

# AValiação Toxicológica de Filmes de látex de Borracha Natural Vulcanizado com Radiação Ionizante

Vânia E. Campos\*, Seico Hanada\*\*, Olga Z. Higa\* e Selma M. L. Guedes\*

\*Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Radiobiologia  
Travessa R, 400 - Cidade Universitária - CEP: 05508-900 - Cx. Postal 11049

\*\*Instituto de Biociências da USP - Farmacologia

## RESUMO

A vulcanização do látex de borracha natural (LBN) é realizada industrialmente pelo processo convencional com enxofre, contudo, ela pode ser realizada pelo processo alternativo com radiação ionizante. As principais vantagens deste processo estão relacionadas à ausência dos efeitos tóxicos promovidos por produtos químicos que são adicionados ao LBN no processo convencional. Neste trabalho foi realizado um estudo preliminar das propriedades toxicológicas de filmes de LBN vulcanizado pelo processo alternativo com raios gama em relação ao vulcanizado pelo processo convencional com enxofre. Para o estudo da toxicidade foram realizados os ensaios *in vitro* de citotoxicidade e *in vivo* de toxicidade sistêmica. Os resultados mostraram que os filmes vulcanizados com radiação  $\gamma$  são menos citotóxicos que os vulcanizados pelo processo convencional. Quanto ao ensaio de toxicidade sistêmica somente o filme vulcanizado com enxofre provocou efeitos de sedação e incoordenação motora nos animais por curto período de tempo. Esse resultados confirmam a menor toxicidade do filme vulcanizado com radiação ionizante em relação ao vulcanizado pelo processo convencional com enxofre.

**Palavras-chave:** citotoxicidade, toxicidade sistêmica, vulcanização, látex de borracha natural

## I. INTRODUÇÃO

O látex de borracha natural, comercial, concentrado a 60%, é submetido ao processo de vulcanização para adquirir boas propriedades mecânicas. Mundialmente é empregado o processo térmico na presença de enxofre descoberto por Charles Goodyear em 1839 [1]. Esse processo consiste em formar uma rede tridimensional entre as moléculas poliméricas da borracha, transformando as propriedades plásticas em elastoméricas através da utilização de enxofre, aceleradores e óxido de zinco na presença de calor. Os principais artefatos fabricados pelo processo convencional são luvas cirúrgicas, luvas domésticas, cateteres, preservativos, chupetas, balões e brinquedos.

A vulcanização do látex de borracha natural com radiação ionizante é um processo alternativo de vulcanização que consiste em reticular o 1,4 cis-poliisopreno, disperso na fase aquosa na presença de ar e em temperatura ambiente. Esse processo ocorre na presença e na ausência de radiosensibilizadores que são compostos com alto valor de  $G_{\text{radical}}$  capazes de promover a vulcanização com doses menores. Essa reação ocorre pela

ação direta e indireta da radiação ionizante com as moléculas poliméricas da borracha através de mecanismos de formação de radicais [2,3].

As principais vantagens desse processo são produzir artefatos que não causam problemas ambientais e nem toxicológicos, são isentos de nitrosaminas, de enxofre, ditiocarbamatos e óxido de zinco e apresentam baixa citotoxicidade [4].

## II. PARTE EXPERIMENTAL

**Preparação das Amostras.** Utilizou-se o látex de borracha natural (LBN), concentrado a 60% com alto teor de amônia, proveniente da Malásia e importado pela INAL Indústria Nacional de Artefatos de Látex Ltda. O LBN foi vulcanizado pelos dois processos: o convencional com enxofre e o alternativo com radiação ionizante. O LBN não vulcanizado foi apenas diluído a 50% de sólidos totais com uma solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  a 1%.

Processo Convencional. O LBN foi formulado com S, ZDEC e  $\text{ZnO}$ , e submetido ao aquecimento de  $70^\circ\text{C}$

durante 3 horas sob agitação constante [1,5]. O látex vulcanizado foi resfriado e diluído para 50% de sólidos totais com uma solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  a 1%.

**Processo Alternativo.** O LBN foi irradiado com raios gama provenientes de uma fonte de  $^{60}\text{Co}$ , tipo panorâmica da Yoshizawa Kiko Co Ltd com uma taxa de dose de 0,9 kGy/h, na presença de ar e à temperatura ambiente [6]. Foi aplicada uma dose de 250kGy para o LBN diluído a 50% de sólidos totais com uma solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  a 1% e sem radiosensibilizador, e uma dose de 12kGy para o LBN diluído a 50% de sólidos totais com uma solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  a 1%, e formulado com 4phr de acrilato de n-butila/0,2phr de KOH [7].

Os látices foram filtrados e derramados em placas de vidro de dimensões de 170mm x 200mm x 2mm sobre uma superfície nivelada e expostos à temperatura ambiente por cinco dias. Após a gelificação os filmes foram lixiviados com água deionizada por 15 min a 70°C e secos em uma estufa com circulação de ar a 70°C por 1h e meia [8]. Os 4 filmes de borracha natural obtidos a partir do LBN: um não vulcanizado, um vulcanizado pelo processo convencional com enxofre e dois pelo processo alternativo com raios gama, foram utilizados nos ensaios de citotoxicidade e toxicidade sistêmica.

### **Citotoxicidade**

**Preparação dos Extratos.** Os extratos foram preparados usando, para cada filme de LBN 0,2g de material de teste/mL de meio de cultura constituído por RPMI 1640 com 10% de soro fetal bovino (RPMI+FCS) obtidos da Cultilab Materiais para Cultura de Células Ltda e 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de penicilina-estreptomicina obtidas da Sigma Chemical Co. Assim, os 4 filmes foram pesados e cortados em tiras de 30x1x1mm e colocados em frascos de vidro e autoclavados a 121°C durante 20 minutos. Após esterilização foi adicionado o meio de cultura aos frascos com o material de teste e estes colocados em uma estufa a 37  $\pm$  1°C por 72 horas para extração. O extrato foi diluído com meio de cultura RPMI+FCS e o material de teste foi descartado. Utilizou-se a solução de fenol a 2%, como controle positivo e polietileno de alta densidade como controle negativo do teste de citotoxicidade [9].

**Cultura Celular.** Foram utilizadas células de ovário de hamster chinês K-1 (CHO) da American Type Culture Collection (ATCC). As células foram cultivadas em frascos contendo meio RPMI+FCS a 37  $\pm$  1°C, em atmosfera de 5% de  $\text{CO}_2$  e 95% de ar umidificado. Após tripsinização as células foram transferidas para um tubo de centrífuga e lavadas com uma solução de fosfato, livre de íons cálcio e magnésio. As células foram ressuspensas em meio RPMI+FCS e ajustadas para uma concentração de 100 células/mL. Foram colocados 2mL da suspensão de células

em placas para cultura de 60mm de diâmetro e incubada por 4 horas para adesão nas placas. O meio foi então removido e substituído por 5mL de meio de cultura fresco, como controle, ou 5mL de extrato do material de teste diluído. Cada concentração de extrato foi testada em triplicata. As células foram incubadas a 37  $\pm$  1°C, em atmosfera de 5% de  $\text{CO}_2$  e 95% de ar umidificado por 7 dias para formação das colônias. Após esse período, o extrato foi removido das placas e as colônias formadas foram fixadas com uma solução de formol a 10% e coloridas com Giemsa. O número de colônias visíveis na placa foi contado. Os controles positivo e negativo do teste de citotoxicidade foram tratados da mesma maneira. O índice de citotoxicidade (IC50% - concentração de extrato que inibe a formação de 50% das colônias em relação ao controle) foi estimado, ajustando modelos matemáticos às curvas construídas a partir da porcentagem de colônias formadas em relação ao controle, versus a concentração do extrato expressa em porcentagem.

### **Toxicidade Sistêmica**

**Preparação dos Extratos.** Os extratos foram preparados usando, para cada filme de LBN 0,5g de material de teste/mL de meio extrator. Assim, os 4 filmes foram pesados e cortados em tiras de 30x1x1mm e colocados em tubos de vidro e autoclavados a 121°C durante 20 minutos. Após esterilização, os meios extratores foram adicionados aos tubos de vidro com o material de teste e estes colocados em uma estufa a 37  $\pm$  1°C por 72 horas para extração. Foram utilizados 4 meios extratores: Solução 0,9 g/L de NaCl ou salina (SS), solução etanol:salina (SES) 1:20 v/v, polietileno glicol 400 (PEG) da Oxiteno e óleo de milho (OM). Então, foram preparados 4 extratos para cada filme, sendo cada extrato acompanhado de um controle constituído somente pelo meio extrator. O PEG do controle e do extrato foram diluídos com SS na proporção de 1g de PEG em 4mL de solução para fornecer 250mg de PEG/mL.

**Procedimento Experimental.** O animal utilizado foi o camundongo da raça Balb/c do sexo masculino, pesando entre 17 a 23 gramas e reproduzido no Biotério do IPEN. Os animais foram aleatoriamente distribuídos em grupos de cinco unidades. Cada animal foi identificado através da marcação na cauda e submetido a pesagem. Os animais foram aclimatados a 23  $\pm$  1°C e receberam ração e água *ad libitum*. Os extratos foram administrados por via intraperitoneal na dose de 20mL/Kg conforme preconizado na Farmacopéia Americana [10] e na norma ISO 10993-11/93 [11] com ligeiras modificações. As modificações introduzidas, em relação às normas, foram a utilização da via intraperitoneal para todos os tratamentos, uma vez que em pesquisas laboratoriais, a via intraperitoneal é de uso rotineiro, em substituição à via intravenosa [12]; a redução do volume de administração de 50 mL/kg para 20 mL/kg [13] foi realizada como medida preventiva de efeitos

adversos causados por excesso de volume de líquido nos camundongos; e a redução da dose do PEG para 5g/Kg em relação ao recomendado pela norma de 10 g/kg, devido a mesma ter promovido sedação nos animais de controle nas primeiras 4 horas após os tratamentos, o que pode ser explicado devido ao valor muito próximo da dose letal ( $DL_{50}$ ) de 14,5 g/kg [14]. Os animais foram observados quanto a sinais e sintomas apresentados, imediatamente após os tratamentos até a 4ª hora, e a intervalos de 24 horas até 72 horas. Foram confrontados o comportamento dos animais inoculados com o material de teste com os dos animais de controle, ou seja, inoculados somente com o meio extrator. Ao final das 72 horas todos os animais foram pesados e o experimento encerrado.

### III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seleção do LBN para a vulcanização pelo processo alternativo foi baseada em estudos sobre sua vulcanização com radiação ionizante [15], que sugerem a utilização do tipo com alto teor de amônia, por proporcionar um maior valor da propriedade de resistência à tração com uma menor dose de vulcanização. Esse LBN também foi analisado e qualificado para utilização no processo convencional de vulcanização, conforme relatado em outro trabalho [16]. No processo alternativo, as doses de 250kGy e 12kGy do LBN vulcanizado na ausência e na presença de radiosensibilizador, respectivamente, foram determinadas mediante um estudo da propriedade de resistência à tração, versus a dose, para esse LBN [17].

A citotoxicidade foi expressa como IC50%, ou seja, índice citotóxico que expressa a porcentagem de extrato dos materiais, que inibe a formação de 50% das colônias de células. A citotoxicidade dos extratos dos filmes de LBN é mostrada na curva experimental da Figura 1.

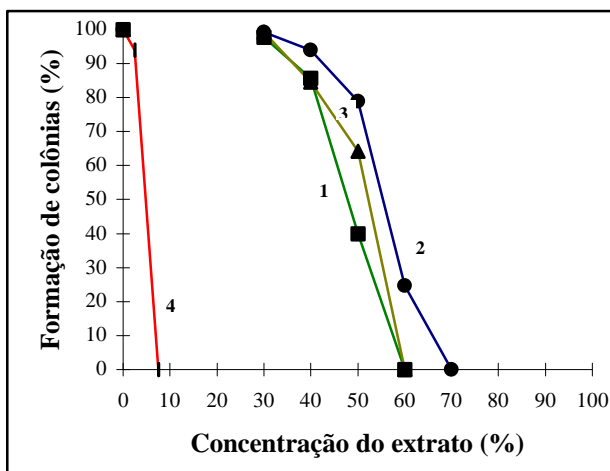


Figura 1 - Citotoxicidade dos filmes de LBN: não vulcanizado (1) vulcanizado com 250 kGy (2), vulcanizado com An-B/KOH e 12 kGy (3) e vulcanizado com enxofre (4).

Para calcular o IC50% dos filmes de LBN, ajustaram-se os modelos de regressão logística [18] para os filmes de LBN vulcanizado com radiação ionizante e não vulcanizado, e o modelo de Gompertz [19] para o filme de LBN vulcanizado com enxofre. Os valores estimados dos IC50% e seus intervalos de confiança a 95% são mostrados na Tabela 1.

TABELA 1 - Valores das estimativas e intervalos de confiança dos índices de citotoxicidade (IC50%) dos filmes de LBN

Filme de LBN	IC50%	Erro Padrão	Limite Inferior	Limite Superior
1 <sup>a</sup>	47,47	0,60	46,31	48,64
2 <sup>b</sup>	54,81	0,72	53,39	56,23
3 <sup>c</sup>	49,77	1,21	47,40	52,14
4 <sup>d</sup>	2,81	-	-	-
Controle positivo <sup>e</sup>	4,66	0,52	3,65	5,68
Controle negativo <sup>f</sup>	>100	-	-	-

<sup>a</sup>Não vulcanizado <sup>b</sup>Vulcanizado com 250kGy <sup>c</sup>Vulcanizado com 12kGy e An-B/KOH <sup>d</sup>Vulcanizado com enxofre <sup>e</sup>Solução de fenol a 0,2% <sup>f</sup>Poliétileno de alta densidade

O valor estimado da citotoxicidade do filme de LBN vulcanizado com enxofre, IC50% de 2,81, indica que ele é o mais citotóxico dentre os quatro tipos de filmes de LBN avaliados, e esta citotoxicidade foi atribuída ao composto dietilditiocarbamato de zinco usado como acelerador no processo, cujo efeito tóxico já foi relatado por outros pesquisadores [20-22].

O IC50% do filme de LBN não vulcanizado, estimado em 47,47%, demonstra a existência de substâncias tóxicas presentes naturalmente na matéria prima, enquanto que, o processo de vulcanização com radiação ionizante, não apresentou nenhum efeito além da citotoxicidade inicial. Segundo alguns pesquisadores [4,23], a citotoxicidade apresentada pelos filmes de LBN irradiados, devido à substâncias tóxicas presentes naturalmente no LBN, poderia ser removida por tratamento com solução alcalina. Além disso, o uso da radiação ionizante na vulcanização do LBN poderia promover a desnaturação das proteínas presentes no LBN, levando a uma redução das reações alérgicas à elas atribuídas [4,24].

Os valores estimados dos IC50% dos filmes de LBN vulcanizado pelo processo alternativo foram comparados com o filme não vulcanizado. Foram determinados os intervalos de confiança para as diferenças de suas IC50% à um nível de significância global [25] de  $\alpha=5\%$  e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 2.

Comparando os intervalos de confiança do filme vulcanizado com An-B/KOH e 12kGy, com o filme de LBN não vulcanizado, nenhuma diferença significativa foi observada, porém em relação ao filme de LBN vulcanizado com 250kGy, os intervalos de confiança comprovam que são diferentes.

TABELA 2 - Comparação entre os valores de IC50% dos filmes de LBN vulcanizado com radiação ionizante e do filme de LBN não vulcanizado.

Comparação (filmes de LBN)	Diferença (IC50%)	Erro Padrão	Limite Inferior	Limite Superior
1 <sup>a</sup> e 2 <sup>b</sup>	7,34	0,94	5,33	9,33
1 <sup>a</sup> e 3 <sup>c</sup>	2,30	1,35	-0,57	5,17
2 <sup>b</sup> e 3 <sup>c</sup>	-5,04	1,41	-8,04	-2,04

<sup>a</sup> Não vulcanizado <sup>b</sup> Vulcanizado com 250kGy <sup>c</sup> Vulcanizado com 12kGy e An-B/KOH

Analisando os intervalos de confiança da diferença entre o IC50% do filme vulcanizado com 250kGy com o filme de LBN não vulcanizado, e analisando seus respectivos valores de IC50% na Tabela 1, o filme irradiado com 250kGy apresentou uma pequena diminuição da citotoxicidade, sugerindo que, um provável aumento da cisão das moléculas pela radiação, tenha promovido uma maior lixiviação das substâncias citotóxicas presentes no LBN.

Pesquisa realizada por Tsuchiya e colaboradores [26], com filmes de LBN vulcanizado com radiação ionizante, foram avaliadas toxicologicamente através de testes de citotoxicidade, implante em músculo de coelhos e hemólise. Os autores demonstraram que a citotoxicidade dos filmes de LBN vulcanizados com radiação ionizante são menores que dos filmes vulcanizados com enxofre, e que no teste *in vivo* os filmes vulcanizados com radiação ionizante apresentaram leve reação inflamatória do tecido muscular, mas essa reação foi passageira, e que os filmes utilizados nesse experimento apresentaram atividade hemolítica. Combinando esses resultados, os autores concluíram que os filmes vulcanizados com radiação ionizante são mais seguros para aplicações como biomaterial, que aqueles vulcanizados com enxofre, não sendo entretanto, inertes do ponto de vista toxicológico. Neste atual trabalho, os resultados de citotoxicidade também comprovam menores efeitos tóxicos dos filmes de LBN vulcanizados por irradiação que pelo método convencional com enxofre.

Trabalhos realizados com cateteres urinários de LBN vulcanizado convencionalmente, também demonstram forte toxicidade em cultura de células e em testes *in vivo* desses produtos [27,28].

A toxicidade sistêmica aguda em camundongos, dos 4 tipos de filmes de LBN foi avaliada em termos da mortalidade e do peso corpóreo dos animais testados,

juntamente com os sinais e sintomas desenvolvidos durante o período de 72 horas de experimento.

Nenhum extrato dos filmes causou a mortalidade dos animais testados durante o período experimental de 72 horas e todos os animais, submetidos ao teste, ganharam peso durante o período do experimento.

Um resumo das variações médias do peso corpóreo dos camundongos submetidos ao teste de toxicidade sistêmica de todos os filmes de LBN é mostrado na Tabela 3. Ajustaram-se quatro modelos de análise de variância [25] e as variações médias de massa dos camundongos foram iguais para todos os tratamentos.

Os sinais e sintomas dos animais foram acompanhados, imediatamente após os tratamentos até a 4<sup>a</sup> hora, e a intervalos de 24 horas até 72 horas. Os animais testados com o extrato oleoso do filme de LBN vulcanizado com enxofre apresentaram incoordenação motora e sedação nas primeiras 4 horas de tratamento. Após esse período, os animais, observados visualmente, mostraram aparência normal até completar as 72 horas de observação do experimento. Portanto as substâncias dos filmes de LBN vulcanizado com enxofre, que causaram as reações tóxicas *in vivo*, mesmo que passageiras, foram devido aos produtos químicos utilizados no processo de vulcanização. Estes produtos promoveram uma resposta mais aguda no meio oleoso, confirmando a importância da capacidade extratora do solvente empregado.

O teste de toxicidade sistêmica aguda em camundongos, quando não resulta em morte, mostra uma certa dificuldade de observação e quantificação da manifestação dos sintomas de toxicidade, dando origem à uma interpretação subjetiva. Entretanto, mesmo que não medida, é evidente que as reações anormais do teste *in vivo* foram promovidas por substâncias extraídas de filmes de LBN convencionalmente vulcanizado.

Trabalhos de outros pesquisadores [28,29], detectaram toxicidade em produtos comerciais de LBN no teste de injeção sistêmica e tratamento com o extrato oleoso, que resultaram na mortalidade dos animais.

Segundo Wilsnack [29], em estudos de biocompatibilidade de produtos médico-hospitalares, utilizando testes *in vitro* e *in vivo*, do total de produtos de borracha testados, 22% apresentaram toxicidade *in vitro* e *in vivo*, 43% apresentaram toxicidade no teste *in vitro* sem apresentar efeito no teste *in vivo*, e 35% não apresentaram toxicidade. O ensaio *in vitro* foi realizado utilizando-se cultura de células WI-38 e os testes *in vivo*, foram realizados por injeção sistêmica em ratos, e testes intracutâneo e implante muscular em coelhos. Dos testes positivos com cultura celular, apenas 0,75% apresentou toxicidade na injeção sistêmica em tratamento com extrato oleoso, 37,5% apresentaram toxicidade no teste intracutâneo com o extrato oleoso e 17% foi considerado tóxico pelo teste de implante intramuscular. Podemos dizer que nenhum teste positivo *in vivo* foi negativo *in vitro*, e que a discrepância entre os testes *in vitro* e *in vivo*, pode

ser atribuída à diferença na eficiência de extração dos meios extratores.

TABELA 3 - Variação média de peso corpóreo de camundongos submetidos ao teste de toxicidade sistêmica de filmes de látex de borracha natural.

Meio extrator, Via e Dose	Variação de peso corpóreo <sup>a</sup> (g)							
	Filme de LBN não vulcanizado		Filme de LBN vulcanizado com 250kGy		Filme de LBN vulcanizado com An-B e 12 kGy		Filme de LBN vulcanizado com enxofre	
	Extrato	Controle	Extrato	Controle	Extrato	Controle	Extrato	Controle
<b>SS</b> I.P.; 20 mL/kg	1,40±0,71	1,77±0,33	1,79±1,42	1,93±1,00	2,14±0,20	2,22±0,42	2,96±0,49	2,80±1,72
<b>SES</b> I.P.; 20 mL/kg	1,55±0,53	1,59±0,63	1,96±1,57	2,01±0,70	2,23±0,27	2,36±0,57	2,24±1,11	2,80±0,39
<b>PEG-400</b> I.P.; 5 g/kg	2,31±1,23	2,62±1,22	2,62±1,09	2,68±0,88	2,65±0,51	2,43±0,40	2,34±1,10	2,65±0,27
<b>OM</b> I.P.; 20 mL/kg	-	-	1,54±1,04	1,74±1,30	2,02±0,35	2,03±0,21	1,93±0,92	2,73±0,48

<sup>a</sup> Média ± desvio padrão de 5 camundongos.

Os resultados apresentados neste trabalho, evidenciaram a maior sensibilidade do teste *in vitro* para detectar efeitos tóxicos de substâncias extraíveis de materiais.

#### IV. CONCLUSÕES

Em ambos os processos estudados, foram adicionadas ao LBN substâncias necessárias à vulcanização, e algumas delas podendo tornar o produto final tóxico. Conforme os índices de citotoxicidade, o valor estimado para o filme de LBN vulcanizado com enxofre, IC50% de 2,81, indicou que ele é o mais citotóxico dentre os quatro tipos de filmes de LBN estudados. Esta citotoxicidade foi atribuída aos produtos químicos de vulcanização normalmente utilizados por esse processo, visto que foi utilizado o mesmo LBN para a vulcanização dos dois processos, além da padronização da obtenção dos 4 filmes utilizados nesta avaliação. O IC50% do filme de LBN não vulcanizado, estimado em 47,47%, demonstrou a existência de substâncias tóxicas presentes naturalmente na matéria prima. Essa citotoxicidade aumenta quando são adicionados os produtos químicos de vulcanização do processo convencional e não sofre alteração com a adição do radiosensibilizador An-B (IC50% de 49,77). Assim o processo de vulcanização com raios gama na presença do An-B, não apresentou nenhum efeito tóxico além da citotoxicidade própria do LBN. O filme vulcanizado com raios gama sem radiosensibilizador (IC50% de 54,81), mostrou uma redução da citotoxicidade do filme não vulcanizado que foi atribuída ao aumento da cisão das moléculas pela radiação, que promoveu uma maior lixiviação das substâncias citotóxicas presentes no LBN.

Os resultados da toxicidade sistêmica mostraram que apenas o filme de LBN vulcanizado com enxofre apresentou efeitos de sedação e incoordenação motora nos animais testados com o extrato oleoso durante as primeiras 4 horas de tratamento. Os filmes de LBN não vulcanizado e vulcanizado com raios gama não promoveram nenhum efeito tóxico. Portanto, fica evidente que as substâncias dos filmes de LBN vulcanizado com enxofre, que causaram as reações tóxicas *in vivo*, mesmo que passageiras, foram os produtos químicos imprescindíveis ao processo de vulcanização convencional.

Assim, pelos estudos realizados no presente trabalho, conclui-se que os filmes de LBN vulcanizado pela radiação ionizante promovem efeitos toxicológicos menores que aqueles vulcanizados pelo processo convencional com enxofre, quando avaliados por testes "*in vitro*" de citotoxicidade e "*in vivo*" de toxicidade sistêmica.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem às empresas: INAL Ind. Nacional de Artefatos de Látex Ltda., Tintas Coral S.A pela doação de reagentes e/ou equipamentos para análise e ao CNPq pela concessão de bolsa.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Brasil. Ministério da Indústria e do Comércio, Superintendência da Borracha, Curso Básico em Tecnologia de Elastômeros, vol. 1-6, 1993.
- [2] O'Donnell, J.L., Sangster, D.F., Principles of Radiation Chemistry, 1 ed., London:Edward Arnold, 1970.

- [3] Erman, B., Mark, J.E., Rubberlike Elasticity a Molecular Primer, John Wiley & Sons Inc., p 21-27, 1988.
- [4] Makuuchi, K., Progress in Radiation Vulcanization of Natural Rubber Latex, Takasaki:JAERI 1233, 1994.
- [5] Mausser, R.F., The Vanderbilt Latex Handbook, 3 ed., Norwalk.:R.T.Vanderbilt Company, Inc., 1987.
- [6] Karunaratne, S.W., Standardization of Radiation Vulcanized Natural Rubber Latex, Proc. Intern. Symp. Radiat. Vulc. Nat. Rubber Latex, Takasaki: JAERI-M 89-228, p. 225-233, 1990.
- [7] Souza, A., Comportamento do An-B / KOH / HPT-B na Vulcanização do Látex de Borracha Natural induzida com Raios Gama, Dissertação de Mestrado, IPEN/CNEN/SP, 1994.
- [8] Wahab, S., Makuuchi, K., Devendra, R. e Pansa, C-P., Effect of Heating and Leaching on Mechanical Properties of Radiation Vulcanized Natural Rubber Latex Film, Proc. Intern. Symp. Radiat. Vulc. Nat. Rubber Latex, Takasaki:JAERI-M 89-228, p 216-224, 1989.
- [9] The International Organization for Standardization, Biological evaluation of medical devices - Part 5 - Tests for cytotoxicity: in vitro methods, ISO 10993-5:1992 (E), 1992.
- [10] The International Organization for Standardization, Biological evaluation of medical devices - Part 11 - Tests for systemic toxicity, ISO 10993-11:1993 (E), 1993.
- [11] The United States Pharmacopeia - The National Formulary. 23th Ed., United States Pharmacopeia Convention, Rockville, MD, p. 1699-1703, USP 23-NF18, 1995.
- [12] Zanini, A.C., OGA, S., Farmacologia Aplicada. p.13-23, São Paulo, SP: Atheneu Editora São Paulo, 1994.
- [13] The American Society for Testing and Materials, Standard Practice for Extraction of Medical Plastics, ASTM F619/91, 1991.
- [14] Bartsch, W., Sponer, G., Dietmann, K., Fuchs, G., Acute Toxicity of Various Solvents in the Mouse and Rat. Arzneimittel-Forschung, v. 26, p.1581-1583, 1976.
- [15] Macuuchi, K. Progress in Radiation Vulcanization of Natural Rubber Latex through International Cooperation, Proc. Intern. Symp. Radiat. Vulc. Nat. Rubber Latex, Takasaki:JAERI-M 89-228,, p. 91-99, 1990.
- [16] Campos, V.E., Guedes, S.M.L., Influência do Tipo de Vulcanização do Látex de Borracha Natural na Resistência à Tração, VI Congresso Geral de Energia Nuclear, CD-ROM, VI CGEN, 1996.
- [17] Campos, V.E., Avaliação Toxicológica de Filmes de Borracha Natural obtidos do Látex Vulcanizado pelo Processo Convencional e pelo Processo Alternativo com Radiação Ionizante, Dissertação de Mestrado, IPEN/CNEN/SP, 1997.
- [18] Collet, D., Modelling Binary Data. London: Chapman & Hall, 1991.
- [19] Ratkowsky, D.A., Handbook of Nonlinear Regression Models. New York, N.Y.: Marcel Dekker,Inc., 1990.
- [20] Ikarashi, Y., Toyoda, K., Ohsawa, N., Uchima, T., Tsuchiya, T., Kaniwa, M., Sato, M., Takahashi, M., Nakamura, A., Comparative studies by cell culture and in vivo implantation teste on the toxicity of natural rubber latex materials. Journal of Biomedical Materials Research, v. 26, p. 339-356, 1992.
- [21] Tsuchiya, T., Arai, T., Ohhashi, J., Imai, K., Kojima, H., Miyamoto, S., Hata, H., Ikarashi, Y., Toyoda, K., Takahashi, M., Nakamura, A., Rabbit eye irritation caused by wearing toxic contact lenses and their cytotoxicities: In vivo / in vitro correlation study using standard reference materials. Journal of Biomedical Materials Research, v. 27, p. 885-893, 1993.
- [22] Nakamura, A., Ikarashi, Y., Tsuchiya, T., Kaniwa, M.A., Sato, M., Toyoda, K., Takahashi, M., Correlations among chemical constituents, citotoxicities and tissue responses: in the case of natural rubber latex materials. Biomaterials, v. 11, p. 92-94, 1990.
- [23] Nakamura, A., Ikarashi, Y., Tsuchiya, T., Kaniwa, M., Radiation Vulcanized Natural Rubber Latex is not Citotoxic, Proc. Intern. Symp. Radiat. Vulc. Nat. Rubber Latex, Takasaki: JAERI-M 89-228, p. 79-87, 1990.
- [24] Geertsma, R.E., Orzechowski, T.J. H., Jonker, M., Dorpema, J.W., Asten J.A.A.M., Radiation Vulcanised Natural Rubber Latex: safer than conventionally processed latex?. Bilthoven, The Netherlands, Report 605148007, 1996.
- [25] Neter, J., Wasserman, W., Nachtsheim, C.J., Kutner, M.H., Applied Linear Statistical Models. 4 ed., Homewood:Richard D. Irwing, 1996.
- [26] Tsuchiya, T., Ikarashi, Y., Toyoda, K., Uchima, T., Miyahara, T., Takahashi, M., Nakamura, A., Toxicological Evaluation for Biomaterials: Examinations of radiation vulcanized Natural Rubber Latex. Radiation Physics Chemistry, v. 39, n. 6, p. 541-545, 1992.
- [27] Graham, D.T., Mark, G.E., Pomeroy, A.R., In Vivo Validation of a Cell Culture Test for Biocompatibility Testing of Urinary Catheters, Journal of Biomedical Materials Research, v. 18, p. 1125-1135, 1984.
- [28] Pinto, T.J.A, Controle de Qualidade de Produtos Médico-Hospitalares, Dissertação de Mestrado - Universidade de São Paulo, 1984.
- [29] Wilsnack, R.E., Quantitative Cell Culture Biocompatibility Testing of Medical Devices and Correlation to Animal Tests, Biomaterial Medical Devices, Art. Org, v. 4, p. 235-261, 1977.

## ABSTRACT

The industrial vulcanization of natural rubber latex (NRL) is made worldwide by conventional process using sulphur, but it can be made by an alternative process using ionizing radiation. The main advantages of this process are related to absence of toxic effects promoted by chemical substances added to the NRL on the conventional process. In this research was tested the toxicological properties of the films vulcanized by the alternative process in relation to that vulcanized by the conventional process. The toxicity was evaluated by *in vitro* cytotoxicity assay and *in vivo* systemic toxicity assay. The results showed that vulcanized films by gamma ray are less citotoxic. The systemic toxicity assay showed that only the vulcanized film using sulphur induced allaying and motor incoordination on the animals for a short period of time. These results evidence the less citotoxic properties of vulcanized films by gamma ray in relation to that vulcanized by conventional process using sulphur.