

PRODUITS CHIMIQUES CANCÉROGÈNES, MUTAGÈNES, TOXIQUES POUR LA REPRODUCTION

CRITÈRES DE LA CLASSIFICATION EUROPÉENNE RÉGLEMENTAIRE, ÉLÉMENTS DE COMMUNICATION DES DANGERS

Règlement (CE) n° 1272/2008 du Parlement européen et du conseil du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) n° 1907/2006 – annexe I : prescriptions relatives à la classification et à l'étiquetage des substances et mélanges dangereux.

1 – Substances cancérogènes : trois catégories

Par « cancérogène », on entend une substance ou un mélange de substances chimiques qui induisent des cancers ou en augmentent l'incidence. Les substances qui ont provoqué des tumeurs bénignes et malignes chez des animaux au cours d'études expérimentales correctement réalisées sont aussi présumées cancérogènes ou susceptibles de l'être, sauf s'il apparaît clairement que le mécanisme de la formation des tumeurs n'est pas pertinent pour l'être humain.

1.1 – Définitions des catégories

Première catégorie

Cancérogènes avérés ou présumés pour l'être humain.

La classification d'une substance comme cancérogène dans la catégorie 1 s'effectue sur la base de données épidémiologiques et/ou de données issues d'études sur des animaux.

Catégorie 1A

Substances dont le potentiel cancérogène pour l'être humain est avéré.

La classification dans cette catégorie s'appuie largement sur des données humaines, un lien de causalité entre l'exposition humaine à une substance et l'apparition du cancer peut être établi.

Catégorie 1B

Substances dont le potentiel cancérogène pour l'être humain est supposé.

La classification dans cette catégorie s'appuie largement sur des données animales. Le pouvoir cancérogène sur les animaux peut être démontré.

Seconde Catégorie : Catégorie 2

Substances suspectées d'être cancérogènes pour l'homme.

La classification d'une substance dans la catégorie 2 repose sur des résultats provenant d'études humaines et/ou animales, mais insuffisamment convaincants pour classer la substance dans la catégorie 1A ou 1B.

1.2 – Communication des dangers

Le pictogramme SGH08 « danger pour la santé » s'applique quelle que soit la catégorie.

La mention d'avertissement *Danger* s'applique pour les catégories 1A et 1B. La mention d'avertissement *Attention* s'applique pour la catégorie 2.

La mention de danger H350 : *Peut provoquer le cancer* s'applique pour les catégories 1A et 1B.

La mention de danger H351 : *Susceptible de provoquer le cancer* s'applique pour la catégorie 2.

Pour toutes les catégories, la voie d'exposition doit compléter la mention de danger, uniquement s'il est formellement prouvé qu'aucune autre voie d'exposition ne conduit au même danger.

1.3 – Considérations spécifiques relatives à la classification de substances comme cancérigènes

La classification d'un cancérigène repose sur des données obtenues par des études fiables et acceptables et vise les substances intrinsèquement capables de provoquer le cancer. Les évaluations s'appuient sur toutes les données existantes, sur des études publiées ayant fait l'objet d'un examen par des pairs et sur d'autres données pouvant être acceptées.

La classification d'une substance comme cancérigène s'effectue en deux opérations connexes : l'évaluation de la force probante des données et l'examen de toutes les autres informations utiles en vue de classer dans différentes catégories de danger les substances ayant des propriétés cancérigènes pour l'être humain.

1.3.1 – Évaluation de la force probante des données

L'évaluation de la force probante des données implique le recensement des tumeurs révélées par les études humaines et animales, ainsi que l'établissement de leur degré de signification statistique. L'accumulation de preuves suffisantes sur l'être humain établit le lien de causalité entre l'exposition des êtres humains et l'apparition de cancers, tandis qu'un nombre suffisant de résultats positifs sur des animaux fait apparaître un lien de causalité entre l'action de la substance et l'incidence accrue des tumeurs. Une corrélation positive entre l'exposition humaine et les cancers constitue une indication, mais ne suffit pas à établir une relation de causalité. Une autre indication est fournie par les études animales lorsque leurs résultats donnent à penser qu'il existe un effet cancérigène, mais cette indication n'est pas suffisante. Les expressions « preuves suffisantes » et « indication » s'entendent au sens où elles ont été définies par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC), à savoir :

a) Cancérigénicité pour l'être humain

Les éléments qui attestent la cancérigénicité provenant d'études sur l'être humain sont classés dans l'une des deux catégories suivantes :

- Preuves suffisantes de cancérigénicité : un lien de causalité est établi entre l'exposition à l'agent et des cancers humains. En d'autres termes, une relation positive a été observée entre l'exposition et le cancer lors d'études dans lesquelles le hasard, les biais et les facteurs de confusion ont pu être exclus avec un degré de confiance raisonnable ;
- Indication de cancérigénicité : il a été observé entre l'exposition à l'agent et les cancers une corrélation positive telle que l'interprétation causale est considérée comme crédible, sans que le hasard, les biais et les facteurs de confusion ne puissent cependant être exclus avec un degré de confiance raisonnable.

b) Cancérigénicité chez des animaux de laboratoire

La cancérigénicité chez des animaux de laboratoire peut être évaluée au moyen d'essais biologiques conventionnels, d'essais biologiques sur des animaux génétiquement modifiés et d'autres essais biologiques *in vivo* centrés sur un ou plusieurs stades critiques de la cancérigénèse. En l'absence de données provenant d'essais biologiques conventionnels à long terme ou d'essais aboutissant à une néoplasie, des résultats régulièrement positifs dans plusieurs modèles traitant de plusieurs stades du processus multistade de cancérigénèse doivent être considérés en fonction de la force probante des données relatives à la cancérigénicité chez des animaux de laboratoire. Les éléments de preuve relatifs à la cancérigénicité chez des animaux de laboratoire sont classés dans l'une des deux catégories suivantes :

- preuves suffisantes de cancérigénicité : un lien de causalité est établi entre l'agent et une incidence accrue des néoplasmes malins ou d'une combinaison donnée de néoplasmes bénins et de néoplasmes malins dans (a) au moins deux espèces animales ou (b) au moins deux études indépendantes sur une espèce effectuées à des périodes différentes ou dans des laboratoires différents ou selon des protocoles différents. Une incidence accrue de tumeurs chez les deux sexes d'une même espèce dans une étude correctement réalisée, de préférence selon les bonnes pratiques de laboratoire, peut aussi être retenue comme un nombre suffisant de données. Une seule étude menée sur une seule espèce et un seul sexe peut être considérée comme fournissant des preuves suffisantes de cancérigénicité si des néoplasmes malins apparaissent à un degré inhabituel en ce qui concerne l'incidence, le site, le type de tumeur ou l'âge d'apparition, ou encore lorsque des tumeurs sont constatées en grand nombre sur de multiples sites ;
- indication de cancérigénicité : les données suggèrent un effet cancérigène mais sont trop limitées pour permettre une évaluation définitive, étant donné que, par exemple (a) les éléments attestant la cancérigénicité proviennent d'une seule expérimentation ; (b) des questions se posent encore au sujet de la pertinence de la conception, de la réalisation ou de l'interprétation des études ; (c) l'agent n'accroît que l'incidence des néoplasmes bénins ou que des lésions dont le potentiel néoplasique est incertain ; ou (d) les

éléments attestant la cancérogénicité proviennent uniquement d'études qui démontrent seulement une activité promotrice dans un nombre restreint de tissus ou d'organes.

1.3.2 – Autres considérations

Outre la détermination de la force probante des données relatives à la cancérogénicité, il convient de considérer plusieurs autres facteurs influençant la probabilité globale qu'une substance représente un effet cancérogène chez l'être humain. La liste complète des facteurs qui influencent cette probabilité serait très longue, mais certains des facteurs les plus importants sont examinés ici.

Ces facteurs peuvent accroître ou réduire les raisons de craindre un effet cancérogène chez l'être humain. Le poids relatif attribué à chaque facteur dépend de la quantité et de la cohérence des résultats qui se rapportent à chacun d'eux. Un complément d'information est généralement demandé en vue de calmer les inquiétudes plutôt que de les accroître. Des considérations supplémentaires doivent être examinées lorsque les conclusions concernant les tumeurs et les autres facteurs sont évaluées au cas par cas.

Certains facteurs importants qui peuvent être pris en considération lors de l'évaluation du niveau de risque général sont :

- a) le type de tumeur et l'incidence de base ;
- b) les effets sur des sites multiples ;
- c) l'évolution des lésions vers la malignité ;
- d) la réduction de la latence tumorale ;
- e) les effets apparaissant chez un seul des deux sexes ou les deux ;
- f) les effets touchant une seule espèce ou plusieurs ;
- g) l'existence d'une analogie de structure avec une ou plusieurs substances dont la cancérogénicité est bien attestée ;
- h) les voies d'exposition ;
- i) la comparaison de l'absorption, de la distribution, du métabolisme et de l'excrétion entre les animaux d'essai et les êtres humains ;
- j) la possibilité d'une toxicité excessive aux doses d'essai qui peut conduire à une interprétation erronée des résultats ;
- k) le mode d'action et sa pertinence pour l'être humain, par exemple la cytotoxicité avec stimulation de prolifération, la mitogénèse, l'immunosuppression et la mutagénicité.

Mutagénicité : il est établi que les phénomènes génétiques jouent un rôle central dans le processus général de développement du cancer. Aussi la mise en évidence d'une activité mutagène *in vivo* peut-elle être l'indication du potentiel cancérogène d'une substance.

Une substance dont la cancérogénicité n'a pas fait l'objet d'essais peut, dans certains cas, être classée dans la catégorie 1A, 1B ou 2, sur la base de données faisant état de tumeurs provoquées par un analogue de structure, largement étayées par d'autres éléments importants, telles que la formation de métabolites communs significatifs, par exemple ceux des colorants benzoïques.

Lors de la classification, il importe aussi de déterminer si la substance est absorbée par une ou plusieurs voies particulières, s'il n'existe que des tumeurs locales au site d'administration pour la ou les voies d'exposition ayant fait l'objet d'essais et si l'absence de cancérogénicité par d'autres voies importantes d'absorption est confirmée par des essais appropriés.

Il est important que toutes les connaissances disponibles au sujet des propriétés physico-chimiques, toxicocinétiques et toxicodynamiques des substances et toutes les informations pertinentes sur les analogues chimiques (relation structure-activité) soient prises en considération lors de la classification.

2 – Substances mutagènes sur les cellules germinales : trois catégories

Cette classe de danger englobe essentiellement les substances qui peuvent induire dans les cellules germinales humaines des mutations transmissibles à la descendance. Toutefois, les résultats des essais de mutagénicité ou de génotoxicité pratiqués *in vitro* et sur des cellules somatiques et germinales de mammifères *in vivo* sont également pris en compte pour la classification des substances et des mélanges dans cette classe de danger.

Par « mutation », on entend un changement permanent affectant la quantité ou la structure du matériel génétique d'une cellule. Le terme « mutation » désigne à la fois les changements génétiques héréditaires qui peuvent se manifester au niveau phénotypique et les modifications sous-jacentes de l'ADN lorsque celles-ci sont connues (y compris un changement portant sur une paire de bases déterminée ou des translocations chromosomiques). Le terme « mutagène » désigne les agents qui augmentent la fréquence des mutations dans des populations de cellules et/ou d'organismes.

Les termes plus généraux « génotoxique » et « génotoxicité » se réfèrent aux agents ou processus qui modifient la structure, le contenu informationnel ou la séparation de l'ADN, et notamment ceux qui endommagent l'ADN en interférant avec le processus normal de réplication ou qui altèrent sa réplication de façon non physiologique (temporaire). Les résultats des essais de génotoxicité servent généralement d'indicateurs pour les effets mutagènes.

2.1 – Définitions des catégories

Première catégorie

Substances dont la capacité d'induire des mutations héréditaires est avérée ou qui sont à considérer comme induisant des mutations héréditaires dans les cellules germinales des êtres humains.

Catégorie 1A

Substances dont la capacité d'induire des mutations héréditaires dans les cellules germinales des êtres humains est avérée.

La classification dans la catégorie 1A est fondée sur des résultats positifs provenant d'études épidémiologiques humaines.

Catégorie 1B

Substances à considérer comme induisant des mutations héréditaires dans les cellules germinales des êtres humains.

La classification en catégorie 1B est fondée :

- sur des essais *in vivo* de mutagénicité héréditaire sur des cellules germinales de mammifères qui ont donné un ou des résultats positifs ; ou
- sur des essais *in vivo* de mutagénicité sur des cellules somatiques de mammifères qui ont donné un ou des résultats positifs, et sur certains indices montrant que la substance peut provoquer des mutations dans les cellules germinales. Ces indices supplémentaires peuvent être dérivés d'essais de mutagénicité/génotoxicité sur des cellules germinales *in vivo*, ou de la démonstration que la substance ou ses métabolites sont capables d'interagir avec le matériel génétique des cellules germinales ; ou
- sur des essais qui ont montré que la substance a des effets mutagènes sur les cellules germinales humaines, sans que la transmission de ces mutations à la descendance n'ait été établie, par exemple, une augmentation de la fréquence de l'aneuploidie dans les spermatozoïdes des hommes exposés.

Seconde Catégorie : Catégorie 2

Substances préoccupantes du fait qu'elles pourraient induire des mutations héréditaires dans les cellules germinales des êtres humains.

La classification dans la catégorie 2 est fondée :

- sur les résultats positifs d'expériences menées sur des mammifères et/ou, dans certains cas, d'expériences *in vitro*, obtenus lors :
- d'essais *in vivo* de mutagénicité sur des cellules somatiques de mammifères ; ou
- d'autres essais *in vivo* de génotoxicité sur des cellules somatiques, étayés par des résultats positifs provenant d'autres essais de mutagénicité *in vitro*.

Note : on envisagera de classer comme agents mutagènes de la catégorie 2, les substances qui donnent des résultats positifs lors d'essais *in vitro* de mutagenicité sur des cellules de mammifères et qui présentent une analogie quant à la relation structure-activité avec des agents mutagènes connus des cellules germinales.

2.2 – Communication des dangers

Le pictogramme SGH08 « danger pour la santé » s'applique quelle que soit la catégorie.

La mention d'avertissement « Danger » s'applique pour les catégories 1A et 1B. La mention d'avertissement « Attention » s'applique pour la catégorie 2.

La mention de danger H340 : *Peut induire des anomalies génétiques* s'applique pour les catégories 1A et 1B.

La mention de danger H341 : *Susceptible d'induire des anomalies génétiques* s'applique pour la catégorie 2.

Pour toutes les catégories, la voie d'exposition doit compléter la mention de danger, uniquement s'il est formellement prouvé qu'aucune autre voie d'exposition ne conduit au même danger.

2.3 – Considérations particulières relatives à la classification de substances comme agents mutagènes sur les cellules germinales

La classification s'appuie sur les résultats d'essais visant à déterminer les effets mutagènes et/ou génotoxiques sur des cellules germinales et/ou somatiques des animaux exposés. Les effets mutagènes et/ou génotoxiques révélés par des essais *in vitro* peuvent également être pris en considération.

Ce système repose sur la notion de danger et classe les substances en fonction de leur capacité intrinsèque d'induire des mutations dans les cellules germinales. Il ne convient donc pas à l'évaluation (quantitative) du risque associé aux substances chimiques.

La classification des substances pour leurs effets héréditaires sur les cellules germinales humaines repose sur des essais correctement réalisés et dûment validés, de préférence conformes au règlement (CE) n° 440/2008 (« règlement relatif aux méthodes d'essai ») adopté conformément à l'article 13, paragraphe 3, du règlement (CE) n° 1907/2006, tels que ceux qui sont énumérés dans les paragraphes suivants. L'évaluation des résultats des essais fait appel au jugement d'experts et la classification est fondée sur le poids respectif de toutes les données disponibles.

Essais possibles :

- Essais *in vivo* de mutagenicité héréditaire sur des cellules germinales, tels que :
 - Essai de mutation létale dominante chez le rongeur ;
 - Essai de translocation héréditaire chez la souris.
- Essais *in vivo* de mutagenicité sur des cellules somatiques, tels que :
 - Essai d'aberration chromosomique sur moelle osseuse de mammifère ;
 - Spot test sur la souris ;
 - Essai du micronoyau sur érythrocytes de mammifère.
- Essais de mutagenicité/génotoxicité sur des cellules germinales, tels que :
 - Essais de mutagenicité :
 - Essai d'aberration chromosomique sur spermatogonies de mammifère ;
 - Essai sur les micronoyaux des spermatides ;
 - Essais de génotoxicité :
 - Analyse des échanges de chromatides sœurs sur spermatogonies ;
 - Essai de synthèse non programmée de l'ADN (UDS) sur cellules testiculaires.
- Essais de génotoxicité sur des cellules somatiques, tels que :
 - Essai *in vivo* de synthèse non programmée de l'ADN (UDS) sur cellules hépatiques ;
 - Échanges de chromatides sœurs (SCE) sur moelle osseuse de mammifère.
- Essais de mutagenicité *in vitro*, tels que :
 - Essai *in vitro* d'aberration chromosomique sur cellule de mammifère ;
 - Essai *in vitro* de mutation génique sur cellules de mammifère ;
 - Essais bactériens de mutation réverse.

Chaque substance est classée par jugement d'experts en fonction du poids respectif de l'ensemble des données disponibles. Si la classification repose sur un seul essai correctement réalisé, celui-ci doit avoir livré des résultats positifs clairs et sans équivoque.

De nouveaux essais correctement validés peuvent eux aussi figurer dans l'ensemble des données disponibles à prendre en considération. Il convient également de prendre en compte la pertinence de la voie d'exposition retenue lors de l'étude sur la substance au regard de la voie d'exposition sur l'être humain.

2.4 – Autres considérations relatives à la classification

Il est de plus en largement admis que le processus de genèse des tumeurs induit chez l'être humain et chez l'animal par des substances chimiques met en jeu des modifications génétiques, par exemple dans les protooncogènes et/ou dans les gènes suppresseurs de tumeurs des cellules somatiques. Par conséquent, la démonstration des propriétés mutagènes de substances dans les cellules somatiques ou germinales de mammifères *in vivo* peut avoir des implications pour la classification potentielle de ces substances comme cancérigènes.

3 – Substances toxiques pour la reproduction : deux différenciations

La « toxicité pour la reproduction » se traduit par des effets néfastes sur la fonction sexuelle et la fertilité des hommes et des femmes adultes, ainsi que par des effets indésirables sur le développement de leurs descendants.

Différenciation « effets néfastes sur la fonction sexuelle et la fertilité, ou sur le développement »

- *Effets néfastes sur la fonction sexuelle et la fertilité.*
Il s'agit de tout effet d'une substance capable d'interférer avec la fonction sexuelle et la fertilité. Ceci englobe notamment les altérations du système reproducteur mâle ou femelle, les effets néfastes sur le commencement de la puberté, sur la production et le transport de gamètes, sur le déroulement normal du cycle reproducteur, sur le comportement sexuel, sur la fertilité et la parturition, sur les résultats de la gestation, sur la sénescence reproductive prématurée, ou sur des modifications d'autres fonctions qui dépendent de l'intégrité du système reproducteur.
- *Effets néfastes sur le développement des descendants.*
La toxicité pour le développement désigne, au sens le plus large, tous les effets interférant avec le développement normal de l'organisme conçu, avant ou après sa naissance, et qui résultent soit de l'exposition d'un des deux parents avant la conception, ou de l'exposition des descendants au cours de leur développement prénatal ou postnatal, jusqu'à la maturité sexuelle. On considère cependant que la classification de substances dans la catégorie de danger « toxicité pour le développement » vise principalement à mettre en garde les femmes enceintes, ainsi que les hommes et les femmes en âge de procréer. Aussi, pour des raisons pratiques de classification, la toxicité pour le développement désigne essentiellement les effets néfastes induits durant la grossesse ou à la suite de l'exposition des parents. Ces effets peuvent apparaître à n'importe quel stade de la vie de l'organisme. Les principales manifestations de la toxicité pour le développement sont 1) la mort de l'organisme en développement, 2) les anomalies structurelles, 3) les défauts de croissance et 4) les déficiences fonctionnelles.

Différenciation « effets sur ou via l'allaitement »

Les effets néfastes sur ou via l'allaitement peuvent être inclus dans la toxicité pour la reproduction, mais ils sont traités séparément. Il est en effet souhaitable de pouvoir classer des substances spécifiquement en fonction d'un effet indésirable sur l'allaitement afin d'attirer l'attention des femmes allaitantes sur cet effet particulier.

Relation avec la classification « Mutagenicité sur les cellules germinales »

En ce qui concerne la classification, les effets génétiques héréditaires observés chez la descendance sont évoqués à la section *Mutagenicité sur les cellules germinales* car, en l'état actuel du système de classification, il est jugé plus approprié de traiter ces effets dans une catégorie de danger distincte : la mutagenicité sur les cellules germinales.

3.1 – Définitions des catégories

3.1.1 – Différenciation « effets néfastes sur la fonction sexuelle et la fertilité, ou sur le développement »

Première catégorie

Substances avérées ou présumées toxiques pour la reproduction humaine

Une substance est classée dans la catégorie 1 quand il est avéré qu'elle a des effets néfastes sur la fonction sexuelle et la fertilité ou le développement des êtres humains ou s'il existe des données provenant d'études animales, éventuellement étayées par d'autres informations, donnant fortement à penser que la substance est capable d'interférer avec la reproduction humaine. Il est possible de faire une distinction supplémentaire, selon que les données ayant servi à la classification de la substance proviennent surtout d'études humaines (catégorie 1A) ou d'études animales (catégorie 1B).

Catégorie 1A

Substances dont la toxicité pour la reproduction humaine est avérée

La classification d'une substance dans la catégorie 1A s'appuie largement sur des études humaines.

Catégorie 1B

Substances présumées toxiques pour la reproduction humaine

La classification d'une substance dans la catégorie 1B s'appuie largement sur des données provenant d'études animales. Ces données doivent démontrer clairement un effet néfaste sur la fonction sexuelle et la fertilité ou sur le développement en l'absence d'autres effets toxiques, ou, si d'autres effets toxiques sont observés, que l'effet toxique sur la reproduction n'est pas considéré comme une conséquence secondaire non spécifique à ces autres effets toxiques.

Toutefois, s'il existe des informations relatives au mécanisme des effets et mettant en doute la pertinence de l'effet pour l'être humain, une classification dans la catégorie 2 peut être plus appropriée.

Seconde Catégorie : Catégorie 2

Substances suspectées d'être toxiques pour la reproduction humaine

Une substance est classée dans la catégorie 2 quand des études humaines ou animales ont donné des résultats — éventuellement étayés par d'autres informations — qui ne sont pas suffisamment probants pour justifier une classification de la substance dans la catégorie 1, mais qui font apparaître un effet indésirable sur la fonction sexuelle et la fertilité ou sur le développement. Une étude peut comporter certaines failles rendant les résultats moins probants, auquel cas une classification dans la catégorie 2 pourrait être préférable.

Ces effets doivent avoir été observés en l'absence d'autres effets toxiques ou, si d'autres effets toxiques sont observés, il est considéré que l'effet toxique sur la reproduction n'est pas une conséquence secondaire non spécifique à ces autres effets toxiques.

3.1.2 – Différenciation « effets sur ou via l'allaitement »

Catégorie supplémentaire effets sur ou via l'allaitement

Les effets sur ou via l'allaitement sont regroupés dans une catégorie distincte. Il est reconnu que, pour de nombreuses substances, les informations relatives aux effets néfastes potentiels sur la descendance via l'allaitement sont lacunaires. Cependant, les substances dont l'incidence sur l'allaitement a été démontrée ou qui peuvent être présentes (y compris leurs métabolites) dans le lait maternel en quantités suffisantes pour menacer la santé du nourrisson, sont classées et étiquetées en vue d'indiquer le danger qu'elles représentent pour les enfants nourris au sein. Cette classification peut s'appuyer sur :

- a) des résultats d'études menées sur des êtres humains, montrant qu'il existe un danger pour les bébés durant la période de l'allaitement ; et/ou
- b) des résultats d'études menées sur une ou deux générations d'animaux, démontrant sans équivoque l'existence d'effets néfastes sur les descendants, transmis par le lait, ou d'effets néfastes sur la qualité du lait ; et/ou
- c) des études sur l'absorption, le métabolisme, la distribution et l'excrétion, indiquant que la substance est probablement présente à des teneurs potentiellement toxiques dans le lait maternel.

3.2 – Communication des dangers

3.2.1 – Différenciation « effets néfastes sur la fonction sexuelle et la fertilité, ou sur le développement »

Le pictogramme SGH08 « danger pour la santé » s'applique quelle que soit la catégorie.

La mention d'avertissement « Danger » s'applique pour les catégories 1A et 1B. La mention d'avertissement « Attention » s'applique pour la catégorie 2.

La mention de danger H360 : *Peut nuire à la fertilité ou au fœtus* (indiquer l'effet spécifique s'il est connu) s'applique pour les catégories 1A et 1B.

La mention de danger H361 : *Susceptible de nuire à la fertilité ou au fœtus* (indiquer l'effet spécifique s'il est connu) s'applique pour la catégorie 2.

Pour toutes les catégories, la voie d'exposition doit compléter la mention de danger, uniquement s'il est formellement prouvé qu'aucune autre voie d'exposition ne conduit au même danger.

3.2.2 – Différenciation « effets sur ou via l'allaitement »

Aucun pictogramme ne s'applique pour cette catégorie.

Aucune mention d'avertissement ne s'applique pour cette catégorie.

La mention de danger H362 : *Peut être nocif pour les bébés nourris au lait maternel* s'applique pour cette catégorie.

3.3 – Considérations particulières relatives à la classification de substances comme agents toxiques pour la reproduction

La classification repose sur des critères appropriés, décrits ci-dessus, et sur une évaluation de la force probante de l'ensemble des données. La classification d'une substance comme toxique pour la reproduction s'applique aux substances qui possèdent la propriété intrinsèque de nuire spécifiquement à la reproduction. Les substances qui ne produisent cet effet que comme conséquence secondaire et non spécifique d'autres effets toxiques ne sont pas classées dans cette catégorie.

La classification d'une substance est dérivée des catégories de danger selon l'ordre de priorité suivant : catégorie 1A, catégorie 1B, catégorie 2 et catégorie supplémentaire relative aux effets sur ou via l'allaitement.

Si une substance remplit les critères de la classification dans l'une et l'autre catégorie principale (par exemple la catégorie 1B relative aux effets sur la fonction sexuelle et la fertilité ainsi que la catégorie 2 relative au développement), les deux différenciations de danger figurent sur l'une ou l'autre mention de danger. La classification dans la catégorie supplémentaire des effets sur ou via l'allaitement est considérée indépendamment d'une classification dans la catégorie 1A, la catégorie 1B ou la catégorie 2.

Lors de l'évaluation des effets toxiques sur la descendance en développement, il importe de tenir compte de l'influence possible de la toxicité maternelle.

Pour qu'une substance soit classée dans la catégorie 1A essentiellement sur la base d'études humaines, il est nécessaire de disposer de résultats fiables montrant un effet néfaste sur la reproduction humaine. Les résultats utilisés aux fins de la classification proviennent de préférence d'études épidémiologiques correctement réalisées, incluant des témoins appropriés et ayant fait l'objet d'une évaluation équilibrée au cours de laquelle

il a été dûment tenu compte des causes de biais et des facteurs de confusion éventuels. Les résultats d'études humaines obtenus dans des conditions moins rigoureuses doivent être étayés par des données adéquates provenant d'études sur des animaux de laboratoire et peuvent, le cas échéant, donner lieu à une classification dans la catégorie 1B.

3.3.1 – Force probante des données

La classification d'une substance comme toxique pour la reproduction repose sur l'évaluation de la force probante de l'ensemble des données. Autrement dit, toutes les informations disponibles contribuant à la détermination de la toxicité pour la reproduction, telles que des études épidémiologiques et des études de cas concernant l'espèce humaine, des études portant spécifiquement sur la reproduction, ainsi que des études subchroniques, chroniques et spéciales sur des animaux, fournissant des résultats pertinents sur la toxicité pour les organes reproducteurs et le système endocrinien connexe, sont examinées conjointement.

L'évaluation de substances analogues chimiquement à la substance étudiée peut aussi être prise en compte pour la classification, surtout lorsque les informations sur la substance étudiée sont rares. Le poids attribué aux données disponibles est influencé par des facteurs tels que la qualité des études, la cohérence des résultats, la nature et la

gravité des effets, la présence d'une toxicité maternelle dans les études sur des animaux de laboratoire, le degré de signification statistique des différences intergroupes, le nombre d'effets observés, la pertinence de la voie d'administration pour l'être humain et l'absence de biais. La détermination de la force probante des données se fonde sur les résultats tant positifs que négatifs, qui sont traités conjointement. Des résultats positifs, statistiquement ou biologiquement significatifs, et provenant d'une seule étude positive réalisée selon des principes scientifiques valables, peuvent justifier la classification

Des études toxicocinétiques réalisées sur des animaux et des êtres humains, des résultats d'études concernant le site d'action et le mécanisme ou le mode d'action peuvent fournir des informations utiles, diminuant ou renforçant la crainte d'un danger pour la santé humaine. S'il est possible de démontrer formellement que le mécanisme ou le mode d'action clairement identifié n'est pas transposable à l'être humain ou si les différences toxicocinétiques sont à ce point marquées qu'il est certain que la propriété toxique ne s'exercera pas chez l'être humain, une substance produisant un effet néfaste sur la reproduction d'animaux de laboratoire n'est pas classée.

Si certaines études de toxicité pour la reproduction réalisées sur des animaux ne révèlent que des effets dont la signification toxicologique est considérée comme faible ou minime, ces effets ne débouchent pas nécessairement sur une classification. Il peut s'agir de légères modifications des paramètres relatifs au sperme, de l'incidence des anomalies spontanées des fœtus, de la proportion des variations foetales courantes observées au cours des examens du squelette ou des poids foetaux, ou encore de légères divergences entre les évaluations du développement postnatal.

Idéalement, les données provenant d'études animales mettent clairement en évidence des effets toxiques touchant spécifiquement la reproduction en l'absence d'autres effets toxiques systémiques. Cependant, si la toxicité pour le développement survient conjointement à d'autres effets toxiques sur la mère, l'influence potentielle des effets néfastes généralisés est appréciée dans la mesure du possible. Pour déterminer la force probante des données, il est conseillé d'examiner d'abord les effets nocifs sur l'embryon ou le fœtus et d'évaluer ensuite la toxicité maternelle, parallèlement à tous les autres facteurs qui pourraient avoir influencé ces effets. En général, les effets sur le développement qui sont observés à des doses toxiques pour la mère ne doivent pas être négligés systématiquement. Ils ne peuvent l'être qu'au cas par cas lorsqu'une relation de causalité est établie ou exclue.

Si l'on dispose d'informations appropriées, il importe de chercher à déterminer si la toxicité pour le développement est due à un mécanisme transmis par la mère et propre à celle-ci ou à un mécanisme secondaire non spécifique, tel que le stress maternel ou une rupture d'homéostasie. D'une manière générale, la présence d'une toxicité maternelle ne doit pas être un argument pour écarter les effets observés sur l'embryon ou le fœtus, sauf s'il est possible de démontrer clairement que les effets sont secondaires et non spécifiques.

C'est le cas notamment lorsque les effets sur la descendance sont notables, par exemple quand il s'agit d'effets irréversibles, tels que des malformations structurelles. Dans certaines situations, il peut être supposé que la toxicité pour la reproduction est une conséquence secondaire de la toxicité maternelle et de ne pas tenir compte des effets toxiques pour la reproduction, si la substance est tellement toxique que les mères sont très affaiblies et souffrent d'inanition grave, qu'elles sont incapables de nourrir leurs petits ou qu'elles sont prostrées ou moribondes.

3.3.2 Toxicité maternelle

Le développement des descendants tout au long de la gestation et aux premiers stades postnatals peut être influencé par des effets toxiques s'exerçant sur la mère, soit à travers des mécanismes non spécifiques liés au stress et à la rupture de l'homéostasie de la mère, soit à travers des mécanismes propres à la mère et dont celle-ci est le vecteur. Lorsqu'on interprète le résultat du développement en vue d'une classification dans la catégorie «effets sur le développement», il importe d'étudier l'influence possible de la toxicité maternelle.

Cette question est complexe en raison des incertitudes qui entourent la relation entre la toxicité maternelle et ses conséquences sur le développement. Elle doit être tranchée par jugement d'experts et par la détermination de la force probante de l'ensemble des études disponibles afin d'établir le degré d'influence attribuable à la toxicité maternelle, lors de l'interprétation des critères de classification d'une substance comme ayant des effets sur le développement. Lors de la détermination de la force probante des données en vue de la classification, on examine d'abord les effets néfastes sur l'embryon ou le fœtus, ensuite la toxicité maternelle, parallèlement à tous les autres facteurs susceptibles d'avoir influencé ces effets.

L'observation pragmatique montre que la toxicité maternelle peut, selon sa gravité, influencer le développement à travers des mécanismes secondaires non spécifiques et produire des effets tels qu'une diminution du poids foetal, un retard d'ossification et éventuellement, dans certaines souches de certaines espèces, des résorptions et des malformations. Toutefois, le nombre limité d'études sur la relation entre les effets sur le développement et la toxicité générale pour la mère n'a pas permis de démontrer l'existence d'une relation constante et reproductible à travers les différentes espèces. Même s'ils surviennent en présence d'une toxicité maternelle, les effets sur le développement sont considérés comme un symptôme de toxicité pour le développement, sauf s'il peut être établi sans équivoque,

en procédant au cas par cas, que ces effets sur le développement sont une conséquence secondaire de la toxicité maternelle. En outre, il convient d'envisager une classification de la substance si l'on observe un effet toxique majeur sur la descendance, par exemple des effets irréversibles tels que des malformations structurelles, la létalité de l'embryon ou du fœtus, ou d'importantes déficiences fonctionnelles postnatales.

Les substances qui n'induisent une toxicité pour le développement qu'en association avec la toxicité maternelle ne doivent pas être systématiquement écartées de la classification, même si un mécanisme transmis par la mère et propre à celle-ci a été mis en évidence. Dans ce cas, une classification dans la catégorie 2 au lieu de la catégorie 1 peut être envisagée. Toutefois, si la substance est toxique au point qu'elle entraîne la mort de la mère ou une inanition grave, ou que les mères sont prostrées et incapables de nourrir leurs petits, il est raisonnable de supposer que la toxicité pour le développement n'est qu'une conséquence secondaire de la toxicité maternelle et de ne pas tenir compte des effets sur le développement. Des variations mineures du développement, et une faible réduction du poids des fœtus ou des petits, ou un retard d'ossification, observées en association avec une toxicité maternelle, ne débouchent pas nécessairement à eux seuls sur la classification de la substance.

Certaines observations utilisées pour évaluer les effets maternels sont reprises ci-dessous. Si elles sont disponibles, les données relatives à ces effets doivent être évaluées à la lumière de leur signification statistique ou biologique et de la relation dose-effet.

- Mortalité maternelle : un accroissement de la fréquence de mortalité des mères traitées par rapport au groupe témoin doit être considéré comme un signe de toxicité maternelle si l'accroissement est proportionnel à la dose et peut être attribué à la toxicité systémique de la substance d'essai. Une mortalité maternelle supérieure à 10 % est considérée comme excessive et les données relatives à cette dose ne doivent normalement pas être évaluées plus avant.
- Indice d'accouplement (nombre d'animaux présentant un bouchon vaginal ou des traces de sperme/nombre d'animaux accouplés × 100) (Il est admis que les indices d'accouplement et de fertilité peuvent aussi être influencés par le mâle).
- Indice de fertilité (nombre de femelles avec implantation/nombre d'accouplements × 100).
- Durée de la gestation (si les femelles ont eu la possibilité de mettre bas).
- Poids corporel et variation du poids corporel : la variation et/ou l'ajustement (la correction) du poids corporel maternel doivent être pris en compte dans l'évaluation de la toxicité pour la mère, lorsque ces données sont disponibles. Le calcul de la variation du poids corporel maternel moyen ajusté (corrigé), qui correspond à l'écart entre le poids corporel initial et le poids final, diminué du poids de l'utérus gravide (ou la somme des poids des fœtus), peut indiquer soit un effet maternel, soit un effet intra-utérin. Chez les lapins, l'augmentation du poids corporel risque de ne pas être un bon indicateur de la toxicité maternelle, en raison de la fluctuation naturelle du poids corporel des femelles gestantes.
- Consommation de nourriture et d'eau (si ce paramètre est pertinent) : l'observation d'une diminution sensible de la consommation moyenne de nourriture ou d'eau chez les femelles traitées en comparaison avec les témoins est utile lors de l'évaluation de la toxicité maternelle, notamment si la substance d'essai est administrée par le biais du régime alimentaire ou de l'eau de boisson. Les variations de la prise d'eau ou de nourriture doivent être évaluées conjointement aux poids corporels maternels lorsqu'il s'agit de déterminer si les effets observés reflètent une toxicité maternelle ou, tout simplement, une inappétence pour la substance d'essai présente dans la nourriture ou l'eau.
- Évaluations cliniques (signes cliniques, marqueurs, hématologie et études de chimie clinique) : lors de l'évaluation de la toxicité maternelle, il peut être utile d'observer si la fréquence des signes cliniques importants de toxicité s'accroît chez les mères traitées par rapport au groupe témoin. Si cette observation est destinée à servir de base à l'évaluation de la toxicité pour la mère, les types, la fréquence, le degré et la durée des signes cliniques sont consignés dans l'étude. Les signes cliniques de toxicité maternelle incluent le coma, la prostration, l'hyperactivité, la perte du réflexe de redressement, l'ataxie ou la respiration difficile.
- Données post mortem : une augmentation de la fréquence et/ou de la gravité des observations post mortem peut indiquer une toxicité maternelle. Il peut s'agir de résultats d'examen pathologiques macroscopiques ou microscopiques, ou de données relatives au poids des organes, notamment du poids absolu des organes, du poids des organes rapporté au poids du corps ou du poids des organes rapporté au poids du cerveau. Si elle s'accompagne d'effets histopathologiques sur l'organe ou les organes touchés, une variation sensible du poids moyen du ou des organes suspectés d'être affectés par la substance d'essai chez les mères traitées, par rapport à ceux du groupe témoin, peut être considérée comme un signe de toxicité maternelle.

3.3.3 – Données animales et expérimentales

Il existe plusieurs méthodes d'essai acceptées à l'échelon international, comprenant les méthodes d'essai de toxicité pour le développement (par exemple la ligne directrice de l'OCDE n° 414) et des méthodes d'essai de toxicité sur une ou deux générations (par exemple les lignes directrices de l'OCDE n° 415 et 416).

Les résultats des essais de dépistage (par exemple la ligne directrice de l'OCDE n° 421 – *Essai de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement*, et la ligne directrice de l'OCDE n° 422 – *Étude combinée de toxicité à doses répétées et de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement*) peuvent aussi être utilisés pour justifier la classification, bien qu'il soit admis que la qualité de ces indications est moins fiable que celle de résultats d'études complètes.

Les effets ou les variations indésirables, observés lors d'études de toxicité à doses répétées à court ou à long terme, qui sont jugés susceptibles de nuire à la fonction reproductive et qui apparaissent en l'absence d'une toxicité généralisée importante, par exemple des variations histopathologiques touchant les gonades, peuvent servir de base à la classification.

Les indices provenant d'essais *in vitro* ou d'essais pratiqués sur des espèces non mammifères, ou de données sur la relation structure-activité de substances analogues peuvent être pris en compte aux fins de la classification. Dans tous les cas de cette nature, la pertinence des données doit être évaluée par jugement d'experts. La classification ne doit en aucun cas s'appuyer essentiellement sur des données inappropriées.

Il est préférable que les voies d'administration choisies lors des études animales soient en rapport avec la voie d'exposition potentielle des êtres humains à la substance. Cela dit, en pratique, les études relatives à la toxicité pour la reproduction sont habituellement conduites par voie orale et se prêtent normalement à l'évaluation des propriétés toxiques de la substance à l'égard de la reproduction. Toutefois, s'il peut être démontré formellement que le mécanisme ou mode d'action clairement identifié ne s'applique pas à l'être humain ou si les différences toxicocinétiques sont à ce point marquées qu'il est certain que la propriété toxique ne s'exprimera pas chez l'être humain, il n'y a pas lieu de classer une substance qui produit un effet néfaste pour la reproduction chez les animaux de laboratoire.

Les études impliquant des voies d'administration telles qu'une injection intraveineuse ou intrapéritonéale, qui entraînent une exposition des organes reproducteurs à des niveaux irréalistes de la substance d'essai ou de léser localement ces organes, notamment par irritation, doivent être interprétées avec une extrême prudence et ne servent normalement pas, à elles seules, de base à la classification.

Il existe un accord général quant au concept de dose limite au-delà de laquelle l'apparition d'un effet néfaste est considérée comme sortant des critères qui conduisent à la classification, mais non quant à l'inclusion dans les critères d'une dose limite précise. Certaines lignes directrices relatives aux méthodes d'essai fixent cependant une dose limite précise, alors que d'autres indiquent que des doses plus élevées peuvent être nécessaires si l'exposition humaine anticipée est telle qu'une gamme adéquate de doses d'exposition n'est pas atteinte. De plus, en raison des différences de toxicocinétique entre espèces, l'établissement d'une dose limite précise peut ne pas convenir à des situations où l'être humain est plus sensible que le modèle animal.

En principe, les effets néfastes pour la reproduction qui ne sont observés qu'à des doses très élevées dans les études sur des animaux (par exemple des doses qui ont un effet de prostration, d'inappétence grave, de mortalité excessive) ne mèneraient normalement pas à une classification, sauf si d'autres informations, par exemple des données toxicocinétiques, indiquant que l'être humain peut être plus sensible que l'animal et qu'il y a lieu de procéder à la classification, sont disponibles. Des indications supplémentaires figurent dans le point relatif à la toxicité maternelle.

Cependant, la fixation de la « dose limite » réelle dépendra de la méthode d'essai qui a été appliquée pour obtenir les résultats, par exemple la ligne directrice pour les essais de l'OCDE recommande comme dose limite pour l'étude de toxicité à doses répétées par voie orale une dose maximale de 1 000 mg/kg, sauf si la réaction attendue chez l'homme justifie une dose plus élevée.

4 – Procédure de classification des mélanges en ce qui concerne les effets cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction

4.1 – Classification lorsqu'il existe des données sur tous les composants ou sur certains d'entre eux

Le mélange est classé dans l'une des catégories de danger cancérigène et/ou mutagène sur les cellules germinales et/ou toxique pour la reproduction s'il contient au moins un composant classé à une concentration égale ou supérieure :

- soit à la limite de concentration spécifique figurant à l'annexe VI du règlement (CE) n° 1272/2008 pour la ou les substances considérées.
- soit à la limite de concentration générique figurant dans les tableaux *ad hoc* de l'annexe I du règlement (CE) n° 1272/2008 lorsque la ou les substances ne figurent pas à l'annexe VI du même règlement ou qu'elles y figurent sans limites de concentration spécifique.

Ces tableaux sont respectivement :

- Le tableau 3.6.2 pour les limites de concentration génériques des composants d'un mélange classés comme agents cancérigènes, qui déterminent la classification du mélange.
- Le tableau 3.5.2 pour les limites de concentration génériques des composants d'un mélange, classés comme agents mutagènes des cellules germinales, qui déterminent la classification du mélange.
- Le tableau 3.7.2 pour les limites de concentration génériques des composants d'un mélange classés comme toxiques pour la reproduction ou en raison de leurs effets sur ou via l'allaitement, qui déterminent la classification du mélange.

4.2 – Classification lorsqu'il existe des données sur le mélange comme tel

La classification des mélanges se fonde sur les données d'essais disponibles sur les différents composants du mélange, en appliquant des limites de concentration des composants classés. Des données d'essai sur les mélanges sont utilisées au cas par cas en vue de la classification, lorsqu'elles font apparaître des effets que l'évaluation fondée sur les composants individuels n'a pas permis d'observer. Dans ces cas-là, le caractère probant des résultats d'essais relatifs au mélange doit être démontré en tenant compte de la dose et d'autres facteurs, tels que la durée, les observations et l'analyse des systèmes d'essai portant sur l'effet en cause. Les documents justifiant la classification sont conservés pour pouvoir être examinés par quiconque en ferait la demande.

4.3 – Classification lorsqu'il n'existe pas de données sur le mélange comme tel : principes d'extrapolation

Si l'effet néfaste du mélange n'a pas fait l'objet d'essais, mais qu'il existe suffisamment de données sur les composants pris séparément et sur des essais réalisés avec des mélanges similaires (sous réserve du point précédent) pour caractériser valablement les dangers du mélange, ces données sont exploitées conformément aux règles d'extrapolation applicables, exposées au point 1.1.3 de l'annexe I du règlement (CE) n° 1272/2008.

