



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA - FOP



MICHELLE FRANZ MONTAN  
CIRURGIÃ DENTISTA

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA ANESTÉSICA DA  
ROPIVACAÍNA A 1% ENCAPSULADA EM  
LIPOSSOMAS, EM ANESTESIA TÓPICA EM  
ODONTOLOGIA.

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.

**Piracicaba, SP  
2006**

Michelle Franz Montan  
Cirurgiã Dentista

Avaliação da eficácia anestésica da ropivacaína a 1% encapsulada em lipossomas, em anestesia tópica em Odontologia.

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-orientador: Prof. Dra. Eneida de Paula**

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo

Prof. Dr. Carlos Ferreira dos Santos

Prof. Dr. Márcio de Moraes

**Piracicaba, SP  
2006**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA  
Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

M762a Montan, Michelle Franz.  
Avaliação da eficácia anestésica da ropivacaína a 1%  
encapsulada em lipossomas, em anestesia tópica em Odontologia. /  
Michelle Franz Montan. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2006.

Orientadores: Francisco Carlos Groppo, Eneida de  
Paula.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas,  
Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Anestesia local. 2. Mucosa bucal. 3. Anestésicos locais.  
I. Groppo, Francisco Carlos. II. Paula, Eneida de. III.  
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de  
Piracicaba. IV. Título.

(mg/fop)

Título em inglês: Evaluation of the anesthetic efficacy of liposome encapsulated 1% ropivacaine gel for topical anesthesia in Dentistry

Palavras-chave em inglês (Keywords): 1. Anesthesia, local. 2. Mouth mucosa. 3. Anesthetics, local

Área de concentração: Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica

Titulação: Mestre em Odontologia

Banca examinadora: Francisco Carlos Groppo, Carlos Ferreira dos Santos, Márcio de Moraes

Data da defesa: 17/02/2006



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 17 de Fevereiro de 2006, considerou a candidata MICHELLE FRANZ MONTAN aprovada.

PROF. DR. FRANCISCO CARLOS GROPPPO

PROF. DR. CARLOS FERREIRA DOS SANTOS

PROF. DR. MARCIO DE MORAES

200607879

## ***Dedico este trabalho***

À *Deus*, por toda minha vida, por amigos e família.

À minha mãe *Margot*, por ser uma mãe maravilhosa, meiga, pela amizade, sempre me apoiar em todas minhas decisões, com muito amor, por toda a sabedoria, pelos conselhos, paciência nos momentos mais difíceis, por todo sacrifício e colaboração.

Ao meu pai *Edson*, por ser uma pessoa compreensiva, sempre me incentivando e me dando força e carinho, conselhos e ajudas.

Aos meus irmãos *Patrick e Henry*, por me aturarem em todos os momentos de estresse, pela grande amizade, companheirismo, apoio em todas as minhas decisões, pelo grande carinho de sempre.

Ao *Gustavo*, meu namorado, que sempre me acompanhou em todos os momentos de dificuldade, ajudou e incentivou na escolha deste caminho, me deu a maior força durante as fases mais difíceis, me aturou nos momentos de mau humor, sempre com todo carinho, amor, dedicação e amizade.

Aos meus avós paternos *Hermínio e Jurandir*, que sempre me apóiam com muito carinho e amor, aos meus avós maternos “*Omama e Opapa*” que apesar de não estarem mais entre nós, sempre serão lembrados com muito amor, minhas tias *Bete e Íria* e meu tio *Karl “Zépil”*, pessoas muito especiais na minha vida.

## **Meus sinceros agradecimentos,**

*A Universidade Estadual de Campinas, por meio do Reitor José Tadeu Jorge.*

*A Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP-UNICAMP), por meio do diretor Thales Rocha de Mattos Filho.*

*Ao Departamento de Ciências Fisiológicas da FOP, por meio do chefe de departamento Profa. Dra. Cínthia Pereira Machado Tabchoury.*

*Ao Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen, coordenador dos cursos de Pós-Graduação da FOP/UNICAMP e ao Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia.*

*Aos professores e amigos da Área de Farmacologia, Anestesiologia, e Terapêutica, Profa. Maria Cristina, Prof. Francisco Groppo, Prof. José Ranali, Prof. Eduardo, e Prof. Thales, Prof. Pedro e a todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Odontologia de Piracicaba.*

*Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela bolsa de estudo concedida.*

*Ao meu orientador Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo, minha gratidão por todos esses anos de oportunidades, orientação e amizade, exemplo de professor e seriedade.*

À minha co-orientadora *Profa. Dra. Eneida de Paula*, exemplo de pesquisadora e orientadora, pela participação e colaboração fundamental neste experimento, mesmo à distância.

À *Profa Dra. Maria Cristina Volpato*, pela amizade, pelo auxílio em todos os momentos de desespero, por estar sempre disposta a ajudar e esclarecer todas as minhas dúvidas.

Aos *Professores Pedro Luis Rosalen, Thales Rocha Mattos Filho e Maria Cristina Volpato*, membros da banca de qualificação, pelas sugestões para realização e finalização deste projeto.

À *Maria Elisa, Flávio, Rodrigo* que sempre me incentivaram e torceram por mim.

Aos amigos e companheiros de longas jornadas no laboratório *Karina, Cris e Gilson*, pelo companheirismo, grande amizade, momentos de risadas, feriados no laboratório, almoços divertidos e grande carinho.

À *Jú Cama*, que me convidou a entrar para a Farmaco, foi minha co-orientadora durante a minha iniciação científica, sempre companheira, me ensinou muitas coisas, grande amiga que considero com muito carinho.

Ao *André* do IB, sempre me acudindo nos momentos de desespero, manipulando os géis da minha pesquisa, me ensinando as técnicas de manipulação dos lipossomas e da ropivacaína.

Aos colegas farmacológicos *Rodrigo, Humberto, Alcides, Ramiro, Marcos, Felipe, Lu e Dani da iniciação, Myrella, Lossi e Jorge Valério (quase farmacológico)* pelo companheirismo e amizade.

Aos colegas que já defenderam o doutorado, mas que foram grandes companheiros de momentos difíceis e grandes amigos, que deixaram saudades e um grande vazio no laboratório *Sinvaldo, Rogério, Simon, Ana e Roberta*, muita saudade de todos.

Às minhas grandes amigas *Regiane e Gi Tofoli*, grandes amigadas que guardo com muito carinho no coração, pela ajuda com cadernos e dúvidas nos exames de seleção do mestrado e do doutorado, seminários e pelos momentos de risadas e divertimento, desde a graduação.

Às minhas amigas da graduação, *Lídia, Fada, Purple, Maitê, Karen, Pessoa, Lú, Carla Rosado, Paty e Irina* que sempre terei imenso carinho por todas, pela grande amizade criada nesta fase da vida tão especial.

Às minhas amigas de infância *Ana Maria e Giovana*, que sempre foram grandes companheiras, amigas de todos os momentos, que sempre terei grande carinho.

Aos *voluntários* agradeço pela colaboração, disposição, paciência e por acreditarem neste trabalho.

À *Eliane*, excelente técnica de laboratório, amiga e confidente, sempre incentivando, ajudando e dando sábios conselhos.

À *Elisa*, calma, prestativa e sempre pronta ajudar.

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

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



## SUMÁRIO

### SUMÁRIO

	RESUMO	01
	ABSTRACT	02
1	INTRODUÇÃO	03
2	PROPOSIÇÃO	09
3	CAPÍTULOS	10
3.1	CAPÍTULO 1	11
3.2	CAPÍTULO 2	30
4	CONCLUSÃO	46
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
6	ANEXOS	
6.1.	ANEXO 1 - Termo de consentimento livre esclarecido	51
6.2	ANEXO 2 - Certificado de aprovação do comitê de ética da Faculdade de Odontologia de Piracicaba	54
6.3	ANEXO 3 - Confirmação de submissão do artigo à revista <i>“Quintessence International”</i>	55
6.4	ANEXO 4 - Resolução do formato alternativo para defesa CCPG - 001/98	56

## RESUMO

### RESUMO

O objetivo deste estudo cruzado e cego foi avaliar a eficácia da anestesia tópica de ropivacaína a 1% (forma lipossomada ou não) em Odontologia. Trinta voluntários foram submetidos à anestesia tópica com quatro anestésicos, em oito sessões (tratamentos) determinadas aleatoriamente: 20mg de gel de ropivacaína a 1% -Ropi-20, 60mg de gel de ropivacaína a 1% -Ropi-60, 20mg de gel de ropivacaína a 1% encapsulada em lipossomas -RopiLipo-20, 60mg de gel de ropivacaína a 1% encapsulada em lipossomas -RopiLipo-60, 20mg da mistura eutética de lidocaína a 2.5% e prilocaína a 2.5% (EMLA cream AstraZeneca®) - EMLA-20, 60mg de EMLA cream -EMLA-60, 20mg de gel de benzocaína a 20% (Benzotop® DFL) -Benzo-20 e 60mg de gel de benzocaína a 20% -Benzo-60. Cada tratamento foi aplicado no fundo de sulco da região de canino superior direito durante dois minutos; o intervalo entre os tratamentos foi de uma semana. Foram avaliadas a anestesia pulpar, por meio de estímulo elétrico (pulp tester); a dor durante a punção por meio das escalas analógica visual (EAV) e de 11 pontos em caixa (E11); e a anestesia em tecido mole por meio de estímulo físico. A influência do anestésico na resposta pulpar foi avaliada durante 20 minutos após a aplicação do anestésico tópico. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos com relação às escalas EAV e E11 ( $p>0.05$ ). A duração da anestesia em tecido mole com o EMLA-60 e RopiLipo-60 foi maior ( $p<0.05$ ) do que com os outros tratamentos. No entanto, entre EMLA-60 e RopiLipo-60 não houve diferença estatisticamente significativa ( $p>0.05$ ). Nenhum dos tratamentos avaliados exerceu efeito anestésico sobre o tecido pulpar. Assim, a ropivacaína a 1% encapsulada ou não em lipossomas apresentaram eficácia semelhante em reduzir a dor à punção em comparação aos outros anestésicos avaliados, no entanto, nas condições avaliadas, nenhum dos anestésicos exerceu influência sobre a resposta pulpar.

## **ABSTRACT**

### **ABSTRACT**

The objective of this blind and crossover study was to evaluate the efficacy of 1% ropivacaine (liposomal and nonliposomal) for topical anesthesia in Dentistry. Thirty healthy volunteers randomly received the following treatments in eight sessions: 20mg of 1% ropivacaine -Ropi-20, 60mg of 1% ropivacaine -Ropi-60, 20mg of liposome encapsulated 1% ropivacaine -RopiLipo-20, 60mg of liposome encapsulated 1% ropivacaine -RopiLipo-60, 20mg of the eutectic mixture of 2.5% lidocaine and 2.5% prilocaine (EMLA cream AstraZeneca<sup>®</sup>) -EMLA-20, 60mg of EMLA cream -EMLA-60, 20mg of 20% benzocaine gel (Benzotop<sup>®</sup> DFL) -Benzo-20 and 60mg of 20% benzocaine gel -Benzo-60. At different sessions each treatment was applied in the maxillary-buccal fold of the right canine for two minutes; one week of interval between treatments. Pulpal anesthesia was evaluated using an electrical pulp tester; pain during needle insertion by using a visual analogue scale (VAS) and 11-point box scale (BS-11) and soft tissue anesthesia by using a pinprick test. The influence on pulpal response was assessed for 20 minutes after topical application. There were no statistically significant differences among treatments considering VAS and BS-11 scores ( $p=0.177$  and  $p=0.179$ , respectively). RopiLipo-60 and EMLA-60 provided a statistically significant longer duration of topical anesthesia than the other topical agents ( $p<0.05$ ), however, RopiLipo-60 was not significantly different from EMLA-60 ( $p>0.05$ ). There was no influence on the pulpal response provided by the topical anesthetics evaluated. Liposome and nonliposomal ropivacaine gel at 1% concentration showed similar efficacy for topical anesthesia in oral mucosa when compared to the other topical anesthetics. However, none of the topical anesthetics evaluated were effective in inducing pulpal anesthesia under the evaluated conditions.

## INTRODUÇÃO

### 1. INTRODUÇÃO

A anestesia local é o método de controle da dor mais empregado em Odontologia. Entretanto, este procedimento é um dos mais poderosos agentes indutores de estresse nos pacientes, principalmente devido à utilização de agulhas. A anestesia tópica é o principal método utilizado para minimizar a dor provocada pela punção durante o procedimento da anestesia local (Martin *et al.*, 1994).

A anestesia tópica tem demonstrado grande eficácia na redução do desconforto da punção em quase todos os casos, exceto em anestésias tronculares (Meechan, 2000; Meechan, 2002).

A eficácia da anestesia tópica depende de alguns fatores como, agente anestésico utilizado, tempo de aplicação do anestésico tópico, sítio de aplicação, além de fatores ligados à infiltração do anestésico como diâmetro da agulha utilizada e profundidade da penetração da agulha (Meechan, 2002).

O anestésico tópico mais utilizado é a benzocaína a 20% na formulação de gel, devido ao rápido início de ação (30 segundos), gosto aceitável e reduzida absorção sistêmica (Priemosch & Rolland-Asensi, 2001).

Anestésicos do grupo éster, como a benzocaína e a tetracaína, ainda usados como anestésicos tópicos em Odontologia, possuem maior potencialidade alérgica do que os pertencentes ao grupo amida (Meechan, 2002). A eficácia da benzocaína em minimizar a dor à punção em anestesia infiltrativa da região anterior na maxila e em mucosa palatina já foi demonstrada (Rosa *et al.*, 1999; Nusstein & Beck, 2003). No entanto, sua eficácia como anestésico tópico não foi significativa previamente à anestesia regional do nervo alveolar inferior (Meechan, 2002).

Nos últimos anos, a mistura eutética de dois anestésicos a base de lidocaína e prilocaína (EMLA<sup>®</sup> Astra Zeneca) tem desempenhado a maior eficácia em comparação à benzocaína e à lidocaína em anestesia tópica (Vickers & Punnia-Moorthy, 1993; Roghani *et al.*, 1999; McMillan *et al.*, 2000).

## INTRODUÇÃO

A sigla EMLA, do inglês *Eutectic Mixture of Local Anesthetics*, designa uma mistura eutética de anestésicos locais. Esta denominação é dada quando a combinação dos agentes (lidocaína e prilocaína) apresenta ponto de fusão inferior ao apresentado pelas substâncias em suas formas isoladas. A lidocaína, a prilocaína e a mistura eutética possuem ponto de fusão 69°C, 37°C e 17°C respectivamente. Esta propriedade permite que o agente anestésico fique na forma de óleo na temperatura da cavidade bucal (37°C), provocando um aumento na absorção local do agente anestésico (Vickers & Punnia-Moorthy, 1993).

O EMLA foi elaborado há aproximadamente 20 anos para uso dermatológico e na última década vêm sendo testado para uso intra-oral.

Estudos apontam para a eficácia do EMLA em aplicação tópica, permitindo a execução de procedimentos como instrumentação periodontal (Svensson *et al.*, 1994), dentística (Vickers & Punnia-Moorthy, 1993; Vickers *et al.*, 1997) e em alguns casos de extrações e biópsia (Meechan, 2001). O EMLA também reduziu o desconforto da colocação de grampos em isolamento absoluto usado para realização de procedimentos restauradores e endodônticos (Lim & Julliard, 2004), injeções intraligamentares e na mucosa palatina (Meechan & Thomason, 1999; Meechan, 2001). Além disso, Munshi *et al.* (2001) sugeriram que seria possível a execução de alguns procedimentos sem o uso da agulha, ou seja, apenas com a aplicação tópica do EMLA, principalmente em odontopediatria.

Em contradição, outros autores questionam a superioridade do EMLA em relação aos outros anestésicos disponíveis, pois concluíram que a benzocaína a 20% foi equivalente ao EMLA em reduzir dor associada à anestesia em mucosa palatina em crianças. Além disso, relatam que a benzocaína tem vantagens sobre o EMLA, como maior preferência pelos voluntários e gosto mais aceitável. Outras desvantagens relacionadas ao EMLA incluem: gosto amargo, alto custo e pouca viscosidade, resultando em dificuldade de manter o creme no local desejado (Priemosch & Rolland-Asensi, 2001).

A ropivacaína é um anestésico local do grupo amida e, como a bupivacaína, apresenta longa duração de ação (Axelsson & Isacsson, 2004).

## INTRODUÇÃO

Como anestésico tópico, foi observado que a ropivacaína apresenta boa eficácia e segurança quando comparada à lidocaína, em cirurgia de catarata, promovendo analgesia com duração suficiente, sem a necessidade de anestesia suplementar, na maior parte dos casos (Martini *et al.*, 2002).

A toxicidade da ropivacaína na mucosa oral já foi avaliada. Kawata *et al.* (2005) realizaram um estudo farmacocinético preliminar para avaliar a segurança da aplicação do anestésico, na sua forma viscosa, em mucosa oral, para alívio de dor de pacientes portadores de câncer oral. Os autores demonstraram que a aplicação de 5mL da solução de ropivacaína a 0,5% na mucosa oral, por 10 minutos, é segura, com base nas concentrações plasmáticas atingidas. No entanto, sua eficácia como anestésico tópico não foi avaliada.

O uso de ropivacaína como anestésico tópico poderia ser justificado com base em seu longo tempo de ação e, comparativamente à bupivacaína, ao menor potencial de efeitos tóxicos ao sistema cardiovascular e sistema nervoso central, menor meia vida plasmática, menor potencial para acúmulo em tecidos e maior margem de segurança (Wang *et al.*, 2001; Ramacciato & Meechan, 2005).

Embora ainda não esteja disponível para uso odontológico, a ropivacaína tem sido estudada para este fim em concentrações variando de 0,5 a 1% (Ramacciato & Meechan, 2005), sendo efetiva a 0,5% associada à epinefrina a 1:200.000 em anestesia infiltrativa na maxila (Kennedy *at al.* 2001) e a 0,75% para anestesia do nervo alveolar inferior e em técnica infiltrativa na maxila (Ernberg & Kopp, 2002; Axelsson & Isacsson, 2004).

Os lipossomas vêm sendo avaliados e utilizados como veículos de liberação de drogas. Os lipossomas foram descobertos por Bangham, em 1963, e consistem de moléculas esféricas que medem entre 50nm a 1000nm de diâmetro e são formados da interação de lipídeos suspensos numa fase aquosa (Banerjee, 2001; Grant, 2002). Podem ser formados de uma ou mais bicamadas lipídicas, e assim são denominadas de vesículas uni ou multilamelares.

A constituição das bicamadas é semelhante à das membranas biológicas, onde as caudas hidrofóbicas dos lipídios estão voltadas para o interior

## INTRODUÇÃO

e as cabeças polares, para o exterior, em contato com a fase aquosa (Ranade, 1989; Banerjee, 2001), podendo carregar tanto substâncias hidrossolúveis como substâncias lipossolúveis em suas diferentes fases (Grant, 2002).

A encapsulação de drogas é orientada pela hidro ou lipofilicidade das mesmas, já que drogas hidrofílicas têm tendência a permanecer no compartimento central aquoso e drogas hidrofóbicas no interior da bicamada lipídica (Grant, 2002).

Anestésicos locais vêm sendo encapsulados em lipossomas, e alguns autores já concluíram que a bupivacaína encapsulada em lipossomas apresentou reduzida toxicidade para os sistemas nervoso central e cardiovascular quando injetada intravascularmente em coelhos (Boogaerts *et al.*, 1993). Posteriormente, no primeiro estudo realizado em humanos, a forma lipossomada da bupivacaína na técnica epidural promoveu maior duração de analgesia com concentrações plasmáticas reduzidas e constantes, em comparação à forma pura do anestésico local (Boogaerts *et al.*, 1994).

A eficácia tópica de anestésicos locais encapsulados em lipossomas já foi demonstrada na área de dermatologia. A similaridade das vesículas com as células da epiderme, em relação à sua composição, permite que o anestésico penetre através da barreira epidérmica atingindo as camadas mais profundas da derme, promovendo liberação lenta da droga, protegendo-a contra metabolização e garantindo maior duração de ação (Friedman *et al.*, 2001).

Além disso, os lipossomas são biocompatíveis, biodegradáveis, com reduzido risco de: toxicidade, imunogenicidade, antigenicidade e lesões histológicas, principalmente devido à semelhança dos monômeros constituintes dos lipossomas (fosfatidilcolina e colesterol) com os das membranas biológicas (Malinovsky *et al.*, 1997; Grant, 2002).

A literatura relata também que lipossomas com carga neutra não promovem a lise de eritrócitos e não possuem efeito pró-agregante, ao contrário, foi demonstrado que formulações lipossomais de anestésicos locais possuíam maior efeito na inibição da agregação plaquetária induzida por agentes indutores,

## INTRODUÇÃO

do que quando os anestésicos locais foram utilizados isoladamente (Fraceto *et al.*, 2002).

Os lipossomas já foram amplamente utilizados como sistemas de liberação controlada para vários fármacos, incluindo antineoplásicos, antibióticos, antifúngicos e também anestésicos locais para uso médico (Bucalo *et al.*, 1998). Nos EUA existem vários medicamentos registrados associados com lipossomas, inclusive um anestésico tópico lipossomado, o LMX 4<sup>®</sup> (lidocaína a 4%, creme em veículo lipossomal). No Brasil ainda não existem registros de drogas associadas a suspensões lipossomais.

Diversos estudos demonstraram a eficácia de anestésicos locais encapsulados em lipossomas em anestesia tópica em pele (Singh & Vyas, 1996; Bucalo *et al.*, 1998; Fisher *et al.*, 1998; Eichenfield *et al.*, 2002; Taddio *et al.*, 2005).

Foldvari (1994) demonstrou que a anestesia tópica em pele proporcionada pela tetracaína encapsulada em lipossomas foi mais profunda e com tempo de latência menor nos voluntários avaliados.

Fisher *et al.* (1998) compararam a capacidade da tetracaína a 5% encapsulada em lipossomas em relação ao EMLA em produzir anestesia tópica em pele intacta, em 40 voluntários, observando anestesia mais efetiva e maior preferência dos voluntários pela anestesia proporcionada pela tetracaína encapsulada em lipossomas.

Foi demonstrado também, que a aplicação tópica de lidocaína lipossomal por 30 minutos, sem curativo oclusivo, apresenta a mesma segurança e eficácia em reduzir dor à punção de agulhas que a mistura eutética de lidocaína e prilocaína (EMLA), aplicada por 60 minutos, com curativo oclusivo em 120 crianças (Eichenfield *et al.*, 2002).

Friedman *et al.* (2001) compararam a profundidade e duração da anestesia em pele produzida por quatro anestésicos tópicos: EMLA, ELA-Max (lidocaína 4% em veículo lipossomal), betacaína-LA (lidocaína + prilocaína + vasoconstritor) e tetracaína 4% em gel. Os testes foram realizados através de



## INTRODUÇÃO

estimulação com laser em 10 locais do antebraço em 12 voluntários. Os resultados mostraram superioridade do EMLA e da lidocaína lipossomal na efetividade da anestesia em relação às outras preparações.

Recentemente, a lidocaína a 4% foi avaliada na formulação lipossomal como anestésico tópico em pele, previamente à canulação de veia em crianças. Os resultados obtidos após aplicação de 30 minutos com curativo oclusivo foram: maior taxa de sucesso, menor dor, maior rapidez na realização do procedimento e menor quantidade de alterações da derme em relação ao creme placebo (Taddio *et al.*, 2005).

A eficácia de anestésico local na forma lipossomada em mucosa oral foi avaliada somente por Zed *et al.* (1996), que compararam a tetracaína a 5% encapsulada em lipossomas com a benzocaína a 20% com relação à capacidade em reduzir a dor à punção e infiltração de anestésico local. Concluíram que o anestésico lipossomado foi mais eficaz em promover o alívio da dor à punção.

Estima-se que a permeabilidade da mucosa oral seja 4 a 4000 vezes maior do que a da pele (Shojaei, 1998). Logo, se formulações anestésicas apresentam uma elevada taxa de sucesso em anestesia tópica na área de dermatologia, é esperado que o sucesso seja ainda maior na mucosa oral, uma vez que esta é mais permeável que a pele.

## **PROPOSIÇÃO**

### **2. PROPOSIÇÃO**

Os objetivos deste trabalho foram: avaliar a eficácia dos géis de ropivacaína a 1% e de ropivacaína a 1% encapsulada em lipossomas quando aplicados topicamente na mucosa bucal, em reduzir a dor à punção, frente à simulação da anestesia infiltrativa, e verificar a influência da aplicação tópica do anestésico na forma lipossomada sobre a resposta pulpar.

## CAPÍTULOS

### **3. CAPÍTULOS**

Esta dissertação está de acordo com a Informação CCPG 001/98, UNICAMP, que regulamenta o formato alternativo para dissertação e tese, permitindo a inserção de artigos científicos de autoria ou co-autoria do candidato.

Assim sendo, esta dissertação é composta de dois artigos. O primeiro artigo foi submetido à revista *Quintessence International* (anexo 3) e o segundo, será submetido à revista *Anesthesia & Analgesia*. Conforme descrito abaixo:

**3.1. Artigo 1 – The efficacy of 1% Ropivacaine gel for topical anesthesia in Dentistry.**

**3.2. Artigo 2 – Liposome encapsulated ropivacaine for topical anesthesia in human oral mucosa.**

## CAPÍTULOS

### **3.1. CAPÍTULO 1**

The efficacy of 1% ropivacaine gel for topical anesthesia of human oral mucosa.

Michelle Franz-Montan. DDS. Department of Physiological Sciences, Piracicaba Dentistry School, State University of Campinas - UNICAMP

André Luis Rotolo Silva. PharmD. Department of Biochemistry, Institute of Biology, State University of Campinas - UNICAMP

Karina Cogo. PharmD. Department of Physiological Sciences, Piracicaba Dentistry School, State University of Campinas - UNICAMP

Cristiane Bergamaschi. PharmD. Department Physiological Sciences, Piracicaba Dentistry School, State University of Campinas - UNICAMP

Maria Cristina Volpato. PhD. Department of Physiological Sciences, Piracicaba Dentistry School, State University of Campinas - UNICAMP

José Ranali. PhD. Department of Physiological Sciences, Piracicaba Dentistry School, State University of Campinas - UNICAMP

Eneida de Paula. PhD. Department of Biochemistry, Institute of Biology, State University of Campinas - UNICAMP

Francisco Carlos Groppo.\* PhD. Department of Physiological Sciences, Piracicaba Dentistry School, State University of Campinas - UNICAMP

\*Corresponding author:

Francisco Carlos GROPPPO

Av. Limeira, 901 – Bairro Areião

## CAPÍTULOS

ZIP: 13414-903 Piracicaba, São Paulo, Brazil Phone: 55 19 3412 5310

FAX: 55 19 3412 5218 E-mail: [fcgroppo@fop.unicamp.br](mailto:fcgroppo@fop.unicamp.br)

## CAPÍTULOS

### **ABSTRACT**

**Objective.** To evaluate efficacy of 1% ropivacaine as a topical anesthetic in dentistry. **Method and materials.** Thirty healthy volunteers randomly (blind-crossover) received the following treatments: 20mg of 1% ropivacaine gel (Ropivacaine-20), 60mg of 1% ropivacaine gel (Ropivacaine-60), 20mg of the eutectic mixture of 2.5% lidocaine and 2.5% prilocaine (EMLA cream AstraZeneca<sup>®</sup>; EMLA-20), 60mg of EMLA<sup>®</sup> (EMLA-60), 20mg of 20% benzocaine gel (Benzotop<sup>®</sup> DFL; Benzocaine-20) and 60mg of 20% benzocaine gel (Benzocaine-60), applied on the maxillary-buccal fold of the right canine at different sessions. Pain was assessed using visual analogue scale (VAS) and 11-point box scale (BS-11) after insertion of a 30G-needle. Soft tissue anesthesia was measured by pinprick test. Data were analyzed by Friedman and Pearson correlation tests. **Results.** VAS means  $\pm$ SD (cm) for Ropivacaine-20, EMLA-20, Benzocaine-20, Ropivacaine -60, EMLA-60 and Benzocaine-60 were  $2.2 \pm 1.74$ ,  $1.6 \pm 1.6$ ,  $2.5 \pm 1.7$ ,  $1.9 \pm 1.5$ ,  $1.6 \pm 1.5$  and  $2.3 \pm 2.0$ , respectively. The BS-11 means  $\pm$ SD for Ropivacaine-20, EMLA-20, Benzocaine-20, Ropivacaine-60, EMLA-60 and Benzocaine-60 were  $2.7 \pm 1.7$ ,  $2.1 \pm 1.6$ ,  $2.9 \pm 1.6$ ,  $2.3 \pm 1.4$ ,  $1.9 \pm 1.7$  and  $2.7 \pm 2.0$ , respectively. There were no significant differences among groups considering VAS or BS-11 ( $p=0.177$  and  $p=0.179$ , respectively). The mean  $\pm$ SD (min) duration of soft tissue anesthesia for Ropivacaine-20, EMLA-20, Benzocaine-20, Ropivacaine-60, EMLA-60 and Benzocaine-60 was  $6.1 \pm 5.6$ ,  $8.7 \pm 3.9$ ,  $7.9 \pm 5.1$ ,  $7.9 \pm 5.5$ ,  $14.4 \pm 5.8$  and  $8.6 \pm 4.2$ , respectively. EMLA-60 showed significantly longer duration than that observed for other treatments ( $p<0.05$ ). **Conclusion.** All topical anesthetics

## CAPÍTULOS

could reduce pain to needle insertion. EMLA-60 promoted longer duration of soft tissue anesthesia.

**Key Words:** Topical anesthetics, topical anesthesia, local anesthesia, oral mucosa, ropivacaine, benzocaine, eutectic mixture of lidocaine and prilocaine.

## CAPÍTULOS

### **INTRODUCTION**

The avoidance of routine dental care is not rare and in most cases is related to the local anesthesia injections.<sup>1</sup> In fact, patients have rated the pain from dental injection as the most fear provoking procedure, especially the sensation of the needle puncture.<sup>2</sup>

The most common technique used to avoid the discomfort induced by local dental anesthesia is the application of topical anesthesia before injection<sup>3</sup>. Despite the efficacy of this technique, the fear of pain and needle are still common<sup>4</sup>, probably because the topical anesthesia does not guarantee a 100% of effectiveness. The effectiveness of topical anesthesia could be strongly influenced by the anesthetic salt, the time of contact, the kind of mucosa, etc.<sup>5</sup>

Due to its rapid onset of action (30 seconds), acceptable taste and lack of systemic absorption 20% benzocaine gel has been the most popular topical anesthetic preparation,<sup>1</sup> while the eutectic mixture of two local anesthetics – 2.5% lidocaine and 2.5% prilocaine (EMLA<sup>®</sup>, AstraZeneca) has been reported as the most effective topical agent<sup>6,7,8</sup>.

However, Priemosch and Rolland-Asensi<sup>1</sup> concluded that 20% benzocaine was equivalent to EMLA to reduce pain associated with palatal injection in children. These children also expressed preference and better taste acceptance to 20% benzocaine.

Ropivacaine, a long acting local anesthetic not yet available for use in dentistry, have been evaluated in a few studies in infiltration and blockade techniques.<sup>9,10,11</sup> It seems to have some advantages over bupivacaine, another



## **CAPÍTULOS**

long acting local anesthetic, such as lower potential for cardiac and central nervous system toxicity,<sup>12</sup> shorter elimination half-life and lower potential for accumulation in body tissues.<sup>13</sup>

The effectiveness of ropivacaine as topical agent on the oral mucosa was not previously studied. The aim of this study was to evaluate 1% ropivacaine gel for topical anesthesia in human oral mucosa.

## **METHOD AND MATERIALS**

Thirty healthy volunteers (15 females and 15 males) aging from 18 to 26 years-old ( $21.3 \pm 2.31$  years) were selected. The Ethical Committee of the Piracicaba Dentistry School – UNICAMP – Brazil previously approved the study protocol (#162/2003) and all the volunteers signed a written informed consent.

All the subjects were in good health, and none of them had history of allergy to any local anesthetic agent used, as well, none of them were taking any medication that would alter pain perception, as determined by oral questioning and written health history. At clinical examination the subjects presented natural dentition and healthy mucosa in the buccal fold of the maxillary right canine.

The study was performed in blind-crossover design. Volunteers randomly received three different topical anesthetics in six separate appointments spaced at least one week apart. The topical anesthetics consisted of the application of the following anesthetics and dosages (treatments): 20mg of 1% ropivacaine gel (Ropivacaine-20); 60mg of 1% ropivacaine gel (Ropivacaine-60); 20mg of the eutectic mixture of 2.5% lidocaine and 2.5% prilocaine cream (EMLA cream

## CAPÍTULOS

AstraZeneca<sup>®</sup>, Cotia, Brazil; EMLA-20); 60mg of EMLA<sup>®</sup> cream (EMLA-60); 20mg of 20% benzocaine gel (Benzotop<sup>®</sup>, DFL Ind Com Ltda, Rio de Janeiro, Brazil; Benzocaine-20) and 60mg of 20% benzocaine gel (Benzocaine-60). Ropivacaine gel was prepared at the Department of Biochemistry, Institute of Biology, State University of Campinas – UNICAMP, Benzocaine gel and EMLA were kindly supplied by DFL and AstraZeneca, respectively.

The mucosa of the maxillary-buccal fold of right canine was dried by using sterile gauze. After weighing 20mg or 60mg, each treatment was applied with a cotton tip on the mucosa surface. Each topical anesthetic was kept on mucosal surface for two minutes. The mucosa was then gently wiped by sterile gauze followed by water rinse.

After this procedure a 30G dental needle was inserted in the same region of topical application, until periosteum contact was reached.

Pain associated with the needle insertion was graded by the volunteers on a visual analog pain scale (VAS) and on an 11-point box scale (BS-11).

VAS consists of a 10.0cm line anchored by two extremes of pain. The extremes are “no pain” and “unbearable pain”. Volunteers were asked to make a mark on the line which represented their level of perceived pain intensity. The distance in centimeters measured from the end point marked “no pain” to the mark made by the volunteer on the VAS with a ruler was considered as the volunteers pain score.

The BS-11 consists of 11 numbers (0 through 10) surrounded by boxes. It was explained to the volunteers that 0 represents one extreme of pain and the 10

## **CAPÍTULOS**

represents the other. They were asked to mark an 'X' through the number representing their pain level.

In addition, every minute after topical anesthetic application a pinprick test (adapted from Mc Lean<sup>14</sup>) was performed by the volunteers to determine the duration of soft tissue (oral mucosa) anesthesia. This test was performed until the complete recovery of the sensation in the mucosa.

The pain scores of VAS, BS-11 and duration of soft tissue anesthesia among treatments were compared by using Friedman test (5% of confidence level). In addition, VAS and BS-11 were submitted to Pearson's correlation test.

## **RESULTS**

There were no statistically significant differences among groups considering VAS and BS-11 scores ( $p = 0.1768$  and  $p = 0.1785$ , respectively). All the topical anesthetics evaluated showed similar performance in relation to the pain perceived after needle insertion ( $p > 0.05$ ). Figure 1 shows the means ( $\pm$  SD) of the scores obtained with both pain scales used. In addition, there were no significant differences between the two dosages of each topical anesthetic used ( $p > 0.05$ ).

Both pain scales used in the present study were significantly correlated with one another on overall analysis (Pearson's correlation test,  $r = 0.963$ ,  $p = 0.01$ ).

## CAPÍTULOS

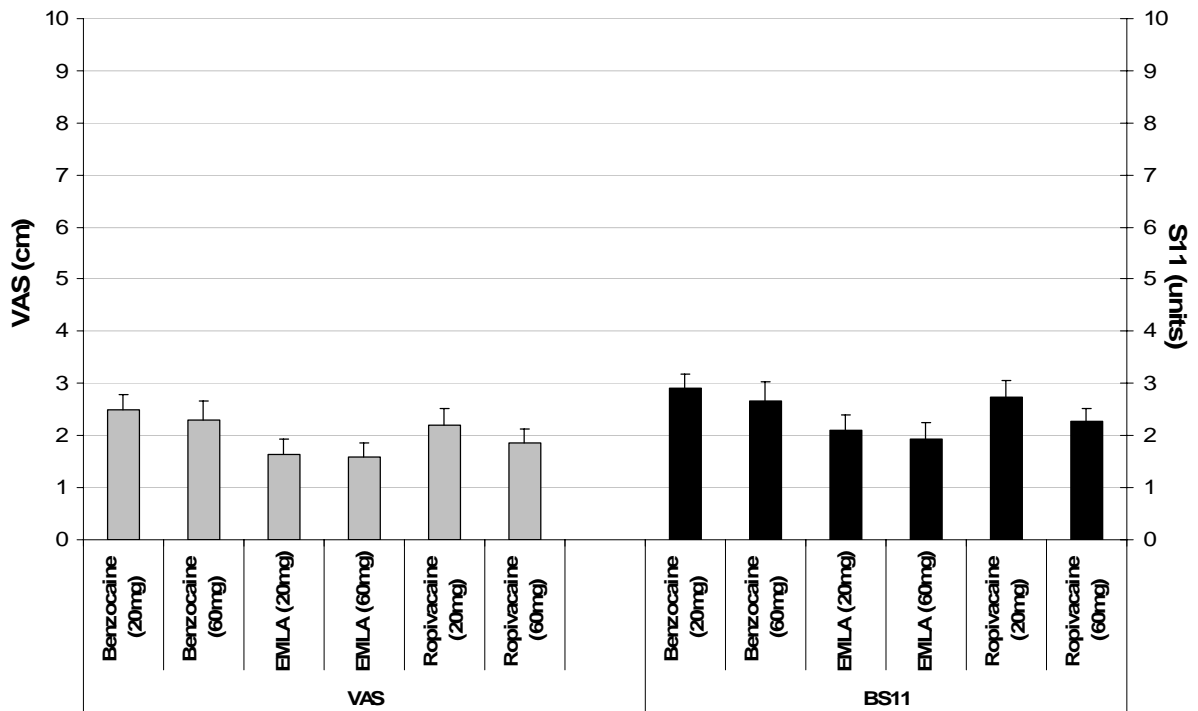


Figure 1. Mean ( $\pm$  SD) scores ranked by the volunteers during needle insertion in both pain scales used.

When applied in the dosage of 60mg EMLA promoted longer duration of soft tissue anesthesia in relation to the other treatments ( $p < 0.05$ ). No significant differences ( $p > 0.05$ ) were observed among Ropivacaine (20mg and 60mg), Benzocaine (20mg and 60mg) or EMLA (20 mg). Figure 2 shows the soft tissue anesthesia means ( $\pm$  SD) obtained with each treatment.

## CAPÍTULOS

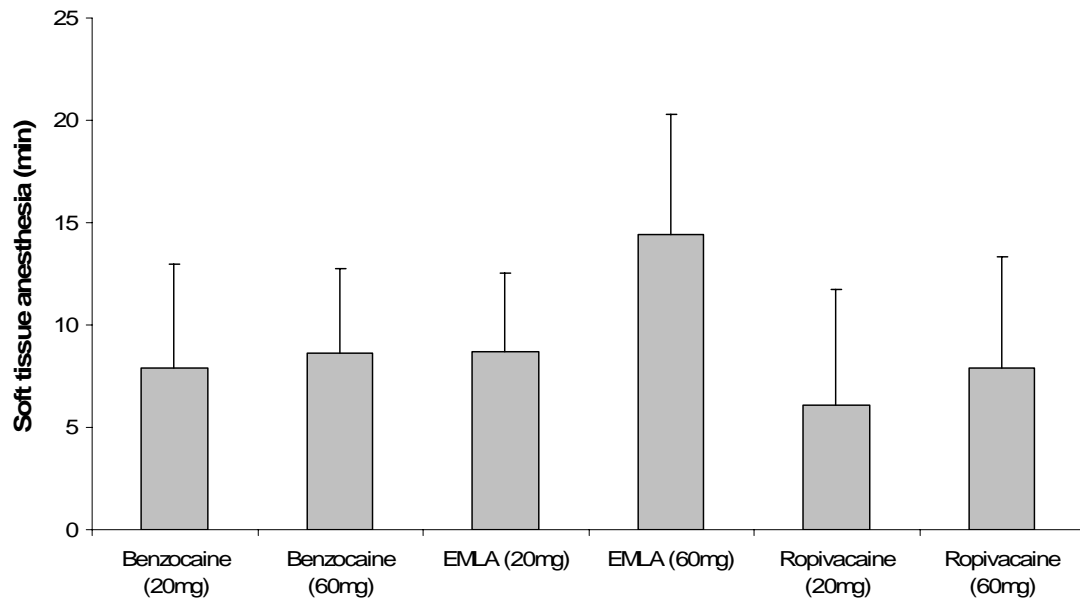


Figure 2. Mean ( $\pm$  SD) duration of soft tissue anesthesia, in minutes.

## DISCUSSION

Previous studies observed that the concentration of ropivacaine showing clinical efficacy in local dental anesthesia ranged from 0.5% to 0.75%.<sup>9,10,11</sup> As a topical anesthetic agent in cataract surgery the concentration of 1% was related as effective and safe.<sup>13,15</sup> Based on these findings, in the present study, ropivacaine was used as a topical agent, in the concentration of 1%.

As reported by Lo Martire et al<sup>15</sup> and Martini et al<sup>13</sup> in cataract surgery, the efficacy of topical ropivacaine in the oral mucosa was also observed in the present study, when compared to other topical anesthetics.

Only one previous study showed the use of ropivacaine on oral mucosa; however, the anesthetic efficacy was not evaluated. It was a preliminary pharmacokinetic study assessing the safety of a viscous preparation of ropivacaine

## CAPÍTULOS

used for pain relief in oral cancer patients, who sometimes accidentally swallow anesthetic preparations. They measured plasmatic concentrations of 0.5% viscous ropivacaine (5mL) applied during 10 min on mucosa and concluded that it could be safely used.<sup>16</sup> These results are in agreement with those observed in the present study, showing no sign of local or systemic toxicity.

There are several studies evaluating topical anesthetic effectiveness. However, results are conflicting. Some topical anesthetics are effective and others are similar to placebo. The main reasons could be the different methodology, such as different sites of application, time of contact to oral mucosa, and different stimulation methods to evaluate effectiveness like differences in the depth of the needle insertion.<sup>17,18</sup> In the present study, the site evaluated was the non-keratinized mucosa in the maxillary anterior buccal sulcus, the same site evaluated by previous authors.<sup>6,18,19,20,21,22,23,24,25</sup>

The duration of contact of the local anesthetic with the oral mucosa also varies. Some authors evaluated the application time of 30 seconds, which could not be enough to provide significant anesthesia.<sup>26</sup> Application times longer than 15 minutes were also studied.<sup>5,6,27,28</sup> Although topical anesthesia could be achieved and effective after at least two minutes of contact in most cases,<sup>3</sup> five minutes has been considered a practical and useful limit in the oral cavity.<sup>29</sup> In the present study, the application time of the topical anesthetics was two minutes, and it was sufficient to reduce pain perception during dental needle insertion.

In the present study, the anesthetic efficacy was evaluated by inserting a dental needle up to periosteum contact as described in other studies;<sup>21,25,28</sup>

## CAPÍTULOS

however, other researchers inserted part of the needle without contacting the periosteum.<sup>18,20,30,31</sup> Others evaluated the pain perceived after the local anesthetic injection.<sup>24,32,33</sup> The injection of any local anesthetic solution, causing distention of tissues, might interfere with the success rates of topical anesthesia.

In the present study, ropivacaine showed similar performance in relation to the pain perceived after needle insertion when compared to 20% benzocaine or to EMLA. Although a different region (buccal fold) was evaluated, these results are in agreement with those obtained by Primosch & Rolland-Asensi<sup>1</sup> concluding that EMLA was as efficient as two commercially available products containing 20% benzocaine in reducing pain during palatal anesthesia in children.

The effect of the dose of topical anesthetics on anesthesia efficacy has been poorly studied. The present study compared the efficacy of two doses (20mg and 60mg). A dose-dependent effect was not observed, although a higher amount of EMLA significantly increased the duration of soft tissue anesthesia when compared to other doses and anesthetics.

A higher amount (60mg) of EMLA promoted duration of soft tissue anesthesia similar to that observed by Haasio et al,<sup>34</sup> but lower than that reported by McMillan et al,<sup>8</sup> probably due to the dose and time of application. McMillan et al<sup>8</sup> used 500mg for 10 minutes, while Haasio et al<sup>34</sup> used 200mg.

Although EMLA cream was found to be the most effective topical agent in some studies,<sup>6,25</sup> others reported that EMLA has a number of practical disadvantages; for example, it is not indicated for intraoral use because safe

## CAPÍTULOS

dosing is still unknown.<sup>17,19</sup> Besides, allergic dermatitis from prilocaine has been reported after use of EMLA.<sup>35</sup>

In a previous study, 20% benzocaine gel was observed to be the most commonly used topical anesthetic by pediatric dentists in the United States. However, the authors observed that the topical anesthesia efficacy was not always satisfactory, suggesting that newer and better topical anesthetics are needed.<sup>36</sup>

Ester types of topical anesthetics, such as benzocaine and tetracaine (amethocaine), have higher incidence of allergy.<sup>17</sup> Acute methemoglobinemia is also a rare but potentially lethal complication of benzocaine administration. Cases of methemoglobinemia have been recently reported during endoscopy and transesophageal echocardiography after oropharyngeal administration of 20% benzocaine spray.<sup>37,38,39</sup>

EMLA administration is also a matter of concern in cases of methemoglobinemia due to the presence of prilocaine, as reported by the manufacturer (<http://www.astrazeneca-us.com/content/products/product>, 01/12/06).

As an amide long acting local anesthetic, chemically homologous to bupivacaine, ropivacaine presents lower potential toxicity to the heart and central nervous system, because of its pure S-enantiomer formulation.<sup>40,41</sup>

In conclusion, ropivacaine should be considered as a substitute EMLA and 20% benzocaine as a topical anesthetic in dentistry, because of its lower toxicity and its similar efficacy in reducing pain during needle insertion.



## **CAPÍTULOS**

### **ACKNOWLEDGMENTS**

The authors thank AstraZeneca (Brazil) and DFL (Brazil), which kindly supplied the 5% EMLA cream, and 20% benzocaine, respectively, used in this study and Mr. Jorge Valerio for his assistance during manuscript preparation.

The author Franz-Montan, M. was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## CAPÍTULOS

### REFERENCES

1. 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(1):11-4.
2. Zed CM, Epstein J, Donaldson D. Topical liposome encapsulated tetracaine versus benzocaine: a clinical investigation. *Journal of Dental Research* 1996; 75:247.
3. Martin MD, Ramsay DS, Whitney C, Fiset L, Weinstein P. Topical anesthesia: differentiating the pharmacological and psychological contributions to efficacy. *Anesth Prog.* 1994;41(2):40-7.
4. 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.
5. Fukayama H, Suzuki N, Umino M. Comparison of topical anesthesia of 20% benzocaine and 60% lidocaine gel. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;94(2):157-61.
6. Vickers ER, Punnia-Moorthy A. Pulpal anesthesia from an application of a eutectic topical anesthetic. *Quintessence Int.* 1993;24(8):547-51.
7. Roghani S, Duperon DF, Barcohana N. Evaluating the efficacy of commonly used topical anesthetics. *Pediatr Dent.* 1999;21(3):197-200.
8. 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(1):58-61.

## CAPÍTULOS

9. Kennedy M, Reader A, Beck M, Weaver J. Anesthetic efficacy of ropivacaine in maxillary anterior infiltration. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;91(4):406-12.
10. Ernberg M, Kopp S. Ropivacaine for dental anesthesia: a dose-finding study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002;60(9):1004-10.
11. Axelsson S, Isacsson G. The efficacy of ropivacaine as a dental local anaesthetic. *Swed Dent J.* 2004;28(2):85-91.
12. Ramacciato JG, Meechan JG. Recent advances in local anaesthesia. *Dent Update.* 2005;32(1):8-10, 12-4.
13. Martini E, Cavallini GM, Campi L, Lugli N, Neri G, Molinari P. Lidocaine versus ropivacaine for topical anesthesia in cataract surgery(1). *J Cataract Refract Surg.* 2002;28(6):1018-22.
14. McLean C, Reader A, Beck M, Meryers WJ. An evaluation of 4% prilocaine and 3% mepivacaine compared with 2% lidocaine (1:100,000 epinephrine) for inferior alveolar nerve block. *J Endod.* 1993;19(3):146-50.
15. Lo Martire N, Savastano S, Rossini L, Pinchera L, Caracciolo F, Savastano MC, et al. Topical anesthesia for cataract surgery with phacoemulsification: lidocaine 2% vs ropivacaine 1%. Preliminary results *Minerva Anesthesiol.* 2002;68(6):529-35.
16. Kawata T, Homma M, Kakiuchi Y, Inomata S, Miyabe M, Kobayashi D, et al. Liquid chromatographic determination of plasma ropivacaine for assessing pharmacokinetics of the viscous preparation. *Biol Pharm Bull.* 2005;28(12):2271-3.

## CAPÍTULOS

17. Meechan JG. Effective topical anesthetic agents and techniques. *Dent Clin North Am.* 2002;46(4):759-66.
18. Vickers ER, Punnia-Moorthy A. A clinical evaluation of three topical anaesthetic agents. *Aust Dent J.* 1992;37(4):267-70.
19. 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.
20. Rosivack RG, Koenigsberg SR, Maxwell KC. An analysis of the effectiveness of two topical anesthetics. *Anesth Prog.* 1990;37(6):290-2.
21. Houpt MI, Heins P, Lamster I, Stone C, Wolff MS. An evaluation of intraoral lidocaine patches in reducing needle-insertion pain. *Compend Contin Educ Dent.* 1997;18(4):309-10, 312-4, 316; quiz 318.
22. 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.
23. Barcohana N, Duperon DF, Yashar M. The relationship of application time to EMLA efficacy: *J Dent Child (Chic).* 2003;70(1):51-4.
24. Nusstein JM, Beck M. Effectiveness of 20% benzocaine as a topical anesthetic for intraoral injections. *Anesth Prog.* 2003;50(4):159-63.
25. Abu Al-Melh M, Andersson L, Behbehani E. Reduction of pain from needle stick in the oral mucosa by topical anesthetics: a comparative study between lidocaine/prilocaine and benzocaine. *J Clin Dent.* 2005;16(2):53-6.

## CAPÍTULOS

26. Gill CJ, Orr DL 2nd. A double-blind crossover comparison of topical anesthetics. *J Am Dent Assoc.* 1979;98(2):213-4.
27. 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.
28. Hersh EV, Houpt MI, Cooper SA, Feldman RS, Wolff MS, Levin LM. Analgesic efficacy and safety of an intraoral lidocaine patch. *J Am Dent Assoc.* 1996;127(11):1626-34.
29. Meechan JG, Donaldson D. The intraoral use of EMLA cream in children: a clinical investigation. *ASDC J Dent Child.* 1994;61(4):260-2.
30. Holst A, Evers H. Experimental studies of new topical anaesthetics on the oral mucosa. *Swed Dent J.* 1985;9(5):185-91.
31. Svensson P, Petersen JK. Anesthetic effect of EMLA occluded with Orahesive oral bandages on oral mucosa. A placebo-controlled study. *Anesth Prog.* 1992;39(3):79-82.
32. Keller BJ. Comparison of the effectiveness of two topical anesthetics and a placebo in reducing injection pain. *Hawaii Dent J.* 1985;16(12):10-1.
33. Kincheloe JE, Mealiea WL Jr, Mattison GD, Seib K. Psychophysical measurement on pain perception after administration of a topical anesthetic. *Quintessence Int.* 1991;22(4):311-5.
34. Haasio 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 Apr;28(2):99-101.

## CAPÍTULOS

35. Suhonen R, Kanerva L. Contact allergy and cross-reactions caused by prilocaine. *Am J Contact Dermat.* 1997;8(4):231-5.
36. Kohli K, Ngan P, Crout R, Linscott CC. A survey of local and topical anesthesia use by pediatric dentists in the United States. *Pediatr Dent.* 2001;23(3):265-9.
37. Birchem SK. Benzocaine-induced methemoglobinemia during transesophageal echocardiography. *J Am Osteopath Assoc.* 2005;105(8):381-4.
38. LeClaire AC, Mullett TW, Jahania MS, Flynn JD. Methemoglobinemia secondary to topical benzocaine use in a lung transplant patient. *Ann Pharmacother.* 2005;39(2):373-6.
39. Srikanth MS, Kahlstrom R, Oh KH, Fox SR, Fox ER, Fox KM. Topical benzocaine (Hurricane) induced methemoglobinemia during endoscopic procedures in gastric bypass patients. *Obes Surg.* 2005;15(4):584-90.
40. Scott DB, Lee A, Fagan D, Bowler GMR. Acute toxicity of ropivacaine compared with that of bupivacaine. *Anesth Analg.* 1989; 69:563-9.
41. Cuignet O, Dony P, Gautier P, de Kock M. Comparative toxicity of ropivacaine and bupivacaine at equipotent dose in rats. *European Journal of Anaesthesiology.* 2000; 17 (suppl 19): 113.

## CAPÍTULOS

### **3.2. CAPÍTULO 2**

Liposome-encapsulated ropivacaine for topical anesthesia in human oral mucosa.

Authors:

Michelle Franz-Montan. DDS. Department of Physiological Sciences, Piracicaba Dentistry School, State University of Campinas - UNICAMP

Eneida de Paula. PhD. Department of Biochemistry, Institute of Biology, State University of Campinas - UNICAMP

Karina Cogo. PharmD. Department of Physiological Sciences, Piracicaba Dentistry School, State University of Campinas - UNICAMP

Cristiane Bergamaschi. PharmD. Department Physiological Sciences, Piracicaba Dentistry School, State University of Campinas - UNICAMP

André Luis Rotolo Silva. PharmD. Department of Biochemistry, Institute of Biology, State University of Campinas - UNICAMP

Maria Cristina Volpato. PhD. Department of Physiological Sciences, Piracicaba Dentistry School, State University of Campinas - UNICAMP

José Ranali. PhD. Department of Physiological Sciences, Piracicaba Dentistry School, State University of Campinas - UNICAMP

Francisco Carlos Groppo.\* PhD. Department of Physiological Sciences, Piracicaba Dentistry School, State University of Campinas - UNICAMP

\*Corresponding author /author to whom requests for reprints should be addressed:

Francisco Carlos GROPPPO

## CAPÍTULOS

Av. Limeira, 901 – Bairro Areião

ZIP: 13414-903 Piracicaba, São Paulo, Brazil Phone: 55 19 3412 5310

FAX: 55 19 3412 5218 E-mail: [fcgrosso@fop.unicamp.br](mailto:fcgrosso@fop.unicamp.br)

The authors thank AstraZeneca (Brazil) and DFL (Brazil), which kindly supplied the 5% EMLA cream, and 20% benzocaine, respectively, used in this study.

The author Franz-Montan, M. was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Running head: Liposome encapsulated topical anesthetic.



## CAPÍTULOS

### **Abstract**

This blind-crossover study evaluated the efficacy of liposome encapsulated ropivacaine for topical anesthesia. Thirty healthy volunteers were submitted to the application of 60mg of the following topical anesthetics: liposome-encapsulated 1% ropivacaine (RopiLipo), 1% plain ropivacaine (Ropi), EMLA<sup>®</sup> (2.5% lidocaine and 2.5% prilocaine - EMLA) and Benzotop<sup>®</sup> (20% benzocaine gel - Benzo) in the buccal fold of the upper-right canine during two minutes in different sessions. After insertion of 30-G needles pain was rated on visual analogue scale (VAS). Duration of topical anesthesia was measured by pinprick test. Pulpal response was assessed by electric pulp tester. VAS mean values (in cm) were: 1.4 ( $\pm$ 1.6), 1.9 ( $\pm$ 1.5), 1.6 ( $\pm$ 1.5), 2.3 ( $\pm$ 2.0) for RopiLipo, Ropi, EMLA, and Benzo, respectively. RopiLipo showed lower VAS values when compared to Benzo ( $p=0.0205$ ). The mean values for the duration of soft tissue anesthesia (in min) for RopiLipo, Ropi, EMLA and Benzo were 11.4 ( $\pm$ 5.3), 7.9 ( $\pm$ 5.5), 14.4 ( $\pm$ 5.8) and 8.6 ( $\pm$ 4.2), respectively. EMLA and RopiLipo showed longer soft tissue anesthesia when compared to other anesthetics ( $p=0.0001$ ) and were equivalent in reducing pain. None of the topical anesthetics was effective to induce pulpal anesthesia.

**Key Words:** Topical anesthetics, local anesthesia, oral mucosa, liposomal encapsulated local anesthetics, pulpal anesthesia, soft tissue anesthesia

## CAPÍTULOS

### **Implications Statement**

The elimination of pain due to needle insertion or the necessity of injection is highly pursued. This study evaluated the efficacy of liposomal ropivacaine in reducing pain during needle insertion, in promoting pulpal anesthesia and the duration of soft tissue anesthesia after its topical application in the oral mucosa.

### **Introduction**

Local anesthesia has still been pointed out as one of the most fearful procedures in dentistry, probably because of the pain sensation during needle insertion (1). The elimination of needle during local anesthesia would be a great advance in dental treatment. The achievement of pulpal anesthesia by topical application of anesthetics is not yet a reliable technique. However, this objective has been pursued by many authors (2, 3).

Liposomes have been related as effective drug carriers. Local anesthetics encapsulated into liposomes show longer duration of action, reduced circulating plasma level, and reduced central nervous system and cardiovascular toxicity (4, 5). In addition, liposomes facilitate the penetration of the anesthetic into the skin, carrying the encapsulated drug into the dermis and providing sustained release. Previous studies showed significant skin anesthesia induced by encapsulated local anesthetics (6, 7, 8, 9).

The efficacy of encapsulated local anesthetics in the oral mucosa was previously evaluated by Zed et al (1), who concluded that liposome-encapsulated

## CAPÍTULOS

5% tetracaine provided more pain relief prior to a local anesthetic injection when compared to 20% benzocaine gel.

The aim of this study was to evaluate the liposomal ropivacaine as a topical anesthetic in the oral mucosa as well as its influence on pulpal response.

### **Methods**

After approval by the Ethical Committee of the Piracicaba Dentistry School – UNICAMP, Campinas, Brazil (approval #162/2003), thirty healthy volunteers (15 females and 15 males) aging from 18 to 26 years old ( $21.3 \pm 2.31$  years) signed a written informed consent. All volunteers were in good health, and none had history of allergy to any of the local anesthetic agents used or were taking any medication that would alter pain perception, as determined by oral questioning and written health history. Upper right canine undergoing testing was vital, free of caries, large restorations, periodontal disease, endodontic treatment and history of trauma or sensitivity.

The volunteers were randomly submitted to four different topical anesthetics in a blind-crossover and four-period treatment design. Each treatment was performed in different successive appointments spaced at least one week apart. Sixty milligrams of the following topical anesthetics were evaluated: liposome encapsulated 1% ropivacaine gel (RopiLipo); 1% plain ropivacaine gel (Ropi); the eutectic mixture of 2.5% lidocaine and 2.5% prilocaine cream (EMLA<sup>®</sup>, AstraZeneca, Cotia, Brazil - EMLA); and 20% benzocaine gel (Benzotop<sup>®</sup>, DFL Ind

## CAPÍTULOS

Com Ltda, Rio de Janeiro, Brazil – Benzo). Liposome encapsulated 1% ropivacaine gel and 1% plain ropivacaine gel were prepared at the Department of Biochemistry, Institute of Biology, State University of Campinas – UNICAMP.

In every session, before topical application, the upper right canine was tested six times spaced two minutes apart with the pulp tester (Analytic Technology Corp., Redmond WA) to record baseline vitality. The probe tip of the pulp-tester was placed in the center of the buccal side of canine. Fluoride toothpaste was chosen as conductive substance (10, 11, 12).

The gingiva at the maxillary buccal fold in the canine region was dried using sterile gauze and the topical anesthetic (previously weighed) was applied with a cotton tip. Each topical anesthetic was kept on mucosa surface for two minutes. After topical application, the mucosa was wiped gently with sterile gauze followed by water rinse.

Following topical application, the volunteers were submitted to three tests:

- 1) Pain associated with needle insertion. Immediately after anesthetic topical application a 30G dental needle was inserted in the same region of topical application, until periosteum contact and the pain perception was assessed by visual analog pain scale (VAS), which consists of a 10.0 cm line anchored by two extremes of pain (“no pain” and “unbearable pain”). Subjects were asked to make a mark on the line which represented their level of perceived pain intensity and the scale was scored by measuring with a ruler the distance from the end point marked “no pain” to the mark made by the volunteer on the VAS.
- 2) Duration of the soft tissue anesthesia. After rating the pain score, all

## **CAPÍTULOS**

volunteers were asked to verify the duration of the oral mucosa anesthesia by a pinprick test (adapted from 10), every minute, until return to normal sensation in mucosa.

3) Pulpal anesthesia. Every two minutes after topical application electrical stimulation was performed to evaluate the pulpal response. Pulpal anesthesia was defined as the absence of subject's response to the maximal output of the pulp tester, 300 V, indicated as the 80 reading in the pulp tester scale (10). The electrical stimulation was performed during 20 minutes.

The results were compared by Friedman test considering 5% of significant level.

### **Results**

There were no significant differences ( $p > 0.05$ ) among groups in relation to pain associated with needle insertion, except for RopiLipo, which showed lower VAS values when compared to Benzo ( $p = 0.0205$ ). Figure 1 shows the medians of VAS for all groups.

## CAPÍTULOS

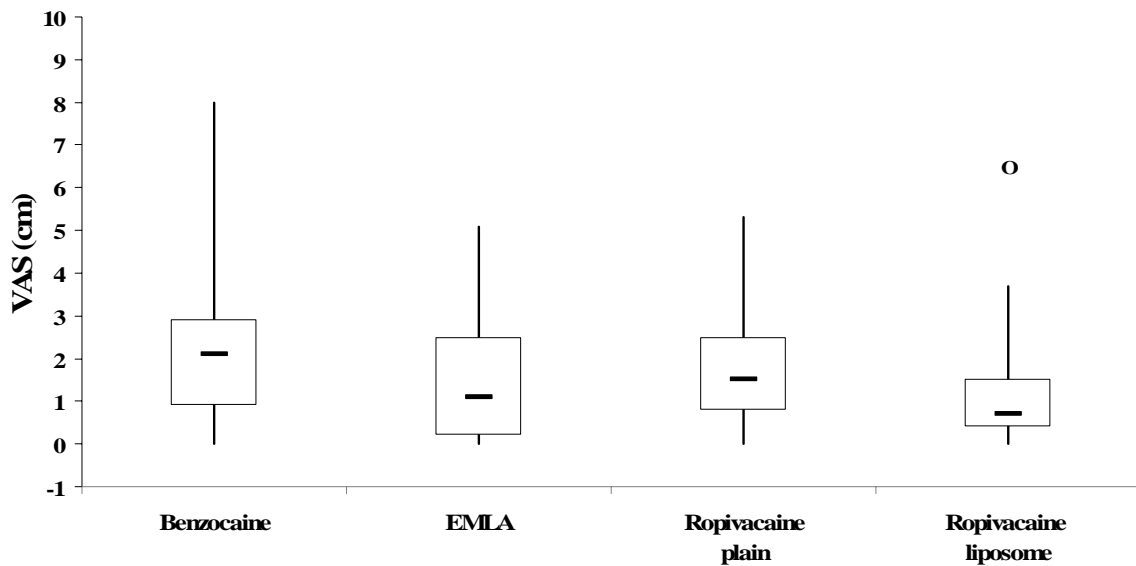


Figure 1. VAS scores rated by the volunteer after needle insertion. (Central line: median; Box: lower and upper quartiles; Whisker: maximum and minimum values; o: outlier).

RopiLipo and EMLA showed longer soft tissue anesthesia when compared to the other treatments ( $p=0.0001$ ). No significant differences were found among Benzo and Ropi ( $p>0.05$ ). Figure 2 shows the medians of soft tissue anesthesia, in minutes.

## CAPÍTULOS

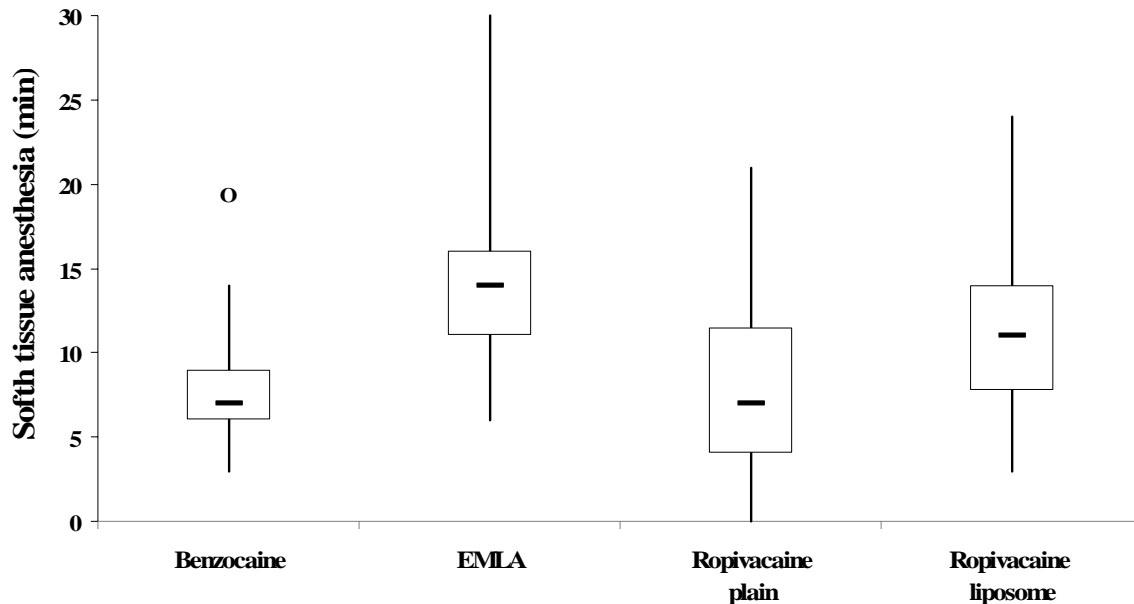


Figure 2. Duration of soft tissue anesthesia in minutes (Central line: median; Box: lower and upper quartiles; Whisker: maximum and minimum values; o: outlier).

In addition, there were no statistically significant differences on pulpal response of canine among different periods of time or among treatments. The maximum setting of the pulp tester (300V, 80 reading) was not achieved by any volunteer. Figure 3 shows the median scores in the pulp tester following topical anesthetic application (2 minute intervals during 20 minutes).

## CAPÍTULOS

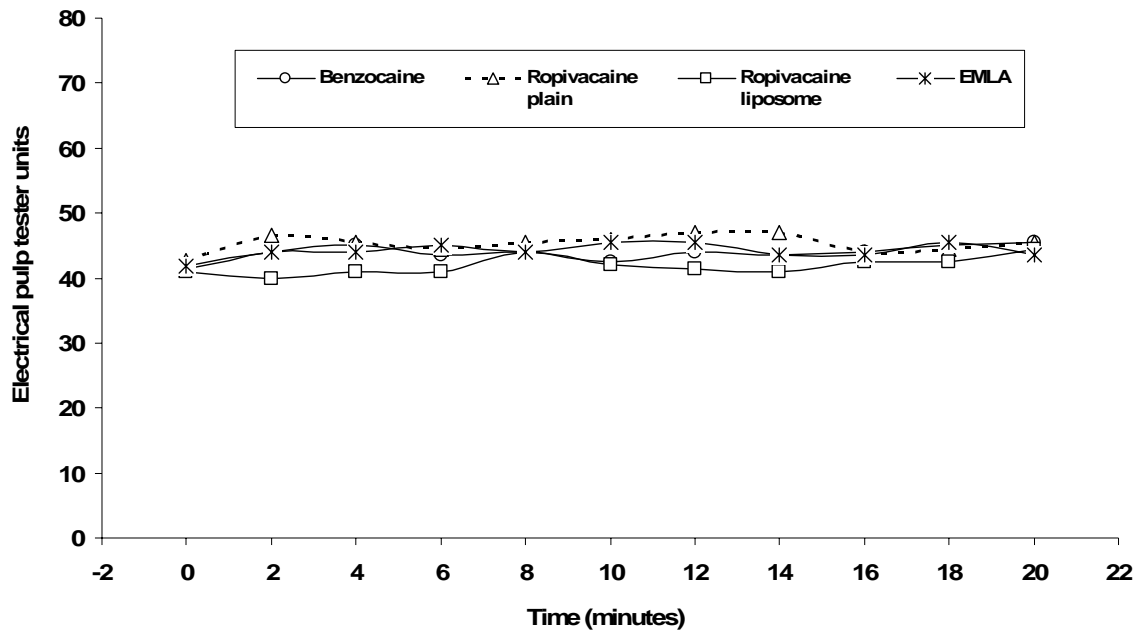


Figure 3. Median pulpal response measured with the electrical pulp tester following two-minute application of topical anesthesia.

## Discussion

There is a clear need to develop newer and better topical anesthetics especially for the pediatric dental population (13). The eutectic mixture of lidocaine and prilocaine (EMLA<sup>®</sup>) has been pointed out as the most effective topical agent (2, 14, 15).

However, Priemosch and Rolland-Asensi (16) observed that EMLA in an oral adhesive form did not show superior effectiveness to reduce pain response during palatal infiltration in children when compared to benzocaine 20% in either oral adhesive or gel formulation. The present study, whether evaluating a different region (buccal fold) showed similar results, since all topical anesthetics tested had



## CAPÍTULOS

similar ability to reduce pain response, with lower pain scores obtained with RopiLipo in comparison to Benzo.

In relation to the duration of soft tissue anesthesia the best results were obtained with RopiLipo and EMLA. The duration of soft tissue anesthesia with EMLA application was similar to the obtained by Haasio et al (17) but lower than the related by McMillan et al (15). This could be related to the dose and time of application as previously reported (15, 17, 18). McMillan et al (15) applied 500mg during 10 minutes, while Haasio et al (17) applied 200mg, and in the present study 60mg of the local anesthetics were applied during just two minutes.

Many disadvantages have been related to the use of EMLA in the oral mucosa, such as bitter taste (pH=9.0), low viscosity causing difficulty to keep it at the desired site, product cost and subjects' preference (3). In addition, its oral use is not recommended by the manufacturer because safe dosing amounts are still unknown for mucosal application (16, 19).

The lack of an effective topical anesthetic along with the disadvantages of EMLA have been maintaining the search for the ideal topical anesthetic. In the present study, ropivacaine was chosen due to its interesting characteristics, e.g., it is a long acting amide local anesthetic, available in pure S-isomeric form, thus presenting decreased potential for cardiac and central nervous system toxicity (12, 20, 21). Ropivacaine also has lower potential for allergenic reactions when compared to benzocaine (19).

## CAPÍTULOS

Liposomal encapsulation of local anesthetics has demonstrated a great rate of penetration through the epidermal barrier carrying the encapsulated drug into skin and providing sustained release. The permeability of oral mucosa is estimated to be 4 to 4,000 times greater than that of skin (21). The better penetration of liposomal forms allied to better mucosa permeability could suggest that some liposomal encapsulated local anesthetics applied on oral mucosa surface could penetrate the cortical bone and pulpal tissue. However, the topical liposome-encapsulated formulation evaluated in the present study was not effective to induce pulpal anesthesia.

Similar results were obtained by Meechan and Donaldson (3), who observed no significant differences in reducing pulpal response of maxillary primary teeth (anterior maxillary buccal fold) following a five-minute application of EMLA or placebo.

However, Vickers and Punnia-Moorthy (2) observed absence of pulpal response after application of 500mg of EMLA cream during 15 to 30 minutes in thirteen subjects. Twelve of them (92%) reported no pain to the maximum setting of the pulp tester (300V). In the present study only 60mg were used during a two-minute application in the oral mucosa and probably these methodological differences affected the effectiveness of pulpal anesthesia of the topical anesthetics evaluated. Further studies will be necessary to test pulpal response after ropivacaína application in similar conditions, i.e., higher doses and time of mucosal contact. The similarity between EMLA and liposomal formulation of

## **CAPÍTULOS**

ropivacaine (60mg) in relation to soft tissue anesthesia could be considered a good indicative that higher amounts could produce pulpal anesthesia.

The liposomal formulation of ropivacaine (60mg) had also similar efficacy in reducing pain response (VAS), indicating that ropivacaine could replace EMLA in oral use.

It was concluded in the present study that liposomal encapsulated 1% ropivacaine gel was equivalent to EMLA in reducing pain during needle insertion and in respect to the duration of soft tissue anesthesia. However, none of the topical anesthetics was effective in inducing pulpal anesthesia at two-minute application time.

## CAPÍTULOS

### References

1. Zed CM, Epstein J, Donaldson D: Topical liposome encapsulated tetracaine versus benzocaine: a clinical investigation. *Journal of Dental Research* 1996; 75:247.
2. Vickers ER, Punnia-Moorthy A: Pulpal anesthesia from an application of a eutectic topical anesthetic. *Quintessence Int.* 1993;24(8):547-51.
3. Meechan JG, Donaldson D. The intraoral use of EMLA cream in children: a clinical investigation. *ASDC J Dent Child.* 1994;61(4):260-2.
4. 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.
5. 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(4):315-20.
6. Singh R, Vyas SP. Topical liposomal system for localized and controlled drug delivery. *J Dermatol Sci.* 1996;13(2):107-11.
7. Fisher R, Hung O, Mezei M, Stewart R. Topical anaesthesia of intact skin: liposome-encapsulated tetracaine vs EMLA. *Br J Anaesth.* 1998;81(6):972-3.
8. 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(6):1093-9.

## CAPÍTULOS

9. Taddio A, Soin HK, Schuh S, et al. Liposomal lidocaine to improve procedural success rates and reduce procedural pain among children: a randomized controlled trial. *CMAJ*. 2005;21;172(13):1691-5.
10. McLean C, Reader A, Beck M, Meryers WJ. An evaluation of 4% prilocaine and 3% mepivacaine compared with 2% lidocaine (1:100,000 epinephrine) for inferior alveolar nerve block. *J Endod*. 1993;19(3):146-50.
11. Certosimo AJ, Archer RD. A clinical evaluation of the electric pulp tester as an indicator of local anesthesia. *Oper Dent*. 1996;21(1):25-30.
12. Kennedy M, Reader A, Beck M, Weaver J: Anesthetic efficacy of ropivacaine in maxillary anterior infiltration. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2001;91(4):406-12.
13. Kohli K, Ngan P, Crout R, Linscott CC. A survey of local and topical anesthesia use by pediatric dentists in the United States. *Pediatr Dent*. 2001;23(3):265-9.
14. Roghani S, Duperon DF, Barcohana N: Evaluating the efficacy of commonly used topical anesthetics. *Pediatr Dent*. 1999;21(3):197-200.
15. 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(1):58-61.
16. 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(1):11-4.

## CAPÍTULOS

17. Haasio 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 Apr;28(2):99-101.
18. 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.* 1993 Jan-Feb;39(1-2):4-8.
19. Meechan JG. Effective topical anesthetic agents and techniques. *Dent Clin North Am.* 2002;46(4):759-66.
20. Ernberg M, Kopp S. Ropivacaine for dental anesthesia: a dose-finding study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2002;60(9):1004-10.
21. Shojaei AH. Buccal mucosa as a route for systemic drug delivery: a review. *J Pharm Pharm Sci.* 1998;1(1):15-30.

## CONCLUSÃO

### **4. CONCLUSÃO**

A ropivacaína a 1%, encapsulada ou não em lipossomas, apresentou eficácia em reduzir a dor à punção similar ao EMLA e à benzocaína a 20%. A ropivacaína a 1% encapsulada em lipossomas (60mg) e o EMLA (60mg) promoveram maior duração de anestesia em tecidos moles em comparação à Benzocaína a 20% e à Ropivacaína a 1% não encapsulada. Nenhum dos anestésicos tópicos testados foi capaz de induzir a anestesia pulpar.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Axelsson S, Isacson G. The efficacy of ropivacaine as a dental local anaesthetic. *Swed Dent J*. 2004; 28(2): 85-91.
2. Banerjee R. Liposomes: applications in medicine. *J Biomater Appl*. 2001; 16(1): 3-21.
3. 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.
4. 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(4): 315-20.
5. 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.
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(6): 1093-9.
7. Ernberg M, Kopp S. Ropivacaine for dental anesthesia: a dose-finding study. *J Oral Maxillofac Surg*. 2002; 60(9): 1004-10.
8. Fisher R, Hung O, Mezei M, Stewart R. Topical anaesthesia of intact skin: liposome-encapsulated tetracaine vs EMLA. *Br J Anaesth*. 1998; 81(6): 972-3.
9. Foldvari M. In vitro cutaneous and percutaneous delivery and in vivo efficacy of tetracaine from liposomal and conventional vehicles. *Pharm Res*. 1994; 11(11): 1593-8.
10. Fraceto LF, Pinto Lde M, Franzoni L, Braga AA, Spisni A, Schreier S, *et al*. Spectroscopic evidence for a preferential location of lidocaine inside phospholipid bilayers. *Biophys Chem*. 2002; 99(3): 229-43.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

11. Friedman PM, Mafong EA, Friedman ES, Geronemus RG. Topical anesthetics update: EMLA and beyond. *Dermatol Surg.* 2001; 27(12): 1019-26.
12. Grant SA. The Holy Grail: long-acting local anaesthetics and liposomes. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2002; 16(2): 345-52.
13. Kawata T, Homma M, Kakiuchi Y, Inomata S, Miyabe M, Kobayashi D, Morimoto Y, Kohda Y. Liquid chromatographic determination of plasma ropivacaine for assessing pharmacokinetics of the viscous preparation. *Biol Pharm Bull.* 2005; 28(12): 2271-3.
14. Kennedy M, Reader A, Beck M, Weaver J: Anesthetic efficacy of ropivacaine in maxillary anterior infiltration. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001; 91(4): 406-12.
15. Lim S, Julliard K: Evaluating the efficacy of EMLA topical anesthetic in sealant placement with rubber dam. *Pediatr Dent.* 2004; 26(6): 497-500.
16. 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.
17. Martin MD, Ramsay DS, Whitney C, Fiset L, Weinstein P. Topical anesthesia: differentiating the pharmacological and psychological contributions to efficacy. *Anesth Prog.* 1994; 41(2):40-7.
18. Martini E, Cavallini GM, Campi L, Lugli N, Neri G, Molinari P. Lidocaine versus ropivacaine for topical anesthesia in cataract surgery(1). *J Cataract Refract Surg.* 2002; 28(6): 1018-22.
19. 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(1): 58-61.
20. Meechan JG, Thomason JM. A comparison of 2 topical anesthetics on the discomfort of intraligamentary injections: a double-blind, split-mouth

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- volunteer clinical trial. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999; 87(3): 362-5.
21. Meechan JG. Intra-oral topical anaesthetics: a review. *J Dent.* 2000; 28(1): 3-14
22. 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.
23. Meechan JG. Effective topical anesthetic agents and techniques. *Dent Clin North Am.* 2002; 46(4): 759-66.
24. Munshi AK, Hegde AM, Latha R. Use of EMLA: is it an injection free alternative? *J Clin Pediatr Dent.* 2001; 25(3): 215-9.
25. Nusstein JM, Beck M. Effectiveness of 20% benzocaine as a topical anesthetic for intraoral injections. *Anesth Prog.* 2003; 50(4): 159-63.
26. 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(1): 11-4.
27. Ramacciato JG, Meechan JG. Recent advances in local anaesthesia. *Dent Update.* 2005; 32(1): 8-10, 12-4.
28. Ranade VV. Drug delivery systems. 1. site-specific drug delivery using liposomes as carriers. *J Clin Pharmacol.* 1989; 29(8): 685-94.
29. Roghani S, Duperon DF, Barcohana N: Evaluating the efficacy of commonly used topical anesthetics. *Pediatr Dent.* 1999; 21(3): 197-200.
30. Rosa AL, Sverzut CE, Xavier SP, Lavrador MA. Clinical effectiveness of lidocaine and benzocaine for topical anesthesia. *Anesth Prog.* 1999; 46(3): 97-9.
31. Shojaei AH. Buccal mucosa as a route for systemic drug delivery: a review. *J Pharm Sci.* 1998; 1(1):15-30.
32. Singh R, Vyas SP. Topical liposomal system for localized and controlled drug delivery. *J Dermatol Sci.* 1996; 13(2): 107-11.
33. Sisk AL. Long-acting local anesthetics in dentistry. *Anesth Prog.* 1992; 39(3): 53-60.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

34. 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.
35. 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; 21;172(13): 1691-5.
36. Vickers ER, Punnia-Moorthy A. Pulpal anesthesia from an application of a eutectic topical anesthetic. *Quintessence Int.* 1993; 24(8): 547-51.
37. 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.
38. Wang RD, Dangler LA, Greengrass RA. Update on ropivacaine. *Expert Opin Pharmacother.* 2001; 2(12): 2051-63.
39. Zed CM, Epstein J, Donaldson D. Topical liposome encapsulated tetracaine versus benzocaine: a clinical investigation. *Journal of Dental Research* 1996; 75: 247.

## ANEXOS

### 6. ANEXOS

#### ANEXO 1

##### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

As informações contidas neste termo foram fornecidas pelo Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo e pela aluna de mestrado C.D. Michelle Franz Montan, com o objetivo de firmar o consentimento livre e esclarecido, através do qual você, sujeito da pesquisa, autoriza sua participação, com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos e riscos a que se submeterá, com a capacidade de livre-arbítrio e livre de qualquer coação.

##### I. Título do Trabalho Experimental

“AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA ANESTÉSICA DA ROPIVACAÍNA A 1% ENCAPSULADA EM LIPOSSOMAS”

##### II. Justificativa

A anestesia local ainda é o método de controle da dor mais empregado em Odontologia. Entretanto, este procedimento é um dos mais poderosos agentes indutores de estresse, o que pode causar reações adversas colocando em risco a vida dos pacientes, especialmente aqueles com comprometimento sistêmico. Atualmente uma nova forma farmacêutica de anestésico tópico, encapsulado em lipossomas, vem sendo estudada, particularmente na Medicina. Este tipo de anestésico tem a possibilidade em atingir a polpa dental e induzir a anestesia pulpar clinicamente útil. Assim, o objetivo deste trabalho é avaliar a ropivacaína a 1% encapsulada em lipossomas, comparando-a com outros anestésicos tópicos, quanto à sua capacidade em induzir a anestesia pulpar, a anestesia em tecido mole e a capacidade em eliminar a dor à punção.

##### III. Objetivo

O presente estudo visa verificar:

1. Anestesia pulpar parcial, clínica e total;
2. avaliação da dor à punção e
3. anestesia em tecidos moles.

##### IV. Procedimentos do Experimento

##### SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS

Cada voluntário receberá um termo de consentimento onde constarão todos os detalhes do projeto. Somente após a anuência do voluntário, através da assinatura do termo, sem qualquer espécie de coação e com o esclarecimento de possíveis dúvidas, este será considerado participante da pesquisa.

Serão utilizados neste experimento 30 (trinta) indivíduos com as seguintes características:

1. Estudantes universitários de graduação e pós-graduação;
2. idade entre 18 e 35 anos;
3. saudáveis, isto é, sem apresentar patologias sistêmicas, que impeçam a utilização das substâncias em estudo;
4. dentição completa (à exceção dos terceiros molares);
5. ausência de história de alergia ou outros problemas decorrentes do uso de qualquer um dos componentes de quaisquer das soluções a serem empregadas.
6. classificados como sadios durante a anamnese clínica;
7. aptidão em fornecer consentimento por escrito;
8. canino superior direito livre de cáries e restaurações extensas, traumas ou tratamento endodôntico e responsável ao estímulo elétrico ('pulp tester');
9. gengiva vestibular da região de canino superior direito livre de ulcerações;
10. que não tiverem sido submetidos à anestesia infiltrativa na região nas duas semanas que antecederem ao estudo.

Estes voluntários serão selecionados através de anamnese e exame clínico.

## ANEXOS

### ANESTESIA TÓPICA E AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS

Após o voluntário ser considerado como participante da pesquisa, ele será submetido aos quatro tipos de anestésicos em oito etapas da pesquisa. A ordem de aplicação dos tratamentos será aleatória, sendo que o voluntário não será informado a respeito de qual substância estará sendo utilizada.

Todas as etapas serão procedidas da mesma maneira. Decorrida uma semana de cada aplicação, o voluntário será submetido a uma nova substância até que complete as oito fases do estudo.

Cada voluntário receberá a aplicação tópica de uma das substâncias do estudo sobre a mucosa gengival vestibular da região apical do canino superior direito. As sessões de atendimento serão realizadas sempre no mesmo horário, para se evitar interferências do ciclo circadiano e em ambiente climatizado (LEMMER & WIEMERS, 1989).

Antes de cada sessão e previamente à injeção anestésica, os voluntários terão seus caninos superiores direitos estimulados pelo PTE, que é um aparelho que estimula eletricamente o dente, que só irá responder quando não estiver anestesiado, neste caso, a sensação produzida é descrita como formigamento, pulsação, vibração ou dor (COOLEY, 1984). Os voluntários são orientados para que avisem quando sentirem qualquer tipo de sensação (formigamento, pulsação, vibração ou dor). Este procedimento será executado por seis vezes, com intervalo de dois minutos entre cada estímulo, para se determinar o limiar basal (média das medidas).

Logo após à aplicação tópica do anestésico, uma agulha odontológica curta (27G, 2.5 cm, acoplada a uma seringa tipo Carpule) será introduzida na mucosa na direção do ápice do dente em estudo até atingir o periosteio. Ao voluntário será solicitado que anote, posteriormente, a intensidade da sensação dolorosa durante este procedimento em uma Escala Analógica Visual (EAV) e em uma escala de 11 pontos em caixa (E11). A Figura 1 e 2 mostram, respectivamente, a EAV e a E11 a ser utilizada no experimento.



Figura 1. Escala analógica visual (EAV).

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Figura 2. Escala de 11 pontos em caixa.

Dois minutos após o procedimento da anestesia, o canino será novamente estimulado com o PTE e, caso não responda ao estímulo máximo, será considerado anestesiado. Os estímulos serão aplicados a cada 2 minutos para a determinação do tempo de latência. Não havendo insensibilidade ao estímulo máximo dentro de 20 minutos, o procedimento será interrompido e o anestésico será considerado ineficaz para a anestesia pulpar.

A anestesia dos tecidos moles será avaliada pelo próprio voluntário através da pressão na gengiva (técnica modificada de McLEAN, 1993). O voluntário anotará em um formulário o tempo necessário para a erradicação completa da sensação de anestesia no tecido mole.

#### V) Local da pesquisa

As fases: seleção dos voluntários, procedimentos anestésicos e suas avaliações, serão realizados no consultório odontológico da área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

#### VI) Resultados esperados

Esperamos que o anestésico na forma lipossomal possa proporcionar à Odontologia uma nova alternativa ao procedimento anestésico local sem o uso de agulhas.

## **ANEXOS**

### VII) Análise crítica dos riscos e benefícios

Tendo em vista que os voluntários serão cuidadosamente examinados e selecionados, nenhuma substância será ingerida pelos voluntários nem injetada nos mesmos logo, os riscos serão mínimos, e o desconforto limita-se apenas na punção da agulha durante a simulação de uma anestesia local.

A similaridade dos monômeros constituintes dos lipossomas com o das membranas biológicas elimina o risco de antigenicidade ou lesões histológicas após sua administração. A literatura relata também que lipossomas com carga neutra não promovem a lise de eritrócitos e não possuem efeito pró-agregante, ao contrário, tem sido demonstrado que a formulação lipossomal de AL tem maior efeito na inibição da agregação plaquetária induzida por agentes indutores, do que quando os AL são utilizados isoladamente.

O principal benefício da pesquisa é atingir anestesia pulpar através da aplicação tópica do anestésico na forma lipossomal, eliminando-se assim, o uso de agulha durante a anestesia local em Odontologia.

### VIII) Forma de acompanhamento e assistência e garantia de esclarecimentos

Os voluntários têm a garantia de que receberão respostas a qualquer pergunta, ou esclarecimento a qualquer dúvida, acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa.

Assumem também, os pesquisadores citados acima, o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando dele.

Os pesquisadores acompanharão e assistirão os voluntários a todo o momento, durante a pesquisa ou quando assim solicitados.

### IX) Retirada do consentimento

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de retirar seu consentimento ou se recusar a participar, a qualquer momento e deixar de participar do estudo, conforme determinação da Resolução 196/96 do CNS do Ministério da Saúde. Caso deixe de participar do estudo por qualquer razão o sujeito não sofrerá qualquer tipo de prejuízo.

### X) Garantia de sigilo

Comprometem-se os pesquisadores de resguardar todas as informações individuais acerca da pesquisa, tratando-as com impessoalidade e não revelando a identidade do sujeito que as originou.

### XI) Formas de ressarcimento de despesas e de indenização

Não estão previstas despesas aos indivíduos nesta pesquisa, porém caso ocorram, em função da pesquisa, ficam responsáveis os pesquisadores em ressarcí-las. Da mesma forma ficam responsáveis os autores em indenizar em comum acordo com os voluntários, eventuais danos decorrentes desta pesquisa.

### XII) Consentimento pós-informação

Eu, \_\_\_\_\_, certifico que tendo lido as informações acima e suficientemente esclarecido de todos os itens, pelo Prof. Dr. Francisco Carlos Groppo e pela C.D. Michelle Franz Montan, estou plenamente de acordo com a realização do experimento. Assim, eu autorizo a execução do trabalho de pesquisa, exposto acima, em mim.

Piracicaba, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2004.

Nome: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

1ª via da instituição, 2ª via do sujeito da pesquisa

**ATENÇÃO:** A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, escreva para o Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP. Endereço – Av. Limeira, 901 – CEP 13414-903 – Piracicaba – SP. Fone: (19) 3412-5349 – Home page: [www.fop.unicamp.br/cep](http://www.fop.unicamp.br/cep) e-mail: [cep@fop.unicamp.br](mailto:cep@fop.unicamp.br)

## ANEXOS

### ANEXO 2



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



Certificamos que o projeto de pesquisa "Avaliação da eficácia anestésica da ropivacaína a 1% encapsulada em lipossomas", protocolo CEP nº **162/2003**, dos Pesquisadores **Michelle Franz Montan, Juliana Cama Ramacciato, Marcelo Bortolotto Fregonesi, Eneida de Paula e Francisco Carlos Groppo**, está de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde - MS e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia - UNICAMP.

We certify that the research project "Clinical trial of liposomal 1% ropivacaine in local anesthesia", register number **162/2003**, of **Michelle Franz Montan, Juliana Cama Ramacciato, Marcelo Bortolotto Fregonesi, Eneida de Paula and Francisco Carlos Groppo**, is in agreement with the recommendations of 196/96 Resolution of the National Health Committee - Brazilian Health Department and was approved by the Research Ethics Committee of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas - UNICAMP.

Piracicaba - SP, Brazil, June 07 2004

*Cynthia Pereira Machado Tabchoury*  
**Profa. Dra. Cíntia Pereira Machado Tabchoury**

Secretaria  
CEP/FOP/UNICAMP

*Jorge Junior*  
**Prof. Dr. Jorge Junior**  
Coordenador  
CEP/FOP/UNICAMP



[<< Back to menu](#)

# Author

## Author overview

### New manuscript submission:

Click on 'New submission' to begin a new manuscript submission.

[New submission >>](#)

### Retracting a manuscript:

If you would like to retract/withdraw a submitted manuscript contact the editorial office.

Email: [qi.submit@quintbook.com](mailto:qi.submit@quintbook.com)

[<< Log out/exit](#)

## Your manuscripts:

Status:	Manuscript:
<b>SUBMITTED</b>	891 - Original Article - The efficacy of 1% ropivacaine gel for topical anesthesia of human oral mucosa.

[Progress >>](#)

[Top of page >>](#)



## ANEXOS

### ANEXO 4

#### DELIBERAÇÃO CCPG – 001/98

Dispõe a respeito do formato das teses de Mestrado e de Doutorado aprovadas pela UNICAMP

Tendo em vista a possibilidade, segundo parecer PG N° 1985/96, das teses de Mestrado e Doutorado terem um formato alternativo àquele já bem estabelecido, a CCPG resolve:

Artigo 1º - Todas as teses de mestrado e de doutorado da UNICAMP terão o seguinte formato padrão:

- I) Capa com formato único, dando visibilidade ao nível (mestrado e doutorado), e à Universidade.
- II) Primeira folha interna dando visibilidade ao nível (mestrado ou doutorado), à Universidade, à Unidade em foi defendida e à banca examinadora, ressaltando o nome do orientador e co-orientadores. No seu verso deve constar a ficha catalográfica.
- III) Segunda folha interna onde conste o resumo em português e o Abstract em inglês.
- IV) Introdução Geral.
- V) Capítulo.
- VI) Conclusão geral.
- VII) Referências Bibliográficas.
- VIII) Apêndices (se necessários).

Artigo 2º - A critério do orientador, 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.

Parágrafo único – Os veículos de divulgação deverão ser expressamente indicados.

Artigo 3º - A PRPG providenciará o projeto gráfico das capas bem como a impressão de um número de exemplares, da versão final da tese a ser homologada.

Artigo 4º - Fica revogada a resolução CCPG 17/97.