

DANIELA BELISARIO BARONI

Cirurgiã Dentista

EFICÁCIA ANESTÉSICA DA LIDOCAÍNA ENCAPSULADA EM LIPOSSOMAS, EM ANESTESIA TÓPICA PALATINA.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, no Programa de Pós-Graduação em Odontologia, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo

Co-orientadoras: Profa. Dra. Eneida de Paula e Profa. Dra. Maria Cristina Volpato

Piracicaba, SP

2010



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 23 de Fevereiro de 2010, considerou a candidata DANIELA BELISARIO BARONI aprovada.

Handwritten signature of Francisco Carlos Groppo in purple ink.

Prof. Dr. FRANCISCO CARLOS GROPPPO

Handwritten signature of Juliana Cama Ramacciato in black ink.

Prof.ª Dra. JULIANA CAMA RAMACCIATO

Handwritten signature of Rogério Heládio Lopes Motta in purple ink.

Prof. Dr. ROGÉRIO HELÁDIO LOPES MOTTA

Dedico este trabalho a *Deus*, por me iluminar e guiar através de meus caminhos, dando-me sabedoria e discernimento, para que eu superasse todos os obstáculos e alcançasse meus objetivos.

Aos meus pais, *Vera Lúcia e José Roberto*, por seu amor e amizade, por sempre me apoiarem e me darem forças em minhas decisões, por toda sua sabedoria, pelos conselhos e paciência nos momentos mais difíceis.

Ao meu namorado *Felipe*, que me ajudou e incentivou no trilhar deste caminho, sempre com todo amor, carinho, dedicação e amizade.

Aos meus avós maternos *Alaíde e Amador*, que sempre torceram pelo meu sucesso e aos meus avós paternos *Vera e Carlos* que, apesar de não estarem mais entre nós, sempre serão lembrados com muito amor.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, na pessoa do Magnífico Reitor, Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa e à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, FOP, por meio do Diretor Prof. Dr. Francisco Haiter Neto.

Ao Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior, coordenador dos Cursos de Pós-Graduação da FOP/UNICAMP e à Profa. Dra. Maria Beatriz Duarte Gavião, coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da FOP/UNICAMP.

Aos professores e amigos da Área de Farmacologia, Anestesiologia, e Terapêutica, Profa. Dra. Maria Cristina Volpato, Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo, Prof. Dr. José Ranali, Prof. Dr. Eduardo Dias de Andrade, Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen e Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho, por serem grandes mestres e excelentes exemplos a serem seguidos.

À FAPESP, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo apoio financeiro.

Ao meu orientador Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo, um exemplo de professor a ser seguido, sou muito agradecida por todos esses anos de ensinamentos, pela amizade que criamos, por toda a paciência e dedicação que teve por mim.

Às minhas co-orientadoras Profa. Dra. Maria Cristina Volpato e Profa. Dra. Eneida de Paula, ambas pesquisadoras e professoras exemplares, que tiveram participação e colaboração fundamentais nos anos da minha pós-graduação.

Aos integrantes da banca de qualificação, Prof. Dr. José Flávio Affonso de Almeida, Prof. Dr. José Ricardo de Albergaria Barbosa e Dra. Michelle Franz-Montan Braga Leite, pelas ricas considerações e sugestões para a finalização deste trabalho.

Às minhas tias Maria Rita, Maria Beatriz e Maria Luíza, e aos meus primos Simone, Pedro e Ana Luiza, que sempre torceram por mim e por quem tenho imenso carinho.

À Eliane e à Maria Elisa, pela competência e pelo carinho com que sempre nos ajudam e socorrem.

Às minhas amigas, Roberta, Bia, Isadora e Eloísa, grandes amizades que a distância e o tempo nunca vão apagar.

À Sueli e à Patrícia, com quem compartilhei não apenas a moradia durante minha pós-graduação, mas os momentos bons e ruins, as alegrias e as incertezas, no trilhar deste caminho.

Ao Júlio César Leite da Silva, pelo constante incentivo, pelos conselhos nos momentos de decisão, pela grande amizade e por ter aberto algumas portas em meu caminho.

Ao Paulo Venâncio, obrigada pela amizade, codificação de todos os géis da minha pesquisa e pelo apoio constante.

A todos os meus colegas e companheiros da farmacologia, Patrícia Zago, Luciana Berto, Michelle, Leila, Vanessa, Luciana Almeida, Myrella, Cristiane Bergamaschi, Karina, Leandro Augusto, Bruno, Júlio, Sidney e Paulo.

Ao José Carlos, funcionário da Farmacologia, pela ajuda no laboratório.

Aos voluntários da graduação e da pós-graduação, tenho imenso agradecimento pela compreensão do valor e do significado da pesquisa, pela colaboração, disposição, paciência e por acreditarem neste trabalho.

Aos amigos e pessoas que embora não citadas colaboraram e incentivaram para que este trabalho fosse realizado.

RESUMO

Nos últimos anos, a encapsulação de fármacos em lipossomas tem sido bastante estudada, representando um método inovador de liberação controlada de fármacos em anestesia tópica. Em vista disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia anestésica da lidocaína encapsulada em lipossomas em anestesia tópica sobre a mucosa palatina. Neste estudo cruzado e duplo-cego, 40 voluntários (20 mulheres e 20 homens) receberam com aplicação aleatória 100mg das seguintes formulações: G1 - gel de lidocaína 5% encapsulada em lipossomas, G2 - gel de lidocaína 2,5% encapsulada em lipossomas, G3 - mistura eutética de lidocaína 2,5% e prilocaína 2,5% (EMLA[®] creme - AstraZeneca), G4 - pomada de lidocaína 5% (Xylocaína[®] pomada - AstraZeneca), G5 - gel placebo e G6 - gel placebo lipossomal, na mucosa palatina de caninos superiores. Em cada sessão foram aplicadas topicamente duas formulações durante dois minutos em cada lado do palato, totalizando três sessões por voluntário. As formulações foram codificadas e o lado (direito ou esquerdo) e a ordem de aplicação foram pré-determinados por uma tabela de randomização. Após a introdução de uma agulha curta 30G e injeção de 0,3ml do tubete de lidocaína 2% com epinefrina 1:100.000, as percepções dolorosas à punção da agulha e injeção do anestésico foram avaliadas em duas escalas analógicas visuais distintas (EAV). Os voluntários também avaliaram em um questionário qual das formulações utilizadas teriam preferência em reutilizar caso necessitassem novamente de uma anestesia na mucosa palatina. Os resultados foram submetidos aos testes Friedman ($\alpha=5\%$). Para G1, G2, G3, G4, G5 e G6, respectivamente, as EAV (mediana e desvio interquartilico) de punção foram 0,7 (2,4), 1,3 (1,9), 0,6 (1,1), 2,0 (1,6), 2,1 (2,9) e 1,4 (2,4) cm e as EAV de injeção foram 0,9 (2,1), 1,6 (3), 0,7 (1,5), 2,1 (2,1), 2,5 (2,4) e 2,3 (2,6) cm. As EAV de punção e injeção de G1 e G3 foram menores ($p<0,05$) quando comparadas aos demais grupos, os quais não apresentaram diferenças estatísticas significativas ($p>0,05$) entre si. A preferência dos voluntários foi (%) de 41,0, 25,6, 20,5, 7,7, 2,6 e 2,6 para G3, G1, G4, G2, G5 e

G6, respectivamente. O gel de lidocaína lipossomal 5% foi equivalente ao EMLA[®] em diminuir a dor à punção e injeção na mucosa palatina.

Palavras-chave: Odontologia, Anestesia local, Anestesia tópica, Lidocaína, Lipossomas.

ABSTRACT

Lately, the encapsulation of drugs into liposomes has been widely studied, representing an innovative method of drug delivery in topical anesthesia. Therefore, the aim of this study was to evaluate the efficacy of liposomal lidocaine for topical anesthesia on the palatal mucosa. In this double-blinded cross-over study, 40 volunteers (20 women and 20 men) randomly received 100mg of the following formulations: G1 - liposome-encapsulated 5% lidocaine gel, G2 - liposome-encapsulated 2.5% lidocaine gel, G3 - eutectic mixture of 2.5% lidocaine and 2.5% prilocaine (EMLA[®] cream - AstraZeneca), G4 - 5% lidocaine (Xylocaine[®] ointment - AstraZeneca), G5 - placebo gel and G6 - liposome-encapsulated placebo gel. In each session, two formulations were applied on the palatal mucosa of right- and left-upper canines during two minutes, totalizing three sessions per volunteer. The formulations were placed into coded flasks and the location (right or left side) and order of application were predetermined by a random number table. After insertion of 30-G needle and injection of 0,3ml of 2% lidocaine with 1:100.000 epinephrine, painful perceptions to the needle insertion and to the anesthetic injection were rated on two separated visual analog scales (VAS). The volunteers also evaluated in a specific questionnaire which one of the formulations they would prefer if they needed of another anesthesia at the palatal mucosa. The obtained results were submitted to the Friedman test ($\alpha=5\%$). For G1, G2, G3, G4, G5 and G6, respectively, VAS median and interquartile range (in cm) for needle insertion were 0.7 (2.4), 1.3 (1.9), 0.6 (1.1), 2.0 (1.6), 2.1 (2.9), 1.4 (2.4) and for anesthetic injection were 0.9 (2.1), 1.6 (3.0), 0.7 (1.5), 2.1 (2.1), 2.5 (2.4), 2.3 (2.6). Both G1 and G3 showed lower ($p<0.05$) VAS values for needle insertion and anesthetic injection when compared with the other groups, which did not show statistically significant differences ($p>0.05$) among them. The volunteers' preferences (in percentage) were 41.0, 25.6, 20.5, 7.7, 2.6 and 2.6 for G3, G1, G4, G2, G5 and G6, respectively. Liposome-encapsulated 5% lidocaine was equivalent to EMLA[®] in minimizing pain perception to the needle insertion and anesthetic injection.

Key Words: Dentistry, Local anesthesia, Topical anesthesia, Lidocaine, Liposomes.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO DO ARTIGO CIENTÍFICO	5
CAPÍTULO 1: <i>Efficacy of liposome-encapsulated lidocaine for topical anesthesia in palatal mucosa.</i>	6
CONCLUSÃO	21
REFERÊNCIAS	22
ANEXOS	24

INTRODUÇÃO

O medo e a ansiedade associados à expectativa de sensações dolorosas ainda representam entraves para o atendimento odontológico (Nuttall *et al.*, 2001). Frente a isso, técnicas anestésicas bem definidas e seguras, associadas à utilização de soluções anestésicas eficazes, possibilitam um controle adequado da dor durante o atendimento odontológico. Entretanto, este procedimento, por si só, pode induzir estresse e ansiedade nos pacientes (Meechan, 2002), já que o medo da “injeção com agulha” é uma condição que afeta mais de 10% dos adultos e pode culminar, em alguns casos, em recusa do tratamento odontológico (Ost, 1992).

O estresse e a ansiedade também podem levar a uma falta de cooperação dos pacientes, experiências de tratamento mal sucedidas, tentativas repetidas, dor adicional e um tempo prolongado de atendimento (Taddio *et al.*, 2005). Em longo prazo, podem provocar respostas condicionadas de ansiedade e aumentar a percepção do paciente à dor (Meechan, 2002; Taddio *et al.*, 2002). Frente a isso, visando aliviar a dor à punção da agulha e à injeção da solução anestésica e reduzir a ansiedade, a anestesia tópica tem sido amplamente utilizada na prática odontológica (Rosivack *et al.*, 1990).

A mucosa palatina é conhecida pela dificuldade em atingir anestesia tópica adequada (Gill *et al.*, 1979; Malamed, 1997, Meechan *et al.*, 2005). A obtenção de anestesia tópica eficaz na mucosa palatina é mais difícil devido à maior queratinização deste local e à presença de um tecido conjuntivo denso e fortemente aderido ao osso, dificultando sua distensão quando da injeção da solução anestésica (Primosch & Rolland-Asensi, 2001). Ademais, existe uma lacuna quanto à eficácia de anestésicos tópicos no palato. Vongsavan & Vongsavan (1996) relataram que a aplicação tópica do gel de benzocaína 20%, quando comparada ao placebo, é eficaz em reduzir o desconforto à punção na região palatina. Entretanto, Hutchins *et al.* (1997) demonstraram que a dor à injeção anestésica na mucosa palatina não é aliviada por esse anestésico tópico.

Como a mucosa palatina é uma das regiões mais sensíveis e dolorosas da cavidade oral, o modelo de avaliação de anestesia tópica neste local é o maior desafio a que um anestésico tópico pode ser submetido (Svensson & Petersen, 1992; Meechan *et al.*, 2005). Assim, um anestésico tópico capaz de eliminar a dor durante a punção da agulha e a injeção de uma solução anestésica nesta região seria um avanço para a Odontologia.

Em busca de um anestésico tópico ideal, estudos prévios têm demonstrado a eficácia do EMLA[®] (AstraZeneca, Cotia, Brazil), formado pela mistura eutética de lidocaína e prilocaína, ambas a 2,5%. Embora não seja um anestésico indicado para uso odontológico, sua aplicação tópica em mucosa oral têm permitido a execução de procedimentos como instrumentação periodontal (Svensson *et al.*, 1994), dentística (Vickers & Punnia-Moorthy, 1993; Vickers *et al.*, 1997) e, em alguns casos, exodontias de decíduos e terapias pulpares em odontopediatria (Munshi *et al.*, 2001) e até biópsias (Meechan, 2001). O EMLA[®] também reduz o desconforto de injeções intraligamentares e punções na mucosa palatina (Meechan & Thomason, 1999; Meechan, 2001).

Estudos têm demonstrado que o EMLA[®] proporciona uma analgesia da mucosa oral mais efetiva do que anestésicos tópicos disponíveis comercialmente para uso odontológico (Host & Evers, 1985; Rosivack *et al.*, 1990; Svensson *et al.*, 1992; Donaldson & Meechan, 1995; McMillan *et al.*, 2000). Entretanto, este anestésico está associado a consideráveis efeitos adversos, como gosto amargo, sensação de ardor na mucosa, alto custo (Meechan *et al.*, 1994) e, em alguns casos apontados pela literatura, dermatite alérgica, urticária de contato e intensa reação inflamatória (Suhonen *et al.*, 1997; Waton *et al.*, 2004; Powell *et al.*, 1991). Franz-Montan *et al.* (2008) demonstraram que a aplicação do EMLA[®] por 30 minutos na região de incisivo lateral superior direito promoveu uma lesão ulcerativa no local de aplicação em 4 voluntárias. Entretanto, é válido ressaltar que no presente estudo o EMLA[®] foi aplicado por apenas dois minutos.

Ultimamente, tem-se buscado formas de liberação controlada de medicamentos que garantam um aumento da duração do efeito associado à

diminuição da toxicidade. Dentre estas formas, a encapsulação em lipossomas tem se destacado, representando um método inovador de liberação controlada de fármacos em anestesia tópica (Foldvari *et al.*, 1990; Singh & Vyas, 1996; Bucalo *et al.*, 1998; Fisher *et al.*, 1998; Mura *et al.*, 2007; Elsaie & Baumann, 2008).

Os lipossomas são esferas microscópicas formadas por uma ou mais bicamadas lipídicas. São biocompatíveis, biodegradáveis, com baixo risco de toxicidade, imunogenicidade, antigenicidade e lesões histológicas, principalmente em função da semelhança dos monômeros constituintes dos lipossomas (fosfatidilcolina e colesterol) com os das membranas biológicas (Malinovsky *et al.*, 1997; Grant, 2002). Além disso, devido à liberação lenta e controlada de fármacos, proporcionam um aumento da duração da anestesia e uma redução da toxicidade sistêmica (Boogaerts *et al.*, 1993, 1994; Mowat *et al.*, 1996; Yu *et al.*, 2002) e impedem que os anestésicos locais sejam metabolizados muito rapidamente pelo organismo (Bucalo *et al.*, 1998)

Foldvari *et al.* (1990) demonstraram que os lipossomas proporcionaram um aumento tanto da taxa de penetração como da concentração efetiva de anestésicos administrados topicamente na derme, proporcionando alívio prolongado. A aplicação de anestésicos na forma lipossomal em pele humana resultou em maior segurança, efetividade e duração de anestesia (Singh & Vyas 1996; Grant *et al.*, 2001). A lidocaína 4% lipossomal em creme (Maxilene, RGR Pharma, Windsor, Ont.) foi lançada no Canadá em 2003, onde já existem vários medicamentos registrados associados a lipossomas. Este anestésico tópico tem como vantagens um curto início de ação e uma potência adequada.

A lidocaína também não está associada à metemoglobinemia, um efeito sistêmico de anestésicos com prilocaína, como o EMLA[®] (Jacobson & Nilssen, 1985; Taddio *et al.*, 1998; EMLA package insert). Esta condição envolve a oxidação do íon ferro do estado ferroso (Fe^{2+}) ao estado férrico (Fe^{3+}), tornando a molécula de hemoglobina incapaz de transportar oxigênio. Vale ressaltar que a incidência de metemoglobinemia associada ao EMLA[®] é rara. Esta condição foi relatada, principalmente, em neonatos que se tornaram cianóticos após a

aplicação de 5g de EMLA[®] por um período de mais de cinco horas (Jacobson & Nilssen, 1985).

A eficácia de anestésicos locais na forma lipossomada em mucosa oral já foi comprovada por alguns autores na literatura. Zed *et al.* (1996) observaram que o gel de tetracaína 5% encapsulada em lipossomas foi mais eficaz reduzir a dor à punção e à infiltração de anestésico local quando comparado ao gel de benzocaína 20%. Da mesma maneira, Franz-Montan *et al.* (2007) verificaram que o gel de ropivacaína 1% encapsulada em lipossomas apresentou eficácia superior em reduzir dor à punção em comparação ao gel de benzocaína 20% e foi equivalente ao EMLA[®] na redução da dor durante a inserção da agulha e na duração da anestesia na mucosa.

A ausência de anestésicos tópicos eficazes em abolir a dor à punção na mucosa palatina, associada às vantagens da encapsulação em lipossomas, torna relevante a presente pesquisa pela contribuição para o aumento da eficácia dos processos de anestesia tópica.

O objetivo deste trabalho foi comparar a eficácia anestésica de gel de lidocaína 5% encapsulada em lipossomas, gel de lidocaína 2,5% encapsulada em lipossomas, EMLA (EMLA[®] creme - AstraZeneca), pomada de lidocaína 5% (Xylocaina[®] pomada - AstraZeneca), gel placebo e gel placebo lipossomal, aplicados topicamente na mucosa palatina.

CAPÍTULO DO ARTIGO CIENTÍFICO

Esta dissertação está de acordo com a deliberação da Comissão Central de Pós-Graduação (CCPG) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) nº 001/98, que regulamenta o formato alternativo para dissertação e tese, permitindo a inserção de artigos científicos de autoria ou co-autoria do candidato.

Assim sendo, a mesma é composta de um estudo que se encontra em fase de submissão para publicação em revista científica, conforme descrito a seguir:

CAPÍTULO 1: *“Efficacy of liposome-encapsulated lidocaine for topical anesthesia on palatal mucosa”.*

Este Artigo será submetido ao periódico: Journal of the American Dental Association.

CAPÍTULO 1 : Efficacy of liposome-encapsulated lidocaine for topical anesthesia on palatal mucosa.

Authors: Daniela Beliaro Baroni¹. DDS.

Patrícia Wiziack Zago¹. DDS.

Paulo Venâncio¹. PharmD.

Maria C. Volpato¹. PhD.

Eneida de Paula². PhD.

Francisco C. Groppo^{1*}. PhD.

¹Department of Physiological Sciences, Piracicaba Dental School, State University of Campinas – UNICAMP; ² Department of Biochemistry, Institute of Biology, University of Campinas – UNICAMP

*Corresponding author:

Francisco Carlos Groppo

Av. Limeira, 901 – Bairro Areião

CEP: 13414-903 Piracicaba, São Paulo, Brazil Phone: 55 19 2106 5310

FAX: 55 19 2106 5218 E-mail: fcgroppo@fop.unicamp.br

This study was financially supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP # 07/05734-1).

Abstract

Objective. To evaluate the efficacy of liposomal lidocaine for topical anesthesia on the palatal mucosa. *Material and methods.* In this double-blinded cross-over study, 40 volunteers (20 women and 20 men) randomly received 100mg of the following formulations: G1 - liposome-encapsulated 5% lidocaine gel, G2 - liposome-encapsulated 2.5% lidocaine gel, G3 - eutectic mixture of 2.5% lidocaine and 2.5% prilocaine (EMLA[®] cream - AstraZeneca), G4 - 5% lidocaine (Xylocaine[®] ointment - AstraZeneca), G5 - placebo gel and G6 - liposome-encapsulated placebo gel. In each session, two formulations were applied on the palatal mucosa of right- and left-upper canines during two minutes, totalizing three sessions per volunteer. The formulations were placed into coded flasks and the location (right or left side) and order of application were predetermined by a random number table. After insertion of 30-G needle and injection of 0,3ml of 2% lidocaine with 1:100.000 epinephrine, painful perceptions to the needle insertion and to the anesthetic injection were rated on two separated visual analog scales (VAS). The volunteers also evaluated in a specific questionnaire which one of the formulations they would prefer if they needed of another anesthesia at the palatal mucosa. *Results.* The obtained results were submitted to the Friedman test ($\alpha=5\%$). For G1, G2, G3, G4, G5 and G6, respectively, VAS median and interquartile range (in cm) for needle insertion were 0.7 (2.4), 1.3 (1.9), 0.6 (1.1), 2.0 (1.6), 2.1 (2.9), 1.4 (2.4) and for anesthetic injection were 0.9 (2.1), 1.6 (3.0), 0.7 (1.5), 2.1 (2.1), 2.5 (2.4), 2.3 (2.6). Both G1 and G3 showed lower ($p<0.05$) VAS values for needle insertion and anesthetic injection when compared with the other groups, which did not show statistically significant differences ($p>0.05$) among them. The volunteers' preferences (in percentage) were 41.0, 25.6, 20.5, 7.7, 2.6 and 2.6 for G3, G1, G4, G2, G5 and G6, respectively. *Conclusion.* Liposome-encapsulated 5% lidocaine was equivalent to EMLA[®] in minimizing pain perception to the needle insertion and anesthetic injection.

Key Words: Dentistry, Local anesthesia, Topical anesthesia, Lidocaine, Liposomes.

Introduction

Both anxiety and fear induced by pain are still usual disturbs associated with dentists (Nuttall *et al.*, 2001). One of the most feared procedures in dental clinics is local anesthesia, certainly due to pain during needle insertion and anesthetic injection (Zed *et al.*, 1996). The pain during this procedure leads to lack of cooperation by patients, prolonged dental attendance time, unsuccessful/repeated attempts and additional pain (Taddio *et al.*, 2005). In the long term, repeated painful procedures contribute to conditioned anxiety responses and increased pain perception (Meechan, 2002; Taddio *et al.*, 2002). In order to alleviate pain from needle insertion and anesthetic injection, and reduce anxiety, topical anesthesia has been widely used in dental practice (Rosivack *et al.*, 1990).

The palatal site is known for its difficulty in acquiring adequate topical anesthesia (Gill *et al.*, 1979; Malamed, 1997; Meechan *et al.*, 2005). Primosch & Robinson (1996) concluded that topical anesthesia is less effective in minimizing injection pain at the palatal gingiva due to the firmly attached keratinized tissue inhibiting tissue distention, the poor drug penetration through this highly keratinized tissue, the potential for the injection needle to contact periosteum, and the decreased tissue buffering capacity. An efficient topical anesthetic capable of eliminating pain from needle stick and anesthetic injection in the palatal site would be a benefit for dentistry (Svensson *et al.*, 1994).

The encapsulation of drugs into liposomes represents an innovative method of drug delivery for local anesthetics (Foldvari *et al.*, 1990; Singh & Vyas, 1996; Fisher *et al.*, 1998; Mura *et al.*, 2007; Elsaie & Baumann, 2008). Local anesthetics encapsulated into liposomes have shown increased duration of analgesia, reduction of systemic levels and reduction of nervous and cardiac toxicity (Boogaerts *et al.*, 1993 and 1994). Furthermore, Foldvari *et al.* (1990) showed that liposomes facilitated the penetration of the anesthetic into the skin and provided sustained release. The potencial of liposomal local anesthetic

formulations to provide efficient topical anesthesia of the skin was demonstrated in several previous studies (Geztes & Mezei, 1988; Singh & Vyas, 1996; Hung *et al.*, 1997; Fisher *et al.*, 1998; Rømsing *et al.*, 1999; Eichenfield *et al.*, 2002; Taddio *et al.*, 2005).

Concerning the oral mucosa, significant anesthesia was induced by liposome-encapsulated local anesthetics. Zed *et al.* (1996) concluded that liposome-encapsulated 5% tetracaine gel provided higher pain relief before a local anesthetic injection than 20% benzocaine gel. Franz-Montan *et al.* (2007) showed that a two-minute application of liposomal-encapsulated 1% ropivacaine gel was equivalent to EMLA[®] in producing topical anesthesia in the buccal fold oral mucosa during needle insertion.

Thus, the aim of this study was to compare the efficacy of the following topical formulations: liposome-encapsulated 5% lidocaine gel, liposome-encapsulated 2.5% lidocaine gel, 2.5% lidocaine/2.5% prilocaine eutectic mixture (EMLA[®] cream - AstraZeneca), 5% lidocaine (Xylocaine[®] ointment - AstraZeneca), placebo gel and liposome-encapsulated placebo gel, on the palatal mucosa.

Material and Method

The Ethical Committee of Piracicaba Dental School, University of Campinas Piracicaba, Brazil (#112/2007) approved this research. This study evaluated 40 healthy volunteers (20 women and 20 men) aging 18 to 29 years-old (20.3 ± 2.31 years). Subjects were selected based on a satisfactory medical history evaluation and their agreement to provide informed consent. None of the volunteers were taking any medication that would alter pain perception, as determined by oral questioning and written health history.

The volunteers randomly received six different topical formulations in a double-blinded, cross-over, three-period treatment design. Each treatment was performed in three different appointments spaced at least one week apart (Franz-Montan *et al.*, 2007). Each volunteer received 100mg of the following topical

anesthetics: liposome-encapsulated 5% lidocaine gel, liposome-encapsulated 2.5% lidocaine gel, 2.5% lidocaine/2.5% prilocaine eutectic mixture (EMLA[®] cream - AstraZeneca), 5% lidocaine (Xylocaine[®] ointment - AstraZeneca), placebo gel and liposome-encapsulated placebo gel. In each session, two topical formulations were applied on the palatal mucosa adjacent to right- and left-upper canines during two minutes, totalizing three sessions per volunteer. The location (right or left side) and order of each treatment was predetermined by a random number table, and neither the dentist nor the volunteer knew which sites received topical anesthetic and which received placebo (Hutchins *et al.*, 1997).

Liposome and placebo formulations were prepared at the Department of Biochemistry, Institute of Biology, University of Campinas. The liposomes, prepared as described by de Araújo *et al.* (2008), were large unilamellar vesicles of homogenized sizes (400nm). The formulations not commercially available, prepared by the same operator (not involved in the application or anesthetic efficacy evaluation), consisted of identical color, taste, smell and fluidity. The gel formulations and the commercial topical anesthetics were placed into coded flasks to ensure blindness of the volunteers and the investigator involved in the application and evaluation of the anesthetics. The codes were revealed to the investigator only at the end of the research.

At each session, the mucosa at the palatal site of both right- and left-upper canines was dried using sterile gauze. The topical anesthetic agents were previously weighed and applied on palatal mucosa, 1cm distant from upper canines' cervical, by using a cotton swab. Each topical anesthetic was kept on the mucosa surface for two minutes. After topical application, the mucosa was gently wiped with sterile gauze followed by a water rinse.

Subsequently, a 30-G dental needle (Injecta Icmcod Ltda, Diadema, SP, Brazil) was inserted in the region of topical application, until periosteum contact. After that, the volunteer was informed that the anesthetic would be injected, and an injection of 0,3ml of 2% lidocaine with 1:100.000 epinephrine was performed. Pain perception after needle insertion and after anesthetic injection was

rated on two separated visual analog scales (VAS). VAS consisted of a 10-cm line where “0” indicated “no pain” and “10” indicated “unbearable pain.” Subjects were asked to mark a point on the line according to their level of perceived pain. A ruler (Desetec®) was used to measure the distance from the end-point marked “no pain” to the mark made by the volunteer (Franz-Montan *et al.*, 2007).

Afterwards the measurement of pain perception, all volunteers were asked to evaluate which one of the topical formulations they would prefer if they needed of another anesthesia at the palatal mucosa.

The results were compared by the Friedman test (BioEstat 5.0, Mamirauá Institute, Belém, PA, Brazil). The significance level was set at 5%.

Results

Liposome-encapsulated 5% lidocaine gel and EMLA® significantly ($p<0.05$) reduced pain during needle insertion and anesthetic injection when compared with the other groups, except when compared with liposome-encapsulated 2.5% lidocaine. There were no statistically significant differences among liposomal 2.5% lidocaine gel, placebo, liposomal placebo, and Xylocaine® groups ($P>0.05$). Table 1 shows median [1st and 3rd quartiles] of VAS for all groups concerning pain during needle insertion and anesthetic injection.

Table 1. VAS median [1st and 3rd quartiles] rated by volunteers after needle insertion and anesthetic injection (in cm).

Anesthetic agent	Needle insertion VAS	Anesthetic injection
	median [1 st and 3 rd quartiles]	VAS median [1 st and 3 rd quartiles]
Liposomal 5% lidocaine	0.70 [0.34 - 2.75] A	0.90 [0.34 - 2.43] A
EMLA®	0.60 [0.10 - 1.20] A	0.73 [0.24 - 1.70] A

Liposomal 2.5% lidocaine	1.25 [0.60 - 2.45] AB	1.60 [0.78 - 3.79] AB
Xylocaine®	2.00 [0.89 - 2.45] B	2.10 [0.90 – 3.00] B
Placebo	2.10 [1.08 - 3.98] B	2.48 [1.10 - 3.53] B
Liposomal placebo	1.40 [1.10 - 3.45] B	2.30 [1.20 - 3.83] B

Table 2 shows the volunteers' preference considering the anesthetic effect. EMLA® showed the higher preference as anesthetic agent among the volunteers.

Table 2. Volunteers' preference considering anesthetic effect.

Anesthetic gel	Preference (%)
EMLA®	41.0
Liposomal 5% lidocaine	25.6
Xylocaine®	20.5
Liposomal 2.5% lidocaine	7.7
Placebo	2.6
Liposomal placebo	2.6

No adverse effects were observed after the application of all the formulations.

Discussion

Topical anesthetics are usually used by dentists to reduce pain during dental anesthesia. To date, there is no evidence about the efficacy of a topical anesthetic for oral use that completely eliminates the pain during needle insertion

and anesthetic injection, especially on palatal mucosa (Gill *et al.*, 1979; Malamed, 1997, Meechan *et al.*, 2005).

Searching for more efficient topical anesthetics, studies have demonstrated the superiority of EMLA[®] anesthetic activity on oral mucosa. The relative anesthetic effects of EMLA[®] and lidocaine gel were previously assessed by several authors (Holst & Evers, 1985; Hassio *et al.*, 1990; Svensson *et al.*, 1992; Donaldson & Meechan, 1995; Roghani *et al.*, 1999; McMillan *et al.*, 2000). Hassio *et al.* (1990) compared EMLA[®] to 10% lidocaine spray and found that both were effective in anesthetizing gingival mucosa, in contrast to Roghani *et al.* (1999), which concluded that EMLA[®] was superior in performance to 10% lidocaine spray. Differences in the methodology such as patient age, number of volunteers and also the inclusion of a placebo group could explain the difference in results between these studies.

Svensson *et al.* (1992) observed that the anesthetic efficacy after a two-minute application of EMLA[®] was better than after a two-minute application of 2% lidocaine gel on tongue mucosa and anterior buccal gingiva. Also, Donaldson & Meechan (1995) and McMillan *et al.* (2000) demonstrated that EMLA[®] was a more effective topical anesthetic agent than lidocaine 5% alone on the buccal mucosa. Holst & Evers (1985) showed that there were no differences between EMLA[®] and 5% lidocaine ointment in producing analgesia at the buccal fold after a two-minute application. However, this period of exposure was unsatisfactory in anesthetizing the palatal mucosa; after five minutes, EMLA[®] was more effective in anesthetizing the palatal mucosa than lidocaine.

In contrast to this investigation, none of the above studies compared EMLA[®] with liposome encapsulated-lidocaine, once liposome represents an innovative method of drug delivery for local anesthetics. Foldvari *et al.* (1990) demonstrated that liposomal encapsulation of local anesthetics enhanced penetration through skin, providing sustained release and usually lower toxicity.

An adequate topical anesthesia on palatal mucosa is usually not achieved (Gill *et al.*, 1979; Malamed, 1997). Harker (1997) attributes the pain associated to the local anesthetic administration to the dislocation of the muco-periosteum of palate during anesthetic injection. In agreement with this, Hutchins *et al.* (1997) stated that topical anesthetic' efficacy is better evaluated if an injection is actually given rather than only simulated. One common defect of several previous studies is that only needle pinpricks were used to evaluate intraoral anesthesia (Hutchings *et al.*, 1997). Therefore, in the present study we decided to test liposomal lidocaine in a very strict model for oral topical anesthetic: local anesthetic injection at the palatal mucosa of the upper's canines.

Previous studies investigated the potential of liposomal local anesthetics formulations to provide topical anesthesia of the intact skin. Geztes & Mezei (1988) demonstrated that liposome-encapsulated 0.5% tetracaine was superior to non-encapsulated 0.5% tetracaine (Pontacaine[®] cream) in reducing pain to needle insertion in skin. In addition, Bucalo *et al.* (1998) showed that liposomal 5% lidocaine evidenced longer duration of anesthesia in skin than non-liposomal 5% lidocaine and the same anesthetic effectiveness than EMLA[®]. In agreement with the latter statement, this study concluded that liposomal encapsulated 5% lidocaine gel was superior to non-encapsulated 5% lidocaine (Xylocaine[®] ointment) and equivalent to EMLA[®] in reducing pain from needle insertion and anesthetic injection at palatal mucosa.

Concerning oral mucosa, recently, it was shown that liposome encapsulated 1% ropivacaine gel was equivalent to EMLA[®] in reducing pain during needle insertion (no anesthetic solution was injected) in the maxillary buccal fold after a two-minute application (Franz-Montan, *et al.*, 2007). These findings corroborate the ones from this study, once a liposome encapsulated formulation presented anesthetic efficacy equivalent to EMLA[®]. Likewise, Friedman *et al.* (1999) showed that ELA-Max[®] (4% liposomal lidocaine) was equivalent to EMLA[®] in anesthetizing skin. Moreover, Hung *et al.* (1997) and Fisher *et al.* (1998) showed

that liposome-encapsulated 5% tetracaine cream produced better superficial local anesthesia than EMLA[®].

Although EMLA[®] has been reported to be an effective topical anesthetic for oral use (Vickers & Punnia-Moorthy, 1993; Roghani *et al.*, 1999; McMillan *et al.*, 2000), bitter taste (pH = 9.0), low viscosity and cost are among the many disadvantages of EMLA[®] use in the oral mucosa (Meechan & Donaldson, 1994). Also, Franz-Montan *et al.* (2008) reported four cases of mucosa ulceration after a 30-minute application of EMLA[®] (0.3 g) as a topical anesthetic in dentistry. In the present study, EMLA[®] was applied on oral mucosa for only two minutes.

The disadvantages of EMLA[®], in addition with the lack of an efficient topical anesthetic for oral use and the advantages of liposome-encapsulation, have stimulated the search for an ideal topical anesthetic. In the present study, lidocaine was chosen to be liposome-encapsulated due to its well-known characteristics, e.g., rapid onset of action and safety. EMLA[®] is also associated with methemoglobinemia, which is a serious complication that involves the oxidation of iron from the ferrous to the ferric state, rendering the hemoglobin unable of transporting oxygen (Friedman, *et al.*, 2001).

Thought, it is important to state that cases of local anesthetic-induced methemoglobinemia in dental practice are under-recognized and rare (Wilburn-Goo & Lloyd, 1999). It has been reported, mainly, in neonates that became cyanotic after application of a considerable quantity of the anesthetic for a long period of time (Jacobson & Nilssen, 1985; Taddio *et al.*, 1998).

In conclusion, liposome-encapsulated 5% lidocaine was equivalent to EMLA[®] in reducing pain during needle insertion and anesthetic injection and it should be considered an efficient topical anesthetic in dentistry.

References

1. Boogaerts J, Declercq A, Lafont N, et al. Toxicity of bupivacaine encapsulated into liposomes and injected intravenously: comparison with plain solutions. *Anesth Analg*. 1993; 76(3): 553-5.
2. Boogaerts JG, Lafont ND, Declercq AG, et al. Epidural administration of liposome-associated bupivacaine for the management of postsurgical pain: a first study. *J Clin Anesth*. 1994; 6: 315–20.
3. Bucalo BD, Mirikitani EJ, Moy RL. Comparison of skin anesthetic effect of liposomal lidocaine, nonliposomal lidocaine, and EMLA using 30-minute application time. *Dermatol Surg*. 1998; 24(5): 537-41.
4. de Araujo DR, Cereda CM, Brunetto GB, Vomero VU, Pierucci A, Neto HS, de Oliveira AL, Fraceto LF, Braga Ade F, de Paula E. Pharmacological and local toxicity studies of a liposomal formulation for the novel local anaesthetic ropivacaine. *J Pharm Pharmacol*. 2008; 60(11): 1449-57.
5. Donaldson D, Meechan JG. A Comparison of the Effects of EMLA® Cream and Topical 5% Lidocaine on Discomfort during Gingival Probing. *Anesth Prog*. 1995; 42: 7-10.
6. Eichenfield LF, Funk A, Fallon-Friedlander S, Cunningham BB. A clinical study to evaluate the efficacy of ELA-Max (4% liposomal lidocaine) as compared with eutectic mixture of local anesthetics cream for pain reduction of venipuncture in children. *Pediatrics*. 2002; 109: 1093-9.
7. Elsaie ML, Baumann LS. Evaluation of liposomal delivery system for topical anesthesia. *Cutis*. 2008; 81(3): 285-9.
8. Fisher R, Hung O, Mezei, Stuart R. Topical anaesthesia of intact skin: liposome-encapsulated tetracaine vs EMLA. *Br J Anaesth*. 1998; 81: 972-973.

9. Foldvari M, Gesztes A, Mezei M. Dermal drug delivery by liposomal encapsulation: Clinical and electron microscopic studies. *J Microencap.* 1990; 7: 479-489.
10. Franz-Montan M, Silva AL, Cogo K, Bergamaschi Cde C, Volpato MC, Ranali J, de Paula E, Groppo FC. Liposome-encapsulated ropivacaine for topical anesthesia of human oral mucosa. *Anesth Analg.* 2007; 104(6): 1528-31.
11. Franz-Montan M, Ranali J, Ramacciato JC, de Andrade ED, Volpato MC, Groppo FC. Ulceration of gingival mucosa after topical application of EMLA: report of four cases. *Br Dent J.* 2008 9; 204(3): 133-4.
12. Friedman PM, Fogelman JP, Nouri K, Levine VJ, Ashinoff R. Comparative study of the efficacy of four topical anesthetics. *Dermatol Surg.* 1999; 25(12):950-4.
13. Friedman PM, Mafong EA, Friedman ES, Geronemus RG. Topical anesthetics update: EMLA and beyond. *Am Soc Derm Surg.* 2001; 27: 1019-26.
14. Gesztes A, Mezei M. Topical anesthesia of the skin by liposome-encapsulated tetracaine. *Anesth Analg.* 1988; 67(11): 1079-81.
15. Gill CJ, Orr DL. A Double-blind crossover comparison of topical anesthetics. *J Am Dent Assoc.* 1979; 98: 213-4.
16. Harker T. What injection? *Br Dent J.* 1997; 182(2): 50.
17. Hassio J, Jokinen T, Numminen M, Rosenberg PH. Topical anaesthesia of gingival mucosa by 5% eutectic mixture of lignocaine and prilocaine or by 10% lignocaine spray. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1990; 28(2): 99-101.
18. Holst A, Evers H. Experimental studies of new topical anaesthetics on the oral mucosa. *Swed Dent J.* 1985; 9: 185-191.
19. Hung OR, Comeau L, Riley MR, Tan S, Whynot S, Mezei M. Comparative topical anaesthesia of EMLA and liposome-encapsulated tetracaine. *Can J Anaesth.* 1997; 44(7): 707-11

20. Hutchins HS Jr, Young FA, Lackland DT, Fishburne CP. The effectiveness of topical anesthesia and vibration in alleviating the pain of oral injections. *Anesth Prog.* 1997; 44(3): 87-9.
21. Jacobson B, Nilssen A. Methemoglobinemia associated with prilocaine-lidocaine cream and trimethoprin-sulphamethoxazole. A case report. *Acta Anesthesiol Scand.* 1985; 29: 453-5.
22. Malamed S. *Handbook of Local Anesthesia*, 4th ed., Mosby, St. Louis, 1997, pp 18, 100, 175.
23. McMillan AS, Walshaw D, Meechan JG. The efficacy of Emla® and 5% lignocaine gel for anaesthesia of human gingival mucosa. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2000; 38: 58-61.
24. Meechan JG, Donaldson D. The intraoral use of EMLA cream in children: a clinical investigation. *ASDC J Dent Child.* 1994; 61: 260 –2.
25. Meechan JG. Effective topical anesthetic agents and techniques. *Dent Clin North Am.* 2002; 46(4): 759-66.
26. Meechan JG, Howlett PC, Smith BD. Factors influencing the discomfort of intraoral needle penetration. *Anesth Prog.* 2005; 52(3): 91-4.
27. Mura P, Maestrelli F, González-Rodríguez ML, Michelacci I, Ghelardini C, Rabasco AM. Development, characterization and in vivo evaluation of benzocaine-loaded liposomes. *Eur J Pharm Biopharm.* 2007; 67(1): 86-95.
28. Nuttall NM, Bradnock G, White D, Morris J, Nunn J. Dental attendance in 1998 and implications for the future. *Br Dent J.* 2001; 190(4): 177-82.
29. Primosch R, Robinson L. Pain elicited during intraoral infiltration with buffered lidocaine. *Am J Dent.* 1996; 9: 5-10.
30. Roghani S, Duperon DF, Barcohana N. Evaluating the efficacy of commonly used topical anesthetics. *Pediatr Dent.* 1999; 21: 197–200.
31. Rømsing J, Henneberg SW, Walther-Larsen S, Kjeldsen C. Tetracaine gel vs EMLA cream for percutaneous anaesthesia in children. *Br J Anaesth.* 1999; 82(4): 637-8.

32. Rosivack R.G., S.R. Koenigsberg and K.C. Maxwell. An analysis of the effectiveness of two topical anesthetics, *Anesthesia Progress*. 1990; 37(6): 290-2.
33. Singh R, Vyas SP. Topical liposomal system for localized and controlled drug delivery. *J Dermatol Sci*. 1996; 13(2): 107-11.
34. Svensson P, Bjerring P, Arendt-Nielsen L, Kaaber S. Hypoalgesic effect of EMLA and lidocaine gel applied on human oral mucosa: quantitative evaluation by sensory and pain thresholds to argon laser stimulation. *Anesth Prog*. 1992; 39(1-2): 4-8.
35. Svensson P, Petersen JK, Svensson H. Efficacy of a topical anesthetic on pain and unpleasantness during scaling of gingival pockets. *Anesth Prog*. 1994; 41(2): 35-9.
36. Taddio A, Ohlsson A, Einarson T, Stevens B, Koren G. A systematic review of lidocaine-prilocaine cream (EMLA) in the treatment of acute pain in neonates. *Pediatrics*. 1998; 101(2): E1.
37. Taddio A, Shah V, Gilbert-MacLeod C, Katz J. Conditioning and hyperalgesia in newborns exposed to repeated heel lances. *JAMA*. 2002; 288(7): 857-61.
38. Taddio A, Soin HK, Schuh S, Koren G, Scolnik D. Liposomal lidocaine to improve procedural success rates and reduce procedural pain among children: a randomized controlled trial. *CMAJ*. 2005; 172(13): 1691-5.
39. Vickers ER, Punnia-Moorthy A. Pulpal anesthesia from an application of a eutectic topical anesthetic. *Quintessence Int*. 1993; 24: 547-51.
40. Wilburn-Goo D, Lloyd LM. When patients become cyanotic: acquired methemoglobinemia. *JADA*. 1999; 130(6): 826-31.
41. Zed CM, Epstein J, Donaldson D. Topical liposome encapsulated tetracaine versus benzocaine: a clinical investigation. *J Den Res*. 1996; 75: 247.

CONCLUSÃO

A lidocaína encapsulada em vesículas lipossomais na concentração de 5% foi equivalente ao EMLA[®] em reduzir a dor à punção da agulha e a injeção da solução anestésica na mucosa palatina e pode ser considerada como uma boa opção para anestesia tópica na odontologia.

REFERÊNCIAS *

1. EMLA package insert. Westborough, MA: Astra USA, Inc., 1998.
2. Grant GJ, Bansinath M. Liposomal delivery systems for local anesthetics. *Reg Anesth Pain Med*. 2001; 26: 61-63.
3. Grant SA. The Holy Grail: long-acting local anaesthetics and liposomes. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2002; 16(2): 345-52.
4. Malinovsky JM, Benhamou D, Alafandy M, Mussini JM, Coussaert C, Couarraze G, Pinaud M, Legros FJ. Neurotoxicological assessment after intracisternal injection of liposomal bupivacaine in rabbits. *Anesth Analg*. 1997; 85(6): 1331-6.
5. Meechan JG. The use of EMLA for an intraoral soft-tissue biopsy in a needle phobic: a case report. *Anesth Prog*. 2001; 48(1): 32-4.
6. Meechan JG, Thomason JM. A comparison of 2 topical anesthetics on the discomfort of intraligamentary injections: a double-blind, split-mouth volunteer clinical trial. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1999; 87(3): 362-5.
7. Mowat JJ, et al. Liposomal bupivacaine. *Anesthesiol*. 1996; 85: 635-643.
8. Munshi AK, Hegde AM, Latha R. Use of EMLA: is it an injection free alternative? *J Clin Pediatr Dent*. 2001; 25(3): 215-9.
9. Ost L-G. Blood and injection phobia: background and cognitive, physiological, and behavioral variables. *J Abnormal Psychol*. 1992; 101: 68-74.
10. Powell DM, Rodeheaver GT, Foresman PA, Hankins CL, Bellian KT, Zimmer CA, et al. Damage to tissue defenses by EMLA cream. *J Emerg Med*. 1991; 9(4): 205-9.
11. Primosch RE, Rolland-Asensi G. Comparison of topical EMLA 5% oral adhesive to benzocaine 20% on the pain experienced during palatal anesthetic infiltration in children. *Pediatr Dent*. 2001; 23: 11– 4.

12. Suhonen R, Kanerva L. Contact allergy and cross-reactions caused by prilocaine. *Am J Contact Dermat.* 1997; 8(4): 231-5.
13. Svensson P, Kolsen Petersen J. Anesthetic effect of EMLA occluded with Orahesive Oral Bandages on oral mucosa. A placebo-controlled study. *Anesth Prog.* 1992; 39: 79-82.
14. Vickers ER, Marzbani N, Gerzina TM, McLean C, Punnia-Moorthy A, Mather L: Pharmacokinetics of EMLA cream 5% application to oral mucosa. *Anesth Prog.* 1997; 44(1): 32-7.
15. Vongsavan K, Vongsavan N. Comparision of topical anesthetic gel and TENS in reducing pain [abstract 1841]. *J Dent Res.* 1996; 75: 248.
16. Yu HY, Li SD, Sun P. Kinetic and dynamic studies of liposomal bupivacaine and bupivacaine solution after subcutaneous injection in rats. *J Pharm Pharmacol.* 2002; 54(9): 1221-1227.
17. Waton J, Boulanger A, Trechot PH, Schmutz JL, Barbaud A. Contact urticaria from Emla cream. *Contact Dermatitis.* 2004; 51(5-6): 284-7.

* De acordo com o Modelo Vancouver.

ANEXOS

ANEXO 1

INFORMAÇÃO CCPG/002/06

Tendo em vista a necessidade de revisão da regulamentação das normas sobre o formato e a impressão das dissertações de mestrado e teses de doutorado e com base no entendimento exarado no Parecer PG nº 1985/96, que trata da possibilidade do formato alternativo ao já estabelecido, a CCPG resolve:

Artigo 1º - O formato padrão das dissertações e teses de mestrado e doutorado da UNICAMP deverão obrigatoriamente conter:

- I. Capa com formato único ou em formato alternativo que deverá conter informações relativas ao nível (mestrado ou doutorado) e à Unidade de defesa, fazendo referência à Universidade Estadual de Campinas, sendo o projeto gráfico das capas definido pela PRPG.
- II. Primeira folha interna dando visibilidade à Universidade, a Unidade de defesa, ao nome do autor, ao título do trabalho, ao número de volumes (quando houver mais de um), ao nível (mestrado ou doutorado), a área de concentração, ao nome do orientador e co-orientador, ao local (cidade) e ao ano de depósito. No seu verso deve constar a ficha catalográfica.
- III. Folha de aprovação, dando visibilidade à Comissão Julgadora com as respectivas assinaturas.
- IV. Resumo em português e em inglês (ambos com no máximo 500 palavras).
- V. Sumário.
- VI. Corpo da dissertação ou tese dividido em tópicos estruturados de modo característico à área de conhecimento.
- VII. Referências, formatadas segundo normas de referenciamento definidas pela CPG da Unidade ou por critério do orientador.
- VIII. Todas as páginas deverão, obrigatoriamente, ser numeradas, inclusive páginas iniciais, divisões de capítulos, encartes, anexos, etc... As páginas iniciais poderão ser numeradas utilizando-se algarismos romanos em sua forma minúscula.
- IX. Todas as páginas com numeração "ímpar" serão impressas como "frente" e todas as páginas com numeração "par" serão impressas como "verso".

§ 1º - A critério do autor e do orientador poderão ser incluídos: dedicatória; agradecimento; epígrafe; lista de: ilustrações, tabelas, abreviaturas e siglas, símbolos; glossário; apêndice; anexos.

§ 2º - A dissertação ou tese deverá ser apresentada na língua portuguesa, com exceção da possibilidade permitida no artigo 2º desta Informação.

§ 3º - As dissertações e teses cujo conteúdo versar sobre pesquisa envolvendo seres humanos, animais ou biossegurança, deverão apresentar anexos os respectivos documentos de aprovação.

Artigo 2º - A critério do orientador e com aprovação da CPG da Unidade, os capítulos e os apêndices poderão conter cópias de artigos de autoria ou de co-autoria do candidato, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, escritos no idioma exigido pelo veículo de divulgação.

§ único - O orientador e o candidato deverão verificar junto às editoras a possibilidade de inclusão dos artigos na dissertação ou tese, em atendimento à legislação que rege o direito autoral, obtendo, se necessária, a competente autorização, deverão assinar declaração de que não estão infringindo o direito autoral transferido à editora.

Artigo 3º - Dependendo da área do conhecimento, a critério do orientador e com aprovação da CPG da Unidade, a dissertação ou tese poderá ser apresentada em formato alternativo, desde que observados os incisos I, II, III, IV, V e VII do artigo 1º.

Artigo 4º - Para impressão, na gráfica da Unicamp, dos exemplares definitivos de dissertações e teses defendidas, deverão ser adotados os seguintes procedimentos:

§ 1º - A solicitação para impressão dos exemplares de dissertações e teses poderá ser encaminhada à gráfica da Unicamp pelas Unidades, que se responsabilizarão pelo pagamento correspondente.

§ 2º - Um original da dissertação ou tese, em versão definitiva, impresso em folha tamanho carta, em uma só face, deve ser encaminhado à gráfica da Unicamp acompanhado do formulário "Requisição de Serviços Gráficos", onde conste o número de exemplares solicitados.

§ 3º - A gráfica da Unicamp imprimirá os exemplares solicitados com capa padrão. Os exemplares solicitados serão retirados pelas Unidades em no máximo, cinco dias úteis para impressão preto e branco e 10 dias úteis para coloridas.

§ 4º - No formulário "Requisição de Serviços Gráficos" deverão estar indicadas as páginas cuja reprodução deva ser feita no padrão "cores" ou "foto", ficando entendido que as demais páginas devam ser reproduzidas no padrão preto/branco comum.

§ 5º - As dissertações e teses serão reproduzidas no padrão frente e verso, exceção feita às páginas iniciais e divisões de capítulos; dissertações e teses com até 100 páginas serão reproduzidas no padrão apenas frente, exceção feita à página que contém a ficha catalográfica.

§ 6º - As páginas fornecidas para inserção deverão ser impressas em sua forma definitiva, ou seja, apenas frente ou frente/verso.

§ 7º - O custo, em reais, de cada exemplar produzido pela gráfica será definido pela Administração Superior da Universidade.

Artigo 5º - É obrigatória a entrega de dois exemplares para homologação.

Artigo 6º - Esta Informação entrará em vigor na data de sua publicação, ficando revogadas as disposições em contrário, principalmente as Informações CCPG 001 e 002/98 e CCPG/001/00.

Campinas, 13 de setembro de 2006



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "Atividade anestésica da lidocaina encapsulada em lipossomas na Odontologia", protocolo nº 112/2007, dos pesquisadores FRANCISCO CARLOS GROPPPO, DANIELA BELISARIO BARONI, ENEIDA DE PAULA e MARIA CRISTINA VOLPATO, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 28/01/2008.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project "Local anesthetic activity of liposomal formulations in dentistry", register number 112/2007, of FRANCISCO CARLOS GROPPPO, DANIELA BELISARIO BARONI, ENEIDA DE PAULA and MARIA CRISTINA VOLPATO, comply with the recommendations of the National Health Council – Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 28/01/2008.

Cynthia Perelra Machado Tabchoury
 Profa. Cíntia Perelra Machado Tabchoury

Secretária
 CEP/FOP/UNICAMP

Jacks Jorge Júnior
 Prof. Jacks Jorge Júnior

Coordenador
 CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
 Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.