthode C.18);
- (f) hydrolyse (Méthode C.7);
- (g) constante de dissociation (pK_a) [Ligne directrice 112 de l'OCDE] (13);
- (h) structure chimique de la substance d'essai et position des marqueurs isotopiques, s'il y a lieu.

Note: Il convient d'indiquer la température à laquelle ces mesures ont été effectuées.

Il peut également être utile de disposer d'informations sur la toxicité de la substance d'essai sur les microorganismes, sur la biodégradabilité immédiate et/ou intrinsèque, ainsi que sur la transformation aérobie et anaérobie dans le sol.

¹ Par exemple, si la substance d'essai contient un cycle, il est nécessaire de marquer ce cycle; si la substance d'essai contient deux cycles ou plus, il peut être nécessaire d'effectuer des études distinctes pour évaluer le devenir de chaque cycle marqué et obtenir des informations fiables sur la formation de produits de transformation.

Il faut disposer des méthodes analytiques (dont des méthodes d'extraction et de purification) nécessaires à la quantification et à l'identification de la substance d'essai et de ses produits de transformation dans l'eau et dans les sédiments (voir le paragraphe 1.7.2).

1.5 PRINCIPE DE LA METHODE

La méthode décrite ici emploie un système sédimentaire aquatique aérobie et anaérobie (voir l'Annexe 1) qui permet:

- (i) de mesurer le taux de transformation de la substance d'essai dans un système eau-sédiment,
- (ii) de mesurer le taux de transformation de la substance d'essai dans le sédiment,
- (iii) de mesurer le taux de minéralisation de la substance d'essai et /ou de ses produits de transformation (lorsqu'on utilise une substance d'essai marquée au ^{14}C),
- (iv) d'identifier et de quantifier les produits de transformation dans les phases aqueuse et sédimentaire et notamment le bilan massique (lorsqu'on utilise une substance d'essai marquée),
- (v) de mesurer la répartition de la substance d'essai et de ses produits de transformation entre les deux phases pendant une période d'incubation dans le noir (pour éviter par exemple, la prolifération d'algues) à température constante. Les durées de demi-vie, les valeurs DT_{50} , DT_{75} et DT_{90} sont déterminées lorsque les données le permettent, mais elles ne doivent pas être extrapolées bien au-delà de la période expérimentale (voir le paragraphe 1.2).

Au moins deux sédiments et les phases aqueuses associées sont nécessaires pour les études aérobies et anaérobies respectivement (7). Il peut toutefois être nécessaire dans certains cas d'utiliser plus de deux sédiments aquatiques, par exemple, pour une substance chimique pouvant être présente dans l'eau douce et/ou le milieu marin.

1.6 APPLICABILITE DE L'ESSAI

La méthode peut être appliquée aux substances chimiques (marquées ou non marquées) pour lesquelles il existe une méthode analytique de précision et de sensibilité suffisantes. Elle s'applique à des composés faiblement volatils, non-volatils, hydrosolubles ou peu hydrosolubles. L'essai ne doit pas être appliqué aux substances chimiques fortement volatiles dans l'eau (fumigants, solvants organiques) et qui ne peuvent donc pas être gardées dans l'eau et/ou le sédiment dans les conditions expérimentales de cet essai.

La méthode a été appliquée jusqu'ici pour étudier la transformation des substances chimiques dans les eaux douces et dans les sédiments, mais en principe, elle peut également être appliquée aux systèmes estuariens/marins. Elle n'est pas adaptée à la simulation des conditions de l'eau courante (rivières) ou de pleine mer.

1.7 CRITÈRES DE QUALITÉ

1.7.1 Récupération

L'extraction et l'analyse, au moins en double exemplaire, des échantillons d'eau et de sédiment immédiatement après l'addition de la substance d'essai donnent une première indication de la reproductibilité de la méthode analytique et de l'uniformité de la procédure d'application de la substance d'essai. Les taux de récupération des stades ultérieurs des expériences sont fournis par les bilans massiques respectifs (lorsqu'on utilise une substance marquée). Les taux de récupération doivent osciller entre 90% et 110% pour les substances chimiques marquées (6) et entre 70% et 110% pour les substances chimiques non marquées.

1.7.2 Reproductibilité et sensibilité de la méthode analytique

La reproductibilité de la méthode analytique (à l'exception du rendement d'extraction initial) servant à quantifier la substance d'essai et les produits de transformation peut être contrôlée en effectuant en double les analyses du même extrait d'échantillons d'eau ou de sédiments, incubés suffisamment longtemps pour permettre la formation de produits de transformation.

La limite de détection de la méthode d'analyse de la substance d'essai et ses produits de transformation doit être au moins égale à $0,01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ dans l'eau ou le sédiment (substance d'essai) ou à 1% de la quantité initiale appliquée à un système d'essai si cette quantité est inférieure. La limite de quantification doit également être spécifiée.

1.7.3 Précision des données de transformation

L'analyse de régression des concentrations de la substance d'essai en fonction du temps permet d'obtenir les informations appropriées sur la précision de la courbe de transformation et de calculer les limites de confiance des demi-vies (en cas de cinétique du pseudo premier ordre) ou des valeurs DT_{50} et, le cas échéant, des valeurs DT_{75} et DT_{90} .

1.8 DESCRIPTION DE LA METHODE

1.8.1 Système et appareillage d'essai

L'étude doit être effectuée dans des récipients en verre (bouteilles, tubes de centrifugation), à moins que les informations préliminaires (coefficient de partage n-octanol/eau, données de sorption, etc.) indiquent que la substance d'essai risque d'adhérer au verre, auquel cas on peut envisager l'utilisation d'un autre matériau (Téflon). Lorsque l'on sait que la substance d'essai adhère au verre, il est possible de contourner le problème en utilisant l'une des méthodes suivantes:

- déterminer la masse de la substance d'essai et de ses produits de transformation sorbés sur le verre;
- veiller à nettoyer toute la verrerie à l'aide d'un solvant à la fin de l'essai;
- utilisation de produits formulés (voir également le paragraphe 1.9.2);
- utilisation d'une quantité croissante de co-solvant pour ajouter la substance d'essai au système; si l'on utilise un co-solvant, celui-ci ne doit pas entraîner de réaction de solvolysse avec la substance d'essai.

Des exemples d'appareillage d'essai courant (systèmes à flux continu et biomètres) sont présentés dans les annexes 2 et 3, respectivement (14). On trouvera d'autres systèmes d'incubation sous la référence 15. L'appareil utilisé pour l'expérience doit permettre l'échange d'air ou d'azote et le piégeage des produits volatils. Les dimensions de l'appareillage doivent permettre de satisfaire aux exigences de l'essai (voir le paragraphe 1.9.1). La ventilation peut être effectuée soit par léger barbotage soit en faisant circuler de l'air ou de l'azote à la surface de l'eau. Dans ce cas, il est conseillé de remuer doucement la surface de l'eau pour obtenir une meilleure répartition de l'oxygène ou de l'azote dans l'eau. Il ne faut pas utiliser d'air sans CO_2 car cela pourrait entraîner une augmentation du pH de l'eau. Dans les deux cas, il n'est pas souhaitable de toucher au sédiment et il convient de l'éviter dans toute la mesure du possible. Les substances chimiques faiblement volatils doivent être testées dans un système de type biomètre en remuant légèrement la surface de l'eau. Des récipients fermés avec un espace libre d'air atmosphérique ou d'azote et des fioles à l'intérieur pour le piégeage des produits volatils peuvent également être utilisés (16). Un bon échange du gaz de surface est nécessaire dans l'essai aérobic afin de compenser la consommation d'oxygène par la biomasse.

La liste non restrictive des pièges adaptés à la collecte des produits de transformation volatils est la suivante: solutions à $1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ d'hydroxyde de potassium ou d'hydroxyde de sodium pour le dioxyde de carbone² et éthylène glycol, éthanolamine ou 2% paraffine dans le xylène pour les composés organiques. Les produits volatils formés en anaérobic, comme le méthane, peuvent être récupérés, par exemple, à l'aide de tamis moléculaires. Ces produits volatils peuvent être brûlés, par exemple, en CO_2 en faisant passer le gaz à travers un tube de quartz rempli de CuO à la température de $900 \text{ }^\circ\text{C}$ et en piégeant le CO_2 formé dans une colonne d'absorption contenant un produit alcalin (17).

² Comme ces solutions d'absorption alcalines absorbent également le dioxyde de carbone de l'air de ventilation et de l'air formé par la respiration dans les expériences aérobies, il convient de les changer à intervalles réguliers afin d'éviter leur saturation et par conséquent la perte de leur capacité d'absorption.

Des instruments de laboratoire pour l'analyse chimique de la substance d'essai et des produits de transformation sont nécessaires (chromatographie gaz-liquide (GLC), chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), chromatographie en couche mince (TLC), spectroscopie de masse (MS), chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS), résonance magnétique nucléaire (RMN), etc.), ainsi que, le cas échéant, des dispositifs de détection des substances chimiques radiomarquées ou non marquées. Lorsqu'on utilise des substances radiomarquées, un compteur à scintillation liquide et un appareil d'oxydation pour la combustion (pour la combustion des échantillons de sédiment avant l'analyse de radioactivité) sont également nécessaires.

D'autres équipements courants de laboratoire peuvent s'avérer nécessaires selon le cas pour effectuer des analyses physico-chimiques et biologiques (voir le Tableau 1 au paragraphe 1.8.2.2), ainsi que de la verrerie, des produits chimiques et des réactifs.

1.8.2 **Sélection et nombre de sédiments aquatiques**

Les sites de prélèvement doivent être choisis en fonction de la finalité de l'essai dans une situation donnée. Pour choisir les sites de prélèvement, il convient de prendre en compte l'historique des éventuels apports agricoles, industriels ou domestiques dans le bassin versant et les eaux en amont. Les sédiments ne doivent pas être utilisés s'ils ont été contaminés par la substance d'essai ou ses analogues structuraux au cours des 4 années précédentes.

1.8.2.1 *Sélection des sédiments*

On utilise généralement deux sédiments pour les études aérobies (7). Les deux sédiments sélectionnés doivent différer en texture et en teneur en carbone organique. Un sédiment doit avoir une teneur élevée en carbone organique (2,5-7,5%) et une texture fine, et l'autre doit avoir une teneur en carbone organique peu élevée (0,5-2,5%) et une texture grossière. La différence de teneur en carbone organique doit être normalement égale ou supérieure à 2%. On entend par "texture fine" une teneur en [argile + limon]³ >50% et par "texture grossière" une teneur en [argile + limon] <50%. La différence de teneur [argile + limon] entre les deux sédiments doit être normalement égale ou supérieure à 20%. Dans le cas où des substances chimiques risquent d'entrer également en contact avec les eaux de mer, au moins un des deux systèmes eau-sédiment doit être d'origine marine.

Pour l'étude strictement anaérobie, deux échantillons de sédiments (ainsi que la phase aqueuse associée) doivent être prélevés dans les zones anaérobies des systèmes à eaux de surface (7). Les sédiments comme les phases aqueuses doivent être manipulés et transportés avec précaution en évitant tout contact avec l'oxygène.

D'autres paramètres peuvent présenter de l'importance dans la sélection des sédiments et ils doivent être envisagés au cas par cas. Par exemple, le pH des sédiments est important pour tester les substances chimiques dont la transformation et/ou la sorption peuvent être dépendantes du pH. La dépendance au pH de la sorption peut être une conséquence du pK_a de la substance d'essai.

1.8.2.2 *Caractérisation des échantillons eau-sédiment*

Les paramètres clés qui doivent être mesurés et notés dans le rapport (en indiquant la méthode utilisée) pour l'eau et pour le sédiment, ainsi que l'étape de l'essai à laquelle ces paramètres doivent être déterminés, sont résumés dans le tableau ci-dessous. Pour information, les méthodes de détermination de ces paramètres sont fournies sous les références (18)(19)(20)(21).

Par ailleurs, il peut être nécessaire de mesurer et d'enregistrer d'autres paramètres selon le cas (eau douce: particules, alcalinité, dureté, conductivité, NO₃/PO₄ (rapport et valeurs individuelles); pour les sédiments: capacité d'échange cationique, capacité de rétention d'eau, carbonate, azote total et phosphore; et pour les systèmes marins: salinité). Il peut également être utile d'analyser les sédiments et l'eau pour mesurer le nitrate, le sulfate, le fer biodisponible, et d'autres accepteurs d'électrons peuvent aussi être utiles pour évaluer les conditions redox, notamment en ce qui concerne la transformation anaérobie.

³ [Argile + limon] est la fraction minérale du sédiment de granulométrie < 50 µm

Paramètres mesurés pour la caractérisation des échantillons d'eau et de sédiment (7)(22)(23)

Paramètre	Étape de la procédure d'essai					
	prélèvement sur site	post-manipulation	début de l'acclimatation	début de l'essai	pendant l'essai	à la fin de l'essai
Eau						
Origine/source	x					
Température	x					
pH	x		x	x	x	x
Carbone organique total			x	x		x
Concentration O ₂ *	x		x	x	x	x
Potentiel redox *			x	x	x	x
Sédiment						
Origine/source	x					
Profondeur de la couche	x					
pH		x	x	x	x	x
Répartition de la taille des particules		x				
Carbone organique total		x	x	x		x
Biomasse microbienne**		x		x		x
Potentiel redox *	Observation (couleur/odeur)		x	x	x	x

* Selon des résultats récents, les mesures des concentrations d'oxygène dans l'eau et des potentiels redox n'ont de valeur ni mécanique ni prédictive en ce qui concerne la croissance et le développement de colonies microbiennes dans les eaux superficielles (24)(25). La détermination de la demande biochimique en oxygène (lors du prélèvement, au début et à la fin de l'essai) et des concentrations de micro/macro éléments nutritifs Ca, Mg et Mn (au début et à la fin de l'essai) dans l'eau et la mesure du N total et du P total dans les sédiments (lors du prélèvement et à la fin de l'essai) peuvent être de meilleurs outils pour interpréter et évaluer les taux et les voies de biotransformation aérobie.

** Méthode du taux de respiration microbienne (26), méthode de fumigation (27) ou mesures de numération (bactéries, actinomycètes, champignons et colonies totales) pour les études aérobies; taux de méthanogenèse pour les études anaérobies.

1.8.3 Prélèvement, manipulation et stockage

1.8.3.1 Prélèvement

Il convient de se référer au projet de ligne directrice ISO sur l'échantillonnage des fonds sédimentaires (8) pour prélever les échantillons de sédiment. Les échantillons de sédiment doivent être prélevés sur la totalité de la couche supérieure de 5 à 10 cm du sédiment. L'eau correspondante doit être collectée sur le même site ou dans le même lieu et en même temps que le sédiment. Pour l'étude anaérobie, le sédiment et l'eau correspondante doivent être prélevés et transportés en évitant tout contact avec l'oxygène (28) (voir le paragraphe 1.8.2.1). Quelques dispositifs d'échantillonnage sont décrits dans la littérature (8)(23).

1.8.3.2 *Manipulation*

Le sédiment est séparé de l'eau par filtration et passé au travers d'un tamis de 2 mm en utilisant l'eau excédentaire prélevée sur le même site qui est ensuite éliminée. Des quantités connues de sédiments et d'eau sont ensuite mélangées dans le rapport désiré (voir le paragraphe 1.9.1) dans des flacons d'incubation et préparées pour la période d'acclimatation (voir le paragraphe 1.8.4). Pour l'étude anaérobie, toutes les étapes de la manipulation doivent être effectués en absence d'oxygène (29)(30)(31)(32)(33).

1.8.3.3 *Stockage*

Il est vivement recommandé d'utiliser des sédiments et de l'eau fraîchement prélevés, mais si le stockage est nécessaire, le sédiment et l'eau doivent être tamisés comme décrit ci-avant et stockés ensemble, recouverts d'eau (couche d'eau de 6-10 cm), dans l'obscurité, à $4 \pm 2^\circ\text{C}^4$ pendant une durée maximale de 4 semaines (7)(8)(23). Les échantillons destinés aux études aérobies doivent être stockés en laissant un accès libre à l'air (dans des récipients ouverts), alors que les échantillons destinés aux études anaérobies doivent être conservés en absence d'oxygène. Il ne faut pas que le sédiment et l'eau soient congelés ni que le sédiment sèche pendant le transport et le stockage.

1.8.4 **Préparation des échantillons de sédiment/eau pour l'essai**

Une période d'acclimatation doit être respectée avant d'ajouter la substance d'essai, au cours de laquelle chaque échantillon de sédiment/eau est placé dans le récipient d'incubation à utiliser dans l'essai principal, et l'acclimatation est réalisée exactement dans les mêmes conditions que l'incubation de l'essai (voir le paragraphe 1.9.1). La période d'acclimatation est le temps nécessaire pour atteindre une stabilité suffisante du système, en termes de pH, de concentration de l'oxygène dans l'eau, de potentiel redox du sédiment et de l'eau, et de séparation macroscopique des phases. La période d'acclimatation doit durer normalement de une à deux semaines et elle ne doit pas excéder quatre semaines. Le résultat des déterminations effectuées pendant cette période doit être enregistré.

1.9 RÉALISATION DE L'ESSAI

1.9.1 **Conditions de l'essai**

L'essai doit être effectué dans le dispositif d'incubation (voir le paragraphe 1.8.1) avec un rapport de volume eau sédiment situé entre 3:1 et 4:1, et une couche sédimentaire de 2,5 cm ($\pm 0,5$ cm).¹ On recommande une quantité minimale de 50 g de sédiment (sur une base de poids sec) par récipient d'incubation.

L'essai doit être effectué dans le noir à température constante dans la fourchette de 10 à 30 °C. La température indiquée est de $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$. Le cas échéant, une température supplémentaire plus basse (10°C par exemple) peut être envisagée selon le cas, en fonction de l'information que l'on souhaite retirer de l'essai. La température d'incubation doit être surveillée et enregistrée.

⁴ Selon des études récentes, un stockage à 4°C peut entraîner une diminution de la teneur en carbone organique du sédiment ce qui risque d'entraîner une diminution de l'activité microbienne (34).

1.9.2 **Traitement et application de la substance d'essai**

Une seule concentration d'essai de la substance chimique est utilisée⁵. Pour les produits phytosanitaires appliqués directement dans le milieu aquatique, le dosage maximal indiqué sur le mode d'emploi doit être pris comme taux maximal d'application calculé sur la base de la surface de l'eau dans le récipient d'essai. Dans tous les autres cas, la concentration à utiliser doit s'appuyer sur les estimations des émissions dans l'environnement. Il convient de veiller à appliquer une concentration de substance d'essai adéquate afin de caractériser la voie de transformation et la formation et le déclin des produits de transformation. Il peut être nécessaire d'appliquer des doses plus élevées (10 fois par exemple) dans le cas où les concentrations de la substance d'essai sont proches de la limite de détection au début de l'étude et/ou les principaux produits de transformation n'ont pas pu être facilement détectés à un taux égal à 10% du taux d'application de la substance d'essai. Toutefois, si des concentrations d'essai plus élevées sont utilisées celles-ci ne doivent pas avoir un effet négatif important sur l'activité microbienne du système eau-sédiment. Afin d'obtenir une concentration constante de la substance d'essai dans des récipients de dimensions différentes, il peut être indiqué d'ajuster la quantité de produit appliqué, en fonction de la profondeur de la colonne d'eau dans le récipient par rapport à la profondeur de l'eau dans le champ (que l'on suppose égale à 100 cm, mais on peut prendre une autre profondeur comme base). Voir l'annexe 4 pour un exemple de calcul.

Théoriquement, la substance d'essai doit être appliquée sous forme de solution aqueuse dans la phase aqueuse du système d'essai. S'il n'est pas possible de procéder autrement, on peut utiliser de faibles quantités de solvants miscibles avec l'eau (comme l'acétone ou l'éthanol) pour appliquer et répartir la substance d'essai, mais ce solubilisant ne doit pas dépasser 1% v/v ni avoir d'effets négatifs sur l'activité microbienne du système d'essai. La solution aqueuse de la substance d'essai doit être préparée avec soin - afin d'assurer une homogénéité totale, on peut effectuer un pré-mélange et utiliser des colonnes de générateur. Après l'addition de la solution aqueuse au système d'essai, il est recommandé de remuer doucement la phase aqueuse en brassant le moins possible le sédiment.

Il n'est pas recommandé d'utiliser de manière routinière des produits formulés car les ingrédients de formulation risquent d'affecter la répartition de la substance d'essai et/ou des produits de transformation entre la phase aqueuse et la phase sédimentaire. Toutefois, dans le cas de substances peu solubles dans l'eau, l'utilisation de matériau formulé peut être une solution de remplacement appropriée.

Le nombre de récipients d'incubation dépend du nombre de temps de prélèvement (voir le paragraphe 1.9.3). Un nombre suffisant de systèmes d'essai doit être prévu de façon à pouvoir sacrifier deux systèmes à chaque temps de prélèvement. Lorsqu'on utilise des unités témoins de chaque système sédimentaire aquatique, ces unités ne doivent pas être traitées avec la substance d'essai. Les unités témoins peuvent être utilisées pour déterminer la biomasse microbienne du sédiment et le carbone organique total de l'eau et du sédiment à la fin de l'étude. Deux unités témoins (une unité de chaque sédiment aquatique) peuvent être utilisées pour surveiller les paramètres requis dans le sédiment et dans l'eau pendant la période d'acclimatation (voir le tableau du paragraphe 1.8.2.2). Deux témoins supplémentaires doivent être ajoutés lorsque la substance d'essai est appliquée au moyen d'un solvant afin de mesurer les effets négatifs sur l'activité microbienne du système d'essai.

1.9.3 **Durée de l'essai et échantillonnage**

L'expérience ne doit pas durer plus de 100 jours (6), et elle doit se poursuivre jusqu'à ce que les voies de dégradation et le profil de répartition eau/sédiment se soient établis ou lorsque 90 % de la substance d'essai s'est dissipée par transformation et/ou volatilisation. Le nombre de temps de prélèvement doit être au moins égal à six (y compris le temps zéro), et une étude préliminaire facultative (voir le paragraphe 1.9.4) est effectuée pour déterminer le régime de prélèvement et la durée de l'essai, à moins que l'on ne dispose de données suffisantes sur la substance d'essai d'après les études antérieures. Pour les substances hydrophobes, il peut être nécessaire d'effectuer des points de prélèvement complémentaires pendant la période initiale afin de déterminer le taux de répartition entre la phase aqueuse et la phase sédimentaire.

⁵ Il peut être utile d'effectuer un essai avec une deuxième concentration pour les substances chimiques qui atteignent les eaux superficielles par différentes voies d'entrée ce qui entraîne des concentrations très différentes, dans la mesure où la concentration la plus faible peut être analysée avec une précision suffisante.

A chaque temps de prélèvement, les récipients d'incubation (réplicats) sont retirés pour analyse. Le sédiment et l'eau qui le recouvre sont analysés séparément⁶. L'eau de surface doit être retirée avec précaution en évitant autant que possible de toucher au sédiment. L'extraction et la caractérisation de la substance d'essai et des produits de transformation doivent suivre les procédures analytiques appropriées. Il faut prendre soin d'éliminer les matières adsorbées sur les parois du récipient d'incubation et dans les tuyaux utilisés pour piéger les produits volatils.

1.9.4 **Essai préliminaire facultatif**

S'il n'est pas possible de prévoir la durée et le régime d'échantillonnage à partir d'autres études analogues sur la substance d'essai, il peut être indiqué d'effectuer un essai préliminaire, dans les mêmes conditions d'essai que les conditions proposées pour l'étude définitive. Si cet essai préliminaire est effectué, les conditions expérimentales et les résultats de l'essai doivent être décrits brièvement.

1.9.5 **Mesures et analyse**

La concentration de la substance d'essai et des produits de transformation à chaque temps de prélèvement dans l'eau et le sédiment doit être mesurée et enregistrée (en concentration et en pourcentage de la substance appliquée). En règle générale, tout produit de transformation détecté à $\geq 10\%$ de la radioactivité totale appliquée au système eau/sédiment, quel que soit le temps de prélèvement, doit être identifié, à moins d'une justification suffisante. Les produits de transformation dont les concentrations sont en augmentation constante pendant la durée de l'étude doivent également être identifiés, même si leurs concentrations ne dépassent pas les limites indiquées ci-avant, car cela peut indiquer une persistance. Des justifications doivent être fournies dans le rapport.

Les résultats des systèmes de piégeage des gaz/volatils (CO_2 et autres, à savoir les composés organiques volatils) doivent être enregistrés à chaque temps de prélèvement. Les taux de minéralisation doivent être enregistrés. Les résidus (liés) non extractibles dans le sédiment doivent être notés à chaque temps de prélèvement.

2 **DONNÉES**

2.1 **TRAITEMENT DES RÉSULTATS**

Le bilan massique total ou la récupération (voir le paragraphe 1.7.1) de la radioactivité ajoutée doit être calculé à chaque temps de prélèvement. Les résultats doivent être transcrits en pourcentage de radioactivité ajoutée. La répartition de la radioactivité entre l'eau et le sédiment doit être transcrite sous la forme de concentration et de pourcentage, à chaque temps de prélèvement.

La demi-vie, les valeurs DT_{50} et, le cas échéant, DT_{75} et DT_{90} de la substance d'essai doivent être calculées avec leurs limites de confiance (voir le paragraphe 1.7.3). Différents outils d'évaluation permettent d'obtenir des informations sur le taux de dégradation de la substance d'essai dans l'eau et le sédiment. Il est possible d'appliquer des cinétiques du pseudo-premier ordre, des techniques d'interpolation empiriques utilisant des solutions graphiques ou numériques ou d'autres méthodes d'évaluation utilisant par exemple des modèles à un ou plusieurs compartiments. On trouvera plus de détails dans la littérature spécialisée (35)(36)(37).

⁶ Dans le cas où les produits de transformation anaérobie peuvent se ré-oxyder très rapidement, les conditions anaérobies doivent être maintenues pendant l'échantillonnage et l'analyse.

Toutes les méthodes ont leurs avantages et leurs inconvénients et leur complexité varie considérablement. L'hypothèse d'une cinétique du premier ordre peut être une simplification trop poussée des processus de dégradation et de répartition, mais cette hypothèse, lorsque c'est possible, donne un terme (la constante de vitesse ou la demi-vie) facilement compréhensible et très utile en modélisation par simulation et pour calculer les concentrations prévisibles dans l'environnement. Les méthodes empiriques ou les transformations linéaires peuvent produire une meilleure interpolation entre les courbes et les données et permettre ainsi une meilleure estimation des demi-vies, des valeurs DT_{50} et, le cas échéant, DT_{75} et DT_{90} . L'utilisation des constantes dérivées est toutefois limitée. Les modèles à compartiments servent à établir des constantes utiles pour l'évaluation des risques qui décrivent la vitesse de dégradation dans les différents compartiments et la répartition de la substance chimique. Ils doivent également être utilisés pour estimer les constantes de vitesse de formation et de dégradation des principaux produits de transformation. Dans tous les cas, la méthode choisie doit être justifiée et l'expérimentateur doit démontrer graphiquement et/ou statistiquement la qualité de l'ajustement.

3 **RAPPORT**

3.1 **RAPPORT D'ESSAI**

Le rapport doit comprendre les informations suivantes:

Substance d'essai:

- nom courant, nom chimique, numéro de fichier CAS, formule structurale (indiquant la position du marquage lorsqu'on utilise un produit radiomarqué) et propriétés physico-chimiques pertinentes;
- pureté (impuretés) de la substance d'essai ;
- pureté radiochimique de la substance marquée et activité molaire (s'il y a lieu).

Substances de référence:

- nom et structure chimique des substances de référence utilisées pour caractériser et/ou identifier les produits de transformation

Sédiments et eaux d'essai:

- localisation et description du (ou des) site(s) de prélèvement des sédiments aquatiques avec, si possible, l'historique de la contamination;
- toute information relative au prélèvement, au stockage (s'il y a lieu) et à l'acclimatation des systèmes eau-sédiment;
- caractéristiques des échantillons eau-sédiment telles qu'indiquées dans le tableau du paragraphe 1.8.2.2.

Conditions de l'essai:

- système d'essai utilisé (circulation continue, biomètre, mode de ventilation, méthode de remuage, volume d'eau, masse sédimentaire, épaisseur de la couche d'eau et de la couche de sédiment, dimension des récipients d'essai, etc.)
- application de la substance d'essai au système: concentration utilisée, nombre de réplicats et de témoins, mode d'application de la substance d'essai (usage éventuel de solvant), etc.
- température d'incubation;
- temps de prélèvement;
- méthodes d'extraction, rendements et limites de détection des méthodes analytiques;
- méthodes de caractérisation/identification des produits de transformation;

- modification du protocole d'essai ou des conditions de l'essai pendant l'étude.

Résultats:

- données brutes des analyses représentatives (toutes les données brutes doivent être conservées dans les archives BPL);
- reproductibilité et sensibilité des méthodes analytiques utilisées;
- taux de récupération (les % acceptables pour valider une étude sont présentés au paragraphe 1.7.1);
- tableaux des résultats exprimés en % de la dose appliquée et en $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ dans l'eau, le sédiment et le système total (% uniquement) de la substance d'essai et, s'il y a lieu, des produits de transformation et de la radioactivité non extractible;
- bilan massique pendant la durée et à la fin des expériences;
- représentation graphique de la transformation dans les fractions eau/sédiment et dans le système total (y compris la minéralisation);
- taux de minéralisation;
- durée de demi-vie, DT_{50} et, le cas échéant, valeurs DT_{75} et DT_{90} de la substance d'essai et, s'il y a lieu, des principaux produits de transformation comprenant les limites de confiance dans l'eau, le sédiment et dans le système total;
- une évaluation de la cinétique de transformation de la substance d'essai et, le cas échéant, des principaux produits de transformation;
- voie de transformation proposée, le cas échéant;
- discussion des résultats.

4

RÉFÉRENCES

- (1) BBA-Guidelines for the examination of plant protectors in the registration process. (1990). Part IV, Section 5-1: Degradability and fate of plant protectors in the water/sediment system. Germany.
- (2) Commission for registration of pesticides: Application for registration of a pesticide. (1991). Part G. Behaviour of the product and its metabolites in soil, water and air, Section G.2.1 (a). The Netherlands.
- (3) MAFF Pesticides Safety Directorate. (1992). Preliminary guideline for the conduct of biodegradability tests on pesticides in natural sediment/water systems. Ref No SC 9046. United-Kingdom.
- (4) Agriculture Canada: Environmental chemistry and fate. (1987). Guidelines for registration of pesticides in Canada. Aquatic (Laboratory) - Anaerobic and aerobic. Canada. pp 35-37.
- (5) US-EPA: Pesticide assessment guidelines, Subdivision N. Chemistry: Environmental fate (1982). Section 162-3, Anaerobic aquatic metabolism.
- (6) SETAC-Europe publication. (1995). Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides. Ed. Dr Mark R. Lynch. SETAC-Europe, Brussels.
- (7) OECD Test Guidelines Programme. (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/sediments, Belgirate, Italy, 18-20 January 1995.
- (8) ISO/DIS 5667-12. (1994). Water quality - Sampling - Part 12: Guidance on sampling of bottom sediments.
- (9) US-EPA (1998a). Sediment/water microcosm biodegradation test. Harmonised Test Guidelines (OPPTS 835.3180). EPA 712-C-98-080.
- (10) DFG: Pesticide Bound Residues in Soil. Wiley-VCH (1998).
- (11) T.R. Roberts: Non-extractable pesticide residues in soils and plants. Pure Appl. Chem. 56, 945-956 (IUPAC 1984).

- (12) OECD Test Guideline 304A: Inherent Biodegradability in Soil (adopted 12 May 1981).
- (13) OECD (1993): Guidelines for Testing of Chemicals. Paris. OECD (1994-2000): Addenda 6-11 to Guidelines for the Testing of Chemicals.
- (14) Scholz, K., Fritz R., Anderson C. and Spiteller M. (1988) Degradation of pesticides in an aquatic model ecosystem. BCPC - Pests and Diseases, 3B-4, 149-158.
- (15) Guth, J.A. (1981). Experimental approaches to studying the fate of pesticides in soil. In Progress in Pesticide Biochemistry (D.H. Hutson, T.R. Roberts, Eds.), Vol. 1, 85-114. J. Wiley & Sons.
- (16) Madsen, T., Kristensen, P. (1997). Effects of bacterial inoculation and non-ionic surfactants on degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. Environ. Toxicol. Chem. 16, 631-637.
- (17) Steber, J., Wierich, P. (1987). The anaerobic degradation of detergent range fatty alcohol ethoxylates. Studies with ¹⁴C-labelled model surfactants. Water Research 21, 661-667.
- (18) Black, C.A. (1965). Methods of Soil Analysis. Agronomy Monograph No. 9. American Society of Agronomy, Madison.
- (19) APHA (1989). Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (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 ¹⁴C-radiolabelled compounds under realistic anaerobic conditions. Environ. Sci. Technol. 30, 3597-3603.
- (33) US-EPA (1998b). Anaerobic biodegradability of organic chemicals. Harmonised Test Guidelines (OPPTS 835.3400). EPA 712-C-98-090.

- (34) Sijm, Haller 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.

ANNEXE I

INFORMATIONS SUR LES SYSTÈMES D'ESSAI AÉROBIES ET ANAÉROBIES

Système d'essai aérobie

Le système d'essai aérobie décrit dans la présente méthode d'essai se compose d'une couche d'eau aérobie (généralement la concentration d'oxygène varie entre 7 et 10 mg·l⁻¹) et une couche de sédiment, aérobie à la surface et anaérobie sous la surface (généralement, le potentiel redox moyen (E_h) dans la zone anaérobie du sédiment est situé entre -80 et -190 mV). On fait passer de l'air humide à la surface de l'eau dans chaque unité d'incubation afin de maintenir suffisamment d'oxygène dans l'espace libre.

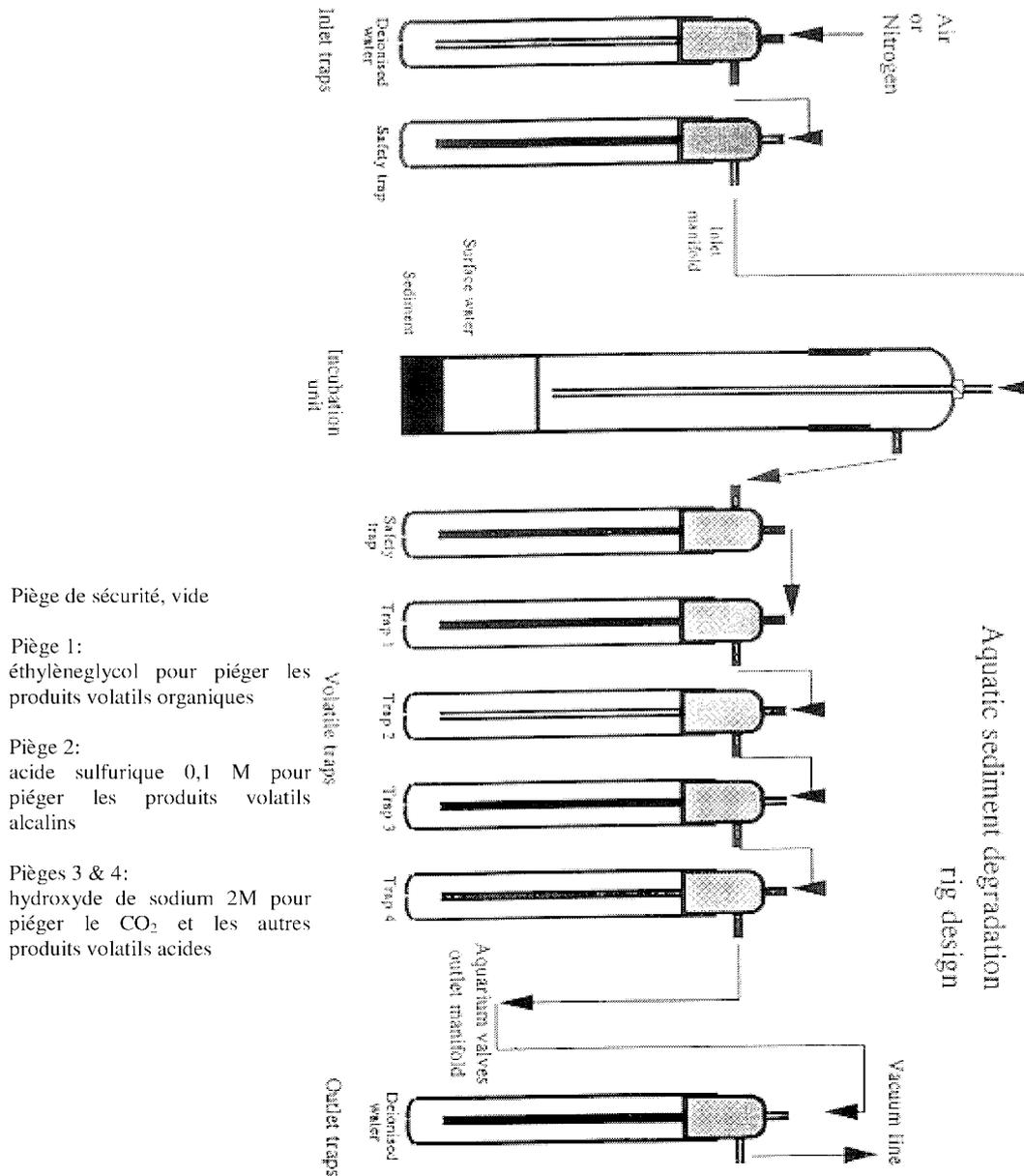
Système d'essai anaérobie

Dans le système d'essai anaérobie, la méthode d'essai est pratiquement la même que celle du système aérobie, à l'exception que l'on fait passer de l'azote humide à la surface de l'eau dans chaque unité d'incubation afin de maintenir un espace libre d'azote. Le sédiment et l'eau sont considérés comme anaérobies lorsque le potentiel redox (E_h) est inférieur à -100 mV.

Dans l'essai anaérobie, l'évaluation de la minéralisation comprend la mesure du dioxyde de carbone et du méthane dégagé.

ANNEXE 2

EXEMPLE D'APPAREIL À CIRCULATION CONTINUE



Légende Annexe 2:

Aquatic sediment degradation rig design: Agencement du montage de dégradation en sédiment aquatique

Air or nitrogen: Air ou azote

Vacuum line: Ligne de vide

Safety trap: Piège de sécurité

Sediment: Sédiment

Safety trap: Piège de sécurité

Aquarium valves outlet manifold: Tubulure de sortie à valves

Inlet traps: Pièges d'entrée

Inlet manifold: Tubulure d'entrée

Deionised water: Eau désionisée

Surface water: Eau de surface

Incubation unit: Unité d'incubation

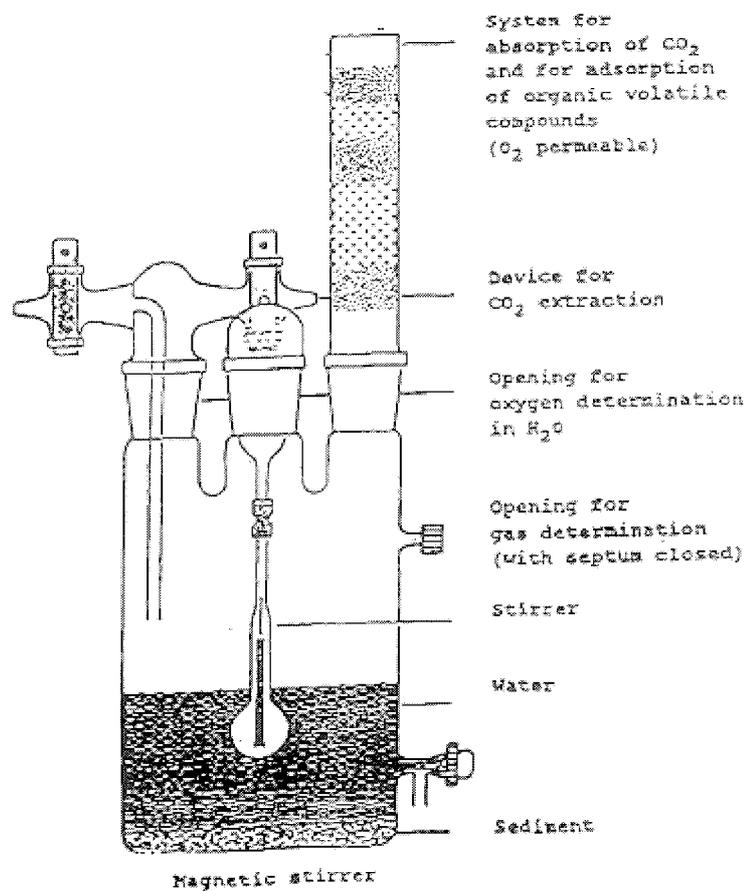
Volatile traps: Pièges à produits volatils

Aquarium valves outlet manifold: Tubulure de sortie à valves

Outlet traps: Piège de sortie

ANNEXE 3

EXEMPLE DE BIOMÈTRE



Légende Annexe 3:

Système d'absorption du CO₂ et d'adsorption des composés organiques volatils (perméable à l'oxygène)
 Dispositif d'extraction du CO₂
 Ouverture pour la détermination de l'oxygène dissous dans l'eau
 Ouverture pour l'analyse des gaz (septum fermé)
 Agitateur
 Eau
 Sédiment
 Agitateur magnétique

ANNEXE 4

EXEMPLE DE CALCUL DE LA DOSE À APPLIQUER AUX RÉCIPIENTS D'ESSAI

Diamètre interne du cylindre:	= 8 cm
Profondeur de la colonne d'eau excluant le sédiment:	= 12 cm
Surface: $3,142 \times 4^2$	= 50,3 cm ²
Taux d'application: 500 g de substance d'essai/ha correspondent à	5 µg/cm ²
Total en µg: $5 \times 50,3$	= 251,5 µg
Ajuster la quantité par rapport à la quantité correspondant à une profondeur de 100 cm:	
$12 \times 251,5 \div 100$	= 30,18 µg
Volume de la colonne d'eau: $50,3 \times 12$	= 603 ml
Concentration dans l'eau: $30,18 \div 603$	= 0,050 µg/ml ou 50 µg/l