

Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas



**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
**INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS**  
**MESTRADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS**  
**INFECCIOSAS**

**MAURICIO NAOTO SAHEKI**

**ENSAIO CLÍNICO DE NÃO INFERIORIDADE,**  
**RANDOMIZADO, CONTROLADO, CEGO, DE**  
**ANTIMONIATO DE MEGLUMINA EM DOSE**  
**BAIXA VERSUS DOSE ALTA PARA**  
**LEISHMANIOSE CUTÂNEA AMERICANA**  
**NO RIO DE JANEIRO, BRASIL**

Rio de Janeiro

2013

**DISSERTAÇÃO DPCDI-PEEC**

**M.N.SAHEKI 2013**

**ENSAIO CLÍNICO DE NÃO INFERIORIDADE,  
RANDOMIZADO, CONTROLADO, CEGO, DE  
ANTIMONIATO DE MEGLUMINA EM DOSE  
BAIXA VERSUS DOSE ALTA PARA  
LEISHMANIOSE CUTÂNEA AMERICANA  
NO RIO DE JANEIRO, BRASIL**

MAURICIO NAOTO SAHEKI

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Inês Fernandes Pimentel e Prof. Dr. Sandro Javier Bedoya Pacheco.

Rio de Janeiro

2013

Ficha catalográfica elaborada pela  
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

S131 Saheki, Maurício Naoto

Ensaio clínico de não inferioridade, randomizado, controlado, cego, de antimoníato de meglumina em dose baixa versus dose alta para leishmaniose cutânea americana no Rio de Janeiro, Brasil / Maurício Naoto Saheki. – Rio de Janeiro, 2013.

xiv, 78 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, 2013.

Bibliografia: f. 54-63

1. Ensaio clínico. 2. Leishmaniose cutânea. 3. *Leishmania (Viannia) braziliensis*. 4. Antimoníato de meglumina. I. Título.

CDD 616.9364

MAURICIO NAOTO SAHEKI

**ENSAIO CLÍNICO DE NÃO INFERIORIDADE,  
RANDOMIZADO, CONTROLADO, CEGO, DE  
ANTIMONIATO DE MEGLUMINA EM DOSE  
BAIXA VERSUS DOSE ALTA PARA  
LEISHMANIOSE CUTÂNEA AMERICANA  
NO RIO DE JANEIRO, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde

Orientadores: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Inês Fernandes Pimentel  
Prof. Dr. Sandro Javier Bedoya Pacheco

Aprovada em \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Armando de Oliveira Schubach** (Presidente)  
Doutor em Biologia Parasitária – IOC/FIOCRUZ

---

**Prof. Dr. Carlos Augusto Ferreira de Andrade**  
Doutor em Saúde Pública – ENSP/FIOCRUZ

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Helena de Araújo Melo**  
Doutora em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas – IPEC/FIOCRUZ

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria de Fátima Madeira**  
Doutora em Biologia Parasitária – IOC/FIOCRUZ

## **DEDICATÓRIA**

Por toda minha vida, duas pessoas estiveram incondicionalmente presentes em todos os momentos difíceis. Gostaria de dedicar este trabalho aos meus pais, Hisayoshi e Kiyoko.

## AGRADECIMENTOS

Aos pacientes que, apesar de seu sofrimento físico e psicológico, gentilmente se dispuseram a participar deste estudo; sem eles, nada seria possível.

Aos familiares dos pacientes e os profissionais de saúde de áreas rurais e remotas do Rio de Janeiro, que mesmo em momentos difíceis estiveram presentes com sua dedicação e boa vontade.

À minha noiva, Danielle, por sua compreensão, carinho e incansável apoio ao longo do período de elaboração deste trabalho;

Aos meus orientadores, os professores Dra. Maria Inês Fernandes Pimentel e Dr. Sandro Javier Bedoya Pacheco, pelos valiosos ensinamentos, gentileza e apoio incondicional durante todo trabalho;

Ao Dr. Armando de Oliveira Schubach, pela capacidade em coordenar este estudo com competência e simplicidade, por trazer a nossa vida uma riqueza de princípios e ensinamentos;

Ao Dr. Carlos Augusto Ferreira de Andrade, pelos sábios aconselhamentos em epidemiologia nos seminários e pelo acompanhamento de todas as etapas da presente dissertação;

Ao Dr. João Soares Moreira, pelos vários ensinamentos e sábias orientações sobre Leishmaniose;

À Dra. Claudia Maria Valete, Dr. Marcelo Rosadiski Lyra, Dra. Érica Camargo Ferreira e Vasconcellos, Dra. Mariza de Matos Salgueiro, Dra. Tânia Salgado de Sousa Torraca, Dr. Frederico Pereira Bom Braga, Dr. Benivaldo Ramos Ferreira Terceiro, Dra. Ana Cristina da Costa Martins, Dra. Mariana Reuter Palmeiro, pelos ensinamentos, pela amizade e pelo convívio diário no ambulatório de Leishmaniose.

Aos funcionários do Centro de Clínicas e do Laboratório de Vigilância em Leishmanioses, Michele Aparecida Ferreira Moreira de Oliveira, Fátima Peres Lima Dantas, Monique Reis da Fonseca, Marli Blois da Silva Moreira e Rosana Blois da Silva Moreira, pelo constante apoio, cuidado e dedicação aos pacientes;

À Dra. Aline Fagundes, Dra. Maria de Fátima Madeira, Dra. Fátima Conceição-Silva, Cintia Xavier de Mello e Eliame Mouta-Confort pelo constante apoio do laboratório e pela estreita parceria no estudo das Leishmanioses.

Aos meus amigos de plantão, Adriana Pinto e Vinicius Martins Menezes, pelo incentivo e principalmente pela paciência.



*“Sonho que se sonha só  
É só um sonho que se sonha só.  
Mas sonho que se sonha junto é realidade”*

Raul Seixas – Prelúdio

Saheki, MN. **Ensaio clínico de não inferioridade, randomizado, controlado, cego, de antimoniato de meglumina em dose baixa versus dose alta para Leishmaniose Cutânea Americana no Rio de Janeiro, Brasil.** Rio de Janeiro, 2013. 78 f. Dissertação [Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz.

## RESUMO

**Fundamento:** Na atualidade, há um corpo crescente de pesquisas que apontam para novas drogas e esquemas alternativos de antimônio para o tratamento da leishmaniose tegumentar americana (LTA). Nesse contexto, as recomendações dos consensos mais recentes convergem para a necessidade urgente de ensaios clínicos na LTA. Embora o tratamento alternativo com dose baixa de antimônio venha sendo utilizado nos últimos 30 anos, a evidência disponível provém de dois estudos retrospectivos, dois estudos prospectivos e relatos de caso. Em nosso conhecimento, este é o terceiro estudo randomizado que compara dose baixa com a dose alta de antimônio pentavalente (Sb5+) para o tratamento da LTA. **Métodos:** Em um estudo de não inferioridade, randomizado, controlado, cego realizado no estado do Rio de Janeiro, uma área endêmica de transmissão de *Leishmania (Viannia) braziliensis*, o tratamento em dose baixa de antimoniato de meglumina (5 mg Sb5+/kg/dia durante 30 dias) foi comparado com o tratamento em dose alta (20 mg Sb5+/kg/dia durante 20 dias) para leishmaniose cutânea americana (LCA). Participantes com idade  $\geq 13$  anos com diagnóstico parasitológico de LCA foram randomizados para tratamento com dose baixa ou dose alta de antimoniato de meglumina. Os investigadores foram mascarados para o tratamento alocado. O desfecho primário foi a cura clínica no dia 360 nas populações de intenção de tratar modificada (mITT) e por protocolo (PP). Os desfechos secundários foram tempo de epiteliação, tempo de cura clínica, grau de redução da lesão e da úlcera no dia 30. A margem de não inferioridade predeterminada foi de 15%. Este estudo foi registrado no endereço eletrônico ClinicalTrials.gov, registro número NCT01301924. **Resultados:** Entre outubro de 2008 e dezembro de 2011, um total de 60 pacientes com LCA foi alocado para receber tratamento com antimoniato de meglumina em dose baixa ou em dose alta (30 por grupo). Na população de mITT, o desfecho primário foi atingido em 76,7% dos pacientes em dose alta versus 73,3% dos pacientes em dose baixa (diferença de risco 3,3%, IC 95% unicaudal: -15,2 a 21,9%;  $p=0,15$ ) (não inferioridade não demonstrada). Na análise PP, a cura clínica no dia 360 foi observada em 84,6% dos pacientes em dose alta versus 75,9% em dose baixa (diferença de risco 8,8%, IC 95% unicaudal: -9,2% a 26,7%;  $p=0,28$ ) (não inferioridade não demonstrada). Não foi observada diferença significativa nos desfechos secundários. Embora a diferença na frequência de efeitos adversos não tivesse sido significativa entre os grupos de tratamento, pacientes tratados em dose alta tiveram efeitos adversos clínicos ( $p=0,04$ ) e laboratoriais ( $p=0,01$ ) mais graves do que aqueles que receberam dose baixa. **Interpretação:** Este estudo pode constituir como evidência para as recomendações de um consenso recente que determina a utilização dos dias 180 a 360 como o desfecho de tempo ideal para avaliar cura clínica e levanta a questão intrigante sobre o melhor tempo para definir cura clínica na LTA. Embora a hipótese de não inferioridade não tenha sido formalmente determinada neste estudo, tendo em vista sua segurança e tolerabilidade, o tratamento com antimônio em dose baixa pode ser considerada como uma alternativa

aceitável em pacientes incapazes de tolerar ou que apresentem contraindicação ao tratamento padrão em alta dose de antimônio.

**Palavras Chave:** 1. Ensaio Clínico. 2. Leishmaniose cutânea. 3. *Leishmania (Viannia) braziliensis*. 4. Antimoniato de meglumina.

Saheki, MN. **A randomized, controlled, single blind, non-inferiority trial of low dose versus high dose meglumine antimoniate for American cutaneous leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil.** Rio de Janeiro, 2013. 78 p. Dissertation [Master Degree in Clinical Research in Infectious Diseases] - Oswaldo Cruz Foundation, Evandro Chagas Clinical Research Institute.

## ABSTRACT

**Background:** There is an expanding field of research focusing on alternative schemes of antimony and new drugs to treat American tegumentary leishmaniasis (ATL). In this setting, recent guidelines convey that clinical trials are urgently needed. Although the alternative low dose antimony treatment has been used for the past 30 years, the available evidence comes from two retrospective, two prospective cohort studies and case reports. To our knowledge, this is the third randomized trial comparing low dose and high dose pentavalent antimony (Sb5+) to treat ATL. **Methods:** In a randomized, controlled, single blind, non-inferiority trial undertaken in Rio de Janeiro State, Brazil, an endemic area of *Leishmania (Viannia) braziliensis* transmission, low dose regimen of meglumine antimoniate (5 mg Sb5+/kg/day for 30 days) was compared with high dose regimen (20 mg Sb 5+/kg/day for 20 days) to treat American cutaneous leishmaniasis (ACL). Participants aged  $\geq 13$  years with parasitologically confirmed ACL were randomly assigned to low dose or high dose treatment with meglumine antimoniate. Investigators were masked to treatment allocation. The primary endpoint was clinical cure at day 360 on modified intention to treat (mITT) and per protocol (PP) populations. Secondary endpoints were time to epithelization, time to clinical cure, adverse events, degree of total lesion and ulcer diameter reduction at day 30. The predetermined non-inferiority margin was 15%. This trial is registered with ClinicalTrials.gov, number NCT01301924. **Results:** Between October, 2008, and December, 2011, a total of 60 patients with ACL were randomly assigned to low dose or high dose treatment of meglumine antimoniate (30 per group). In the mITT population, the primary endpoint was reached in 76.7% given standard high dose versus 73.3% of patients given low dose treatment (risk difference 3.3%, one sided 95% CI: -15.2 to 21.9%;  $p=0.15$ ) (non-inferiority not confirmed). In PP analysis, clinical outcome was successful in 84.6% of patients given high dose versus 75.9% of patients given low dose treatment (risk difference 8.8%, one sided 95% CI: -9.2% to 26.7%,  $p=0.28$ ) (non-inferiority not confirmed). There were no significant differences in secondary measures. Although the occurrence of adverse events was not significantly different, patients in the high dose regimen were significantly more likely to have severe clinical ( $p=0.04$ ) and laboratory ( $p=0.01$ ) adverse events than those assigned to the low dose treatment. **Interpretation:** This study parallels a recent guideline that recommends day 180-360 as the ideal endpoint for clinical cure and raises the intriguing question about the optimal cutoff time to define clinical cure in cutaneous leishmaniasis. Although the hypothesis of non-inferiority was not formally met in this trial, given its safety and tolerability, the low dose antimony regimen could be regarded as an acceptable alternative in patients unable to tolerate or who have a contraindication to the standard high dose treatment.

**Keywords:** 1. Clinical Trial. 2. Cutaneous leishmaniasis. 3. *Leishmania (Viannia) braziliensis*. 4. Meglumine antinomite.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fluxograma CONSORT do ensaio clínico	32
Figura 2	Proporção de pacientes com cura clínica após o início do tratamento	33
Figura 3	Análise de não inferioridade nas populações de intenção de tratar e por protocolo	34
Figura 4	Curvas de Kaplan Meier para epitelização e cura clínica conforme o grupo de tratamento	35
Figura 5	Frequência de eventos adversos clínicos, eletrocardiográficos e laboratoriais de acordo com o grupo de tratamento	36
Figura 6	Lista de checagem CONSORT para estudos randomizados	40

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características de base da população de intenção de tratar modificada de acordo com o grupo de tratamento	37
Tabela 2	Resposta ao tratamento e efeitos adversos de acordo com o grupo de tratamento	38
Tabela 3	Análise univariada e multivariada dos fatores preditivos para cura clínica no dia 360	39

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACL	American cutaneous leishmaniasis (leishmaniose cutânea americana)
AE	Adverse events (eventos adversos)
AM	Antimoniato de meglumina
ATL	American tegumentar leishmaniasis (leishmaniose tegumentar americana)
AUROC	Area under the receiver operating characteristic curve (área sob a curva)
CHAID	Chi-square automatic interaction detector
CI	Confidence interval (intervalo de confiança)
CL	Cutaneous leishmaniasis (leishmaniose cutânea)
CNPQ	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DATASUS	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
ECG	Eletrocardiograma
ELISA	Imunoensaio enzimático
FAPERJ	Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
H0	Hipótese nula
H1	Hipótese alternativa
IPEC	Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas
LabVigiLeish	Laboratório de Vigilância em Leishmanioses
LC	Leishmaniose cutânea
LM	Leishmaniose mucosa
<i>L. (V.) braziliensis</i>	<i>Leishmania (Viannia) braziliensis</i>
mITT	Modified intention-to-treat (intenção de tratar modificada)
OMS	Organização Mundial da Saúde
P(dose alta)	Proporção de cura clínica observada no grupo de dose alta de antimônio

P(dose baixa)	Proporção de cura clínica observada no grupo de dose baixa de antimônio
P(high)	Proporção de cura clínica observada no grupo de dose alta de antimônio
P(low)	Proporção de cura clínica observada no grupo de dose baixa de antimônio
PP	Per protocol (por protocolo)
QT	Intervalo QT
QTc	Intervalo QT corrigido
Sb <sup>5+</sup>	Antimônio pentavalente
WHO	World Health Organization



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	01
1.1	Leishmaniose tegumentar americana	01
1.2	Tratamento da leishmaniose cutânea	03
1.3	Ensaio clínico na leishmaniose cutânea	05
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b>	07
<b>3</b>	<b>HIPÓTESE</b>	08
<b>4</b>	<b>OBJETIVO</b>	09
4.1	Objetivo geral	09
4.2	Objetivos específicos	09
<b>5</b>	<b>ARTIGO (SUBMETIDO): A randomized, controlled, single blind, non-inferiority trial of low dose versus high dose meglumine antimoniate for American cutaneous leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil</b>	10
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	47
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	53
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>	54
	ANEXO A – Parecer substanciado do Comitê de Ética em Pesquisa	64
	ANEXO B – Termo de consentimento livre e esclarecido	66
	ANEXO C – Protocolo do estudo registrado no ClinicalTrials.gov	71

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Leishmaniose Tegumentar Americana

As leishmanioses são antroponoses causadas por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitidos por insetos flebotomíneos: as fêmeas infectadas transmitem o parasito ao ser humano durante o repasto sanguíneo (BRASIL, 2010).

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é causada por diversas espécies de *Leishmania*; no Brasil, a espécie mais prevalente é *Leishmania (Viannia) braziliensis* (BRASIL, 2010). No estado do Rio de Janeiro, esta espécie é responsável pela esmagadora maioria dos casos, e sua transmissão é dependente da adaptação do vetor *Lutzomyia intermedia* ao ambiente domiciliar e peridomiciliar (Marzochi & Marzochi, 1994). *Leishmania (V.) braziliensis* circulante no Rio de Janeiro parece ser geneticamente bastante homogênea (Baptista et al, 2009).

A LTA é considerada um dos principais problemas de saúde pública no país, devido à sua magnitude, morbidade e possibilidade de conduzir a deformidades, o que se reflete nas esferas psicológica, social e econômica (BRASIL, 2010).

Entre 1985 e 2005, o número médio de casos anuais de LTA no Brasil foi de cerca de 28.500, com coeficiente de detecção médio de 18,5 casos / 100.000 habitantes, afetando todas as unidades da federação (BRASIL, 2010). Nos últimos anos, o número de casos no Brasil diminuiu consideravelmente. Em 2011, o número total de casos de LTA no Brasil foi de 15.731 (BRASIL, 2013a) e o coeficiente de detecção foi de 11,1 casos por 100.000 habitantes (BRASIL, 2013b). Segundo o Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde - DATASUS, no estado do Rio de Janeiro foram notificados 80 casos autóctones de LTA neste mesmo ano (BRASIL, 2013c).

A LTA pode afetar a pele (leishmaniose cutânea, LC) e/ou semimucosas ou mucosas, notadamente das vias aerodigestivas superiores (leishmaniose mucosa ou cutaneomucosa). A prevalência de leishmaniose mucosa não ultrapassa 5% nas áreas endêmicas do Brasil (BRASIL, 2010). A ocorrência de leishmaniose mucosa é maior nas áreas de transmissão recente e menor nas áreas onde a endemia é mais antiga, estando relacionada aos níveis de endemicidade (Bedoya-Pacheco et al, 2011).

A LC típica é caracterizada por lesões ulceradas arredondadas ou ovaladas, de bordas infiltradas, centro eritematoso grosseiramente granuloso, normalmente com escassa secreção

purulenta. As lesões, geralmente uma ou poucas, afetam principalmente áreas não protegidas pelas vestimentas, e costumam ser indolores (Pessôa & Barreto, 1948).

A ocorrência de lesões muito numerosas é incomum, sendo a leishmaniose disseminada definida pelo surgimento de mais de 10 lesões cutâneas afetando partes não contíguas do corpo, polimórficas, podendo chegar a centenas de lesões; em até 44% destes casos, coexistem lesões mucosas (BRASIL, 2010; Rosa & Machado, 2011).

Em raros casos, pode haver grave comprometimento da imunidade celular contra o parasito, com anergia, determinando o surgimento de lesões infiltradas no tegumento, à semelhança do que ocorre nas formas virchowianas da hanseníase. Este quadro é conhecido como leishmaniose cutânea difusa (BRASIL, 2010). No Brasil, estes casos estão associados a *Leishmania (Leishmania) amazonensis* e ocorrem principalmente na região Norte do país (BRASIL, 2010). No estado do Rio de Janeiro, um caso foi descrito com estas características (Azeredo-Coutinho et al, 2007).

As lesões de LTA caracterizam-se pela reação inflamatória do tipo crônico granulomatoso, com intensa infiltração linfoplasmocitária (Quintella et al, 2009; Quintella et al, 2012). A resposta imune do hospedeiro parece ser determinante para a evolução da enfermidade. Nas lesões típicas da LC (úlceras com bordas infiltradas e fundo granuloso) foi descrito o predomínio de linfócitos T, macrófagos e neutrófilos (Morgado et al, 2008). Estudos em modelo murino sugerem que a formação da úlcera decorre do processo inflamatório, e não necessariamente da presença do parasito: surge quando o processo inflamatório começa a se instalar, na mesma ocasião em que a carga parasitária diminui (Belkaid et al, 2002). Na LC, as lesões se caracterizam também pela intensa atividade de macrófagos ativados aos estágios parasitocidas, através da predominância da resposta imune celular do tipo T helper 1 (Pirmez et al, 2003; Morgado et al, 2008). O desequilíbrio desta resposta produz lesões mais graves, seja no sentido de maior intensidade (com o surgimento de lesões mucosas), seja no de menor intensidade (com a forma cutânea difusa) (BRASIL, 2010).

Após o tratamento ou resolução espontânea, as lesões da LC podem resultar em cicatrizes atróficas, deprimidas, com áreas de hiper e hipocromia; as cicatrizes podem ainda ser hipertróficas (com traves fibrosas) ou inaparentes (Pessôa & Barreto, 1948). Cura espontânea pode ocorrer (Marsden et al, 1984; Costa et al, 1990), entretanto a lesão cutânea pode persistir e coexistir com lesões mucosas de surgimento posterior (Pessôa & Barreto, 1948; Marsden, 1986).

## 1.2 Tratamento da leishmaniose cutânea

O Ministério da Saúde recomenda que o tratamento da LC seja feito, em primeira escolha, com antimoniato de meglumina (AM), na dose de 10 a 20 mg de antimônio pentavalente ( $Sb^{5+}$ ) por quilograma de peso por dia, durante 20 dias, respeitando-se o limite máximo de 3 ampolas por dia (BRASIL, 2010).

O critério de cura é clínico, e definido pelo Ministério da Saúde como “epitelização das lesões ulceradas, regressão total da infiltração e eritema, até três meses após conclusão do esquema terapêutico” (BRASIL, 2010). Ressalva-se, no entanto, a possibilidade de prolongar o acompanhamento clínico por até seis meses, nos casos com evidência de cicatrização progressiva, sem necessidade de reintroduzir tratamento. Caso contrário, está indicado retratamento, sendo definida a falha terapêutica como o caso que recebeu “dois esquemas terapêuticos regulares sem apresentar remissão clínica” (BRASIL, 2010).

Caso não haja resposta satisfatória, recomenda-se utilizar um dos fármacos de segunda escolha, anfotericina B ou pentamidina (BRASIL, 2010).

No Laboratório de Vigilância em Leishmanioses (Lab Vigileish) – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), a dose de AM de 5mg  $Sb^{5+}$ /kg/dia por via intramuscular tem sido eficaz e bem tolerada no tratamento de pacientes com LTA (Oliveira-Neto et al, 1996; Oliveira-Neto et al, 1997a; Oliveira-Neto et al, 1997b; Oliveira-Neto et al, 2000; Schubach, 1990, tese; Schubach et al, 2002; Schubach et al, 2005). Os pacientes com LC recebem tratamento durante 30 dias contínuos. As lesões localizadas nas pernas e pés costumam demorar mais para epitelizar, sugerindo que a estase venosa possa retardar a cicatrização (Oliveira-Neto et al, 1997a). Mesmo que não ocorra epitelização das lesões ao final do tratamento, o mesmo é interrompido e o paciente é reavaliado a cada 15 dias até a epitelização das lesões. Nos meses seguintes à epitelização, observa-se o sucessivo desaparecimento das crostas, da descamação, da infiltração e, finalmente, do eritema, quando a lesão é considerada cicatrizada. Caso não ocorra progressão contínua para a cicatrização total, o tratamento poderá ser reiniciado na mesma dosagem e tempo de administração (Romero et al, 2001).

Esquemas em séries de 10 dias intercaladas por períodos de 10 dias sem medicação, até a cicatrização das lesões acarretam menor incidência de efeitos adversos e menor índice de abandono que o encontrado nos pacientes tratados em períodos contínuos (Azeredo-Coutinho

& Mendonça, 1997). Estes esquemas com AM intermitente são particularmente úteis para pacientes idosos e/ou com comorbidades (Vasconcellos et al, 2012).

Os pacientes são monitorados com relação às funções hepáticas, renais, pancreáticas e cardíacas. Efeitos adversos podem ser observados, embora não constituam necessariamente motivo de suspensão do tratamento: artralgia, mialgia, anorexia, dor abdominal, prurido, febre, cefaléia, edema, herpes zoster, e erupções cutâneas. (Veiga et al, 1983; Berman, 1988; Antezana et al, 1992; Brummitt et al, 1996; McBride et al, 1995). Alterações eletrocardiográficas relacionadas ao antimonial são modificações do ritmo cardíaco ou da repolarização ventricular, com achatamento ou inversão de onda T e alargamento do espaço QT corrigido (Chulay, 1985). Prolongamento do intervalo QT corrigido acima de 0,5 segundos sinaliza a possibilidade de arritmia cardíaca grave e fatal (World Health Organization - WHO, 2010). Os efeitos adversos clínicos mais freqüentes na LTA são dores musculoesqueléticas, alterações gastrointestinais e cefaléia leve a moderada; como alterações eletrocardiográficas, prolongamento do intervalo QT; e em relação a alterações laboratoriais, aumentos leves a moderados das enzimas pancreáticas e hepáticas. Efeitos adversos que levem a descontinuidade do tratamento são relativamente incomuns (Oliveira LF et al, 2011). O antimonial pentavalente parece causar efeitos adversos mais frequentemente em pacientes acima de 50 anos (Diniz et al, 2012).

As causas da falha terapêutica e da variabilidade de respostas terapêuticas aos antimoniais pentavalentes ainda não foram totalmente esclarecidas e podem estar ligadas tanto à resistência inerente do parasito ao antimônio (Grogl et al, 1992; Hadighi et al, 2006) quanto à imunidade do hospedeiro, farmacodinâmica e farmacocinética do fármaco (Berman et al, 1982; Marsden, 1985). Pacientes menores de 5 anos de idade foram significativamente mais propensos à falha terapêutica em um estudo realizado na Colômbia (Palacios, 2001). Entre os fatores relacionados ao insucesso terapêutico, os tratamentos irregulares demonstram ser significativos (Rodrigues et al, 2006), bem como a negatividade ao teste cutâneo com antígenos de *Leishmania* (Passos et al, 2000). A cada 10 milímetros de aumento na resposta à intradermoreação de Montenegro, ocorreria uma diminuição de 26% na ocorrência de falha; um tempo de evolução menor que 2 meses também se correlacionaria com a ocorrência de falha terapêutica (Antonio, 2012). A ocorrência de lesões concomitantes-distantes, definidas como o aparecimento de mais de uma lesão em diferentes segmentos do corpo (cabeça, membros superiores, tronco e membros inferiores) no espaço de 15 dias, bem como a infecção por *Leishmania (V.) braziliensis*, foram consideradas fortemente associadas com falha terapêutica em um estudo caso-controle desenvolvido no Peru com 79% de falha ao

estibogluconato de sódio usado na dose padronizada de 20mg Sb<sup>5+</sup>/kg/dia por 20 dias (Valencia et al, 2012).

No Rio de Janeiro, parece haver polimorfismo genético entre amostras isoladas de pacientes antes do tratamento e depois do insucesso terapêutico, sugerindo uma possível diferenciação da estrutura da população parasitária original que poderia estar envolvida nos mecanismos de resistência ao tratamento ou reativação das lesões na LTA (Baptista et al, 2012).

### **1.3 Ensaios clínicos na leishmaniose cutânea**

O uso de um número muito limitado de medicações para LC, a maioria de uso parenteral e com muitos efeitos adversos, levou à necessidade de pesquisas para comparar a eficácia de outros medicamentos com os tradicionais, especialmente os antimoniais pentavalentes, considerados padrão para tratamento da LC no Novo Mundo (WHO, 2010). A última série de relatórios técnicos da Organização Mundial de Saúde (OMS) relacionada ao controle da leishmaniose foi publicada em 2010 e recomenda o uso dos antimoniais pentavalentes por via sistêmica para o tratamento da leishmaniose cutânea do Novo Mundo com grau de evidência A (“evidência obtida através de pelo menos um ensaio clínico controlado randomizado com desenho apropriado”), maior que o de outras medicações (WHO, 2010).

Nas últimas décadas, vários ensaios clínicos foram desenvolvidos em diferentes países para comparação entre: tratamento ou ausência de tratamento (Arana et al, 2001); medicamentos diferentes (Armijos et al, 2004; Machado et al, 2010; Vélez et al, 2010; Chrusciak-Talhari et al, 2011; Neves et al, 2011; Rubiano et al, 2012; Soto et al, 2013); doses diferentes do mesmo medicamento (Ampuero, 2009); duração diferente do tratamento com o mesmo medicamento (Wortmann et al, 2002); tratamentos tópicos (Faghihi G & Tavakoli-kia, 2003); associações de medicamentos (Soto et al, 1998; Sadeghian & Nilforoushzadeh, 2006; Nilforoushzadeh et al, 2008); resposta de faixas etárias diferentes ao mesmo tratamento (Layegh et al, 2011); uso de medicamentos e métodos não farmacológicos para o tratamento da LC (Aronson et al, 2010). Entretanto, revisões sistemáticas com meta-análise demonstraram que muitos desses ensaios possuem fragilidades no desenho, na condução ou na análise dos dados, tornando-os inconclusivos e reduzindo sua aplicabilidade (González et al, 2009; González et al, 2010; Oliveira et al, 2011).

Recentemente, foram publicadas recomendações para o desenho, condução, análise e relato de ensaios clínicos de tratamentos para LC, objetivando a definição de desfechos mensuráveis, reprodutíveis e com significado clínico (Olliaro et al, 2013).

O presente estudo objetivou comparar o esquema de tratamento com antimoniato de meglumina atualmente recomendado no Brasil para tratamento da leishmaniose cutânea (BRASIL, 2010) com esquemas alternativos, seja com a dose padrão em séries de 10 dias intercaladas por 10 dias de intervalo, seja com doses baixas de antimônio, em uso contínuo ou em séries de 10 dias intercaladas por intervalos de 10 dias entre elas, por meio de um ensaio clínico cego, randomizado e controlado.

## 2. JUSTIFICATIVA

Nas palavras da OMS, “a leishmaniose é ainda uma das doenças mais negligenciadas do mundo, acometendo, sobretudo, os mais pobres dos pobres, principalmente em países em desenvolvimento” (WHO, 2010).

Embora o impacto da LTA na saúde seja considerado inaceitável (WHO, 2010), são poucas as opções de tratamentos disponíveis e a evidência para o uso de tratamentos alternativos é escassa (Gonzalez et al., 2010; Olliaro et al., 2013; Reveiz et al., 2013). Nesse contexto, ensaios clínicos são necessários para responder a importantes questões como: quais são a verdadeira eficácia e a segurança de esquemas alternativos ao tratamento padrão com alta dose de antimonial pentavalente para LTA?

Embora o tratamento com a dose baixa de antimônio venha sendo utilizado nos últimos 30 anos, a evidência é infelizmente limitada a dois estudos retrospectivos, dois prospectivos e relatos de caso (Amato et al., 1998; de Camargo Ferreira, 2010; Costa et al., 1988; Oliveira-Neto et al., 1996; Oliveira-Neto et al., 1997a; Oliveira-Neto et al., 1997b; Oliveira-Neto et al., 2000; Oliveira-Neto et al., 2006; Schubach et al., 2005). Em nossa revisão da literatura, identificamos apenas dois ensaios clínicos comparando o tratamento com dose baixa e dose alta de antimonial pentavalente para LTA: um pequeno ensaio clínico publicado pelo Lab VigiLeish no Rio de Janeiro (Oliveira-Neto et al., 1997b) e outro ensaio clínico maior, não publicado, na região endêmica de Corte de Pedra, Bahia (Ampuero, 2009).

Este estudo trata-se de um ensaio clínico de não inferioridade, randomizado, controlado, cego, de fase III comparando o tratamento com 30 dias de antimoniato de meglumina na dose de 5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/dia (dose baixa) com 20 dias de antimoniato de meglumina na dose de 20 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/dia (dose alta) em pacientes com LC no estado do Rio de Janeiro, uma área endêmica de transmissão de *L. (V.) braziliensis*.

A necessidade de se comparar a eficácia e a segurança entre o esquema de tratamento com antimoniato de meglumina atualmente recomendado pelo Ministério da Saúde para o tratamento da LTA (BRASIL, 2010) e o esquema alternativo com dose baixa de antimônio motivou a elaboração deste estudo no Rio de Janeiro.



### 3. HIPÓTESE

H0: A diferença na proporção de cura clínica no dia 360 induzida pelo tratamento com antimoniato de meglumina na dose de 20 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/dia por 20 dias (dose alta) com 5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/dia por 30 dias (dose baixa) nas populações de intenção de tratar modificada e por protocolo é igual ou superior a margem de não inferioridade ( $\Delta$ ) de 15%; i.e.  $H_0: p_{(\text{dose alta})} - p_{(\text{dose baixa})} \geq \Delta 15\%$ .

H1: A diferença na proporção de cura clínica no dia 360 induzida pelo tratamento com antimoniato de meglumina na dose de 20 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/dia por 20 dias (dose alta) com 5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/dia por 30 dias (dose baixa) nas populações de intenção de tratar e por protocolo não excede a margem de não inferioridade de 15%; i.e.  $H_0: p_{(\text{dose alta})} - p_{(\text{dose baixa})} < \Delta 15\%$ .

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo geral

Demonstrar que o tratamento com antimoniato de meglumina na dose de 5 mg  $Sb^{5+}/kg/dia$  por 30 dias (dose baixa) não é inferior ao tratamento na dose de 20 mg  $Sb^{5+}/kg/dia$  por 20 dias (dose alta) em pacientes com leishmaniose cutânea pela margem de não inferioridade de 15%.

### 4.2 Objetivos específicos

1. Comparar a frequência de cura clínica atingida nos tempos intermediários do estudo (dia 60, dia 120, dia 180, dia 240, dia 300) entre os grupos de tratamento com dose alta e dose baixa.
2. Comparar a frequência e gravidade de efeitos adversos clínicos, laboratoriais e eletrocardiográficos entre os grupos de tratamento com dose alta e dose baixa.
3. Comparar o tempo de epitelização, o tempo de cura clínica, a proporção do tamanho da lesão entre os dias 0 e 30 e a proporção do tamanho da úlcera entre os dias 0 e 30 entre os grupos de tratamento com dose alta e dose baixa de antimonial pentavalente.
4. Comparar o critério de desfecho clínico próximo ao recomendado pelo Ministério da Saúde (cura clínica em 120 dias) e o critério utilizado no estudo (cura clínica em 360 dias).
5. Determinar os potenciais fatores preditivos de cura clínica usando análise estatística univariada, por regressão logística e por árvore de decisão.

**5. ARTIGO (SUBMETIDO)**

**A RANDOMIZED, CONTROLLED, SINGLE BLIND, NON-  
INFERIORITY TRIAL OF LOW DOSE VERSUS HIGH DOSE  
MEGLUMINE ANTIMONIATE FOR AMERICAN CUTANEOUS  
LEISHMANIASIS IN RIO DE JANEIRO, BRAZIL**

## PLOS Neglected Tropical Diseases

### A randomized, controlled, single blind, non-inferiority trial of low dose versus high dose meglumine antimoniate for American cutaneous leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil

--Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	PNTD-D-13-00865
<b>Full Title:</b>	A randomized, controlled, single blind, non-inferiority trial of low dose versus high dose meglumine antimoniate for American cutaneous leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil
<b>Short Title:</b>	Non-inferiority cutaneous leishmaniasis trial
<b>Article Type:</b>	Research Article
<b>Keywords:</b>	cutaneous leishmaniasis; clinical trial; meglumine antimoniate
<b>Corresponding Author:</b>	Mauricio Naoto Saheki Instituto de Pesquisa Clinica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz Rio de Janeiro, RJ BRAZIL
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>	
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	Instituto de Pesquisa Clinica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>	
<b>First Author:</b>	Mauricio Naoto Saheki
<b>First Author Secondary Information:</b>	
<b>Order of Authors:</b>	Mauricio Naoto Saheki
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	
<b>Abstract:</b>	<p><b>BACKGROUND</b></p> <p>There is an expanding field of research focusing on alternative schemes of antimony and new drugs to treat American tegumentary leishmaniasis (ATL). In this setting, recent guidelines convey that clinical trials are urgently needed. Although the alternative low dose antimony treatment has been used for the past 30 years, the available evidence is scarce. To our knowledge, this is the second published randomized trial comparing low dose and high dose pentavalent antimony (Sb5+) to treat ATL.</p> <p><b>METHODS/PRINCIPAL FINDINGS</b></p> <p>In a randomized, controlled, single blind, non-inferiority trial undertaken in Rio de Janeiro State, Brazil, an endemic area of Leishmania (Viannia) braziliensis</p>

	<p>transmission, low dose regimen of meglumine antimoniate (5 mg Sb5+/kg/day for 30 days) was compared with high dose regimen (20 mg Sb5+/kg/day for 20 days) to treat American cutaneous leishmaniasis (ACL).</p> <p>A total of 60 patients aged ≥ 13 years with parasitologically confirmed ACL were randomly assigned to low dose or high dose treatment of meglumine antimoniate. Having predetermined a non-inferiority margin of 15%, the primary endpoint of non-inferiority at day 360 was not confirmed in mITT and PP populations. The only secondary measure that differed between the groups was severity of clinical and laboratory adverse events, which was higher in the high dose regimen. Interestingly, 68.6% of patients that were classified as failure at day 120 were clinically cured of ACL at day 360 with no additional intervention (p&lt; 0.001).</p> <p><b>CONCLUSION</b></p> <p>This study parallels a recent guideline that recommends day 180-360 as the ideal time to define clinical cure in cutaneous leishmaniasis.</p> <p>Although the hypothesis of non-inferiority was not formally met in this trial, given its safety and tolerability, the low dose antimony regimen could be regarded as an acceptable alternative in patients unable to tolerate or who have a contraindication to the standard high dose treatment.</p>
<p><b>Suggested Reviewers:</b></p>	
<p><b>Opposed Reviewers:</b></p>	

Mauricio Naoto Saheki  
Laboratory for Leishmaniasis Surveillance  
Evandro Chagas Clinical Research Institute (IPEC)  
Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz)  
Avenida Brazil, 4365, Manguinhos.  
Postal Code: 21040-360  
Email: [mauricio.saheki@ipecc.fiocruz.br](mailto:mauricio.saheki@ipecc.fiocruz.br)

Rio de Janeiro, June 10, 2013

Dear sirs,

In the words of the World Health Organization, “leishmaniasis is still one of the world's most neglected diseases, affecting largely the poorest of the poor, mainly in developing countries”. Although the leishmaniasis burden is deemed unacceptable, available treatment options are few and evidence is scarce. In this setting, clinical trials are needed to address important questions like this: what is the real efficacy and safety of alternatives schemes of the standard high dose antimony treatment in American tegumentary leishmaniasis (ATL)?

Although the alternative low dose antimony treatment has been used for the past 30 years, evidence is unfortunately limited to two retrospective, two prospective cohort studies and case reports. In our literature review, we identified only two clinical trials comparing low dose and high dose antimony treatments for ATL: a small published trial performed at our center in Rio de Janeiro, Brazil, and another larger unpublished trial in Bahia, Brazil.

Our work is a phase III, randomised, controlled, single blind, non-inferiority trial comparing 30 days of meglumine antimoniate at a dose of 5 mg Sb5+/kg/day (low dose) with 20 days of meglumine antimoniate at a dose of 20 mg Sb5+/kg/day (high dose) in patients with American cutaneous leishmaniasis (ACL) in Rio de Janeiro State, Brazil, an endemic area of *Leishmania (Viannia) braziliensis* transmission. Although the hypothesis of non-inferiority was not formally met in our trial, using the trial safety and tolerability data, we propose that the low dose antimony regimen can be regarded as an acceptable alternative in patients unable to tolerate or who have a contraindication to the standard high dose treatment. Additionally, findings in our study strengthen a recommendation in a recent guideline that sets 180-360 as the ideal endpoint for clinical cure.

The study was done in accordance with the ethics principles of the Declaration of Helsinki. There are no conflicts of interest to disclosure and no commercial entity had any role in the study. This study was supported in part with grants approved by the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), Carlos Chagas Filho Foundation for Research Support of Rio de Janeiro State (Faperj) and the Brazilian Ministry of Health, and the study drug was provided by the Brazilian Ministry of Health.

Please find attached the abstract of our work. We hope you may consider this work for publication in PLoS Neglected Tropical Diseases

With kind regards,

Mauricio Naoto Saheki

Laboratory for Leishmaniasis Surveillance

Evandro Chagas Clinical Research Institute (IPEC)

Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz)

Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Email: [mauricio.saheki@ipecc.fiocruz.br](mailto:mauricio.saheki@ipecc.fiocruz.br)

1           **A randomized, controlled, single blind, non-inferiority trial of**  
2 **low dose versus high dose meglumine antimoniate for American**  
3 **cutaneous leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil.**

4  
5           **Authors**

6           Mauricio Naoto Saheki, Sandro Javier Bedoya, Maria Inês Fernandes Pimentel,  
7 Marcelo Rosadiski Lyra, Mariza de Matos Salgueiro, Érica de Camargo Ferreira e  
8 Vasconcellos, Sonia Regina Lambert Passos, Madelon Novato Ribeiro, Ginelza Peres  
9 Lima dos Santos, Aline Fagundes, Maria de Fátima Madeira, Cláudia Maria Valete  
10 Rosalino, Armando de Oliveira Schubach

11

12           **Affiliations**

13           Mauricio Naoto Saheki, Sandro Javier Bedoya, Maria Inês Fernandes Pimentel,  
14 Marcelo Rosadiski Lyra, Mariza de Matos Salgueiro, Érica de Camargo Ferreira e  
15 Vasconcellos, Madelon Novato Ribeiro, Ginelza Peres Lima dos Santos, Aline  
16 Fagundes, Maria de Fátima Madeira, Cláudia Maria Valete Rosalino, Armando de  
17 Oliveira Schubach. Laboratory for Leishmaniasis Surveillance, Evandro Chagas  
18 Clinical Research Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro,  
19 Brazil.

20           Sonia Regina Lambert Passos. Clinical Epidemiology Laboratory, Evandro  
21 Chagas Clinical Research Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Oswaldo Cruz  
22 Foundation, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

23

24           **Corresponding author**

25           Email: [mauricio.saheki@ipecc.fiocruz.br](mailto:mauricio.saheki@ipecc.fiocruz.br)

26

27           **Competing Interests**

28           The authors have declared that no competing interests exist.



29

30 **Abstract**

31

32 **BACKGROUND**

33 There is an expanding field of research focusing on alternative schemes of  
34 antimony and new drugs to treat American tegumentary leishmaniasis (ATL). In this  
35 setting, recent guidelines convey that clinical trials are urgently needed. Although the  
36 alternative low dose antimony treatment has been used for the past 30 years, the  
37 available evidence is scarce. To our knowledge, this is the second published randomized  
38 trial comparing low dose and high dose pentavalent antimony ( $Sb^{5+}$ ) to treat ATL.

39

40 **METHODS/PRINCIPAL FINDINGS**

41 In a randomized, controlled, single blind, non-inferiority trial undertaken in Rio  
42 de Janeiro State, Brazil, an endemic area of *Leishmania (Viannia) braziliensis*  
43 transmission, low dose regimen of meglumine antimoniate (5 mg  $Sb^{5+}$ /kg/day for 30  
44 days) was compared with high dose regimen (20 mg  $Sb^{5+}$ /kg/day for 20 days) to treat  
45 American cutaneous leishmaniasis (ACL).

46 A total of 60 patients aged  $\geq 13$  years with parasitologically confirmed ACL  
47 were randomly assigned to low dose or high dose treatment of meglumine antimoniate.  
48 Having predetermined a non-inferiority margin of 15%, the primary endpoint of non-  
49 inferiority at day 360 was not confirmed in mITT and PP populations. The only  
50 secondary measure that differed between the groups was severity of clinical and  
51 laboratory adverse events, which was higher in the high dose regimen. Interestingly,  
52 68.6% of patients that would be classified as failure at day 120 were clinically cured of  
53 ACL at day 360 with no additional intervention ( $p < 0.001$ ).

54

55 **CONCLUSION**

56 This study parallels a recent guideline that recommends day 180-360 as the ideal  
57 time to define clinical cure in cutaneous leishmaniasis.

58 Although the hypothesis of non-inferiority was not formally met in this trial,  
59 given its safety and tolerability, the low dose antimony regimen could be regarded as an  
60 acceptable alternative in patients unable to tolerate or who have a contraindication to the  
61 standard high dose treatment.

62

### 63 **Author summary**

64

65 American tegumentary leishmaniasis is one of the most neglected diseases in  
66 developing countries and stands out as an important public health issue in Latin  
67 America. Antimony compounds have been used as the mainstay in the treatment of  
68 cutaneous leishmaniasis since therapy with tartar emetic was first described by Gaspar  
69 Vianna in 1912. High dose of pentavalent antimony represents the current standard  
70 treatment for cutaneous leishmaniasis, but still poses great concerns about its dosage  
71 and toxicity. An alternative scheme of treatment with low dose of pentavalent antimony  
72 has been used for over 30 years at our center, but evidence is not clear, limited to a  
73 small number of studies and clinical trials are deemed needed to address this issue. In  
74 this study, we could not prove that low dose antimony was non-inferior to high dose  
75 antimony to treat American cutaneous leishmaniasis. We found nonetheless that high  
76 dose antimony treatment was associated with more serious clinical and laboratory  
77 adverse events. Finally, this study shows that we should probably change our practice  
78 and give more time to assess clinical cure in American cutaneous leishmaniasis,  
79 supporting a recent recommendation that sets 180 to 360 days after start of therapy as an  
80 ideal time to do that.

### 81 **Introduction**

82

83 American tegumentary leishmaniasis (ATL) is one of the most complex and  
84 neglected diseases in the world, even though it causes psychological and social stigma  
85 [1], increases the suffering of a population segment that is recognized as one of the  
86 world's poorest [2] and its occurrence is well known in the New World since the first  
87 decade of the twentieth century [3].

88 About a hundred years ago, Gaspar Vianna first described tartar emetic, a  
89 trivalent antimonial drug, for the treatment of ATL [4]. Antimony compounds has  
90 subsequently been established as the first-line of therapy for ATL but still raises great  
91 concerns about dosage, tolerance and toxicity [5]. The World Health Organization  
92 (WHO) recommends treatment at 20 mg pentavalent antimony ( $\text{Sb}^{5+}$ )/kg/day for 20  
93 days with no ceiling dose [6], the Brazilian Ministry of Health makes a similar  
94 recommendation, but only to a maximum daily dose of 1215 mg  $\text{Sb}^{5+}$  [7]. However, the

95 lack of evidence-based clinical guidance on the optimized dose and duration of  
96 treatment, the high toxicity and the high cost of the drug for countries with limited  
97 resources have always been a motivating factor to seek alternative schemes of antimony  
98 [5].

99 In this sense, some studies have described the efficacy and suggested the use of  
100 low dose of pentavalent antimony for the treatment of ATL [8-16]. Indeed, at our  
101 center, we have successfully treated patients with continuous and intermittent regimens  
102 of meglumine antimoniate (a form of pentavalent antimony used in South America) at  
103 the dose of 5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for over three decades [10-14]. More recently, guidelines  
104 for leishmaniasis have proposed that clinical trials are urgently warranted [17-19].  
105 Current body of evidence for low dose treatment is, notwithstanding, limited to two  
106 retrospective, two prospective cohort studies and case reports in this setting [8-16,20].  
107 We undertook a literature review and identified one small published trial [12] and  
108 another larger trial that addressed the issue, which unfortunately remains unpublished  
109 [21].

110 This study's premise is that treatment with a lower dose of antimony will avoid  
111 significant toxicity, provide less adverse events, but will nonetheless have non-inferior  
112 efficacy to the standard high dose treatment.

113

## 114 **Methods**

115

### 116 **DESIGN OVERVIEW**

117 Our phase III, randomized, controlled, single blind, non-inferiority trial  
118 compared 30 days of meglumine antimoniate at a dose of 5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day (low dose)  
119 with 20 days of meglumine antimoniate at a dose of 20 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day (high dose) up  
120 to a maximum of 1215 mg Sb<sup>5+</sup>/day in patients with American cutaneous leishmaniasis  
121 (ACL) in Rio de Janeiro State, Brazil, an endemic area of *Leishmania (Viannia)*  
122 *braziliensis* transmission. The same lot of meglumine antimoniate (Glucantime®,  
123 Sanofi-Aventis, Suzano, Brazil), number 604898, was used in all of the patients,  
124 provided by the Brazilian Ministry of Health.

125 Patients were consecutively recruited at the Evandro Chagas Research Institute  
126 (IPEC), Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), on a voluntary basis. Eligible patients  
127 were at least 13 years or older and had parasitological diagnosis of cutaneous

128 leishmaniasis by at least one of the following methods: direct examination (scraping or  
129 imprint), histopathology, culture, imunohistochemistry or polymerase chain reaction  
130 (PCR). Patients were excluded for any of the following reasons: prior exposure to  
131 meglumine antimoniate, lack of exposure in an endemic area of Rio de Janeiro State,  
132 women in reproductive age not using contraceptives, pregnancy, immunosuppressive  
133 therapy, treatment for tuberculosis or leprosy, presence of changes in baseline clinical  
134 values  $\geq$  grade 3 (severe), presence of changes in baseline laboratory values  $\geq$  Grade 2  
135 (moderate), presence of changes in baseline electrocardiographic (ECG) values  $\geq$  Grade  
136 2 or baseline corrected QT interval (QTc)  $>460$  ms.

137

### 138 **ETHICS STATEMENT**

139 We obtained written consent from each patient before enrollment. The study was  
140 done in accordance with the ethical principles of the Declaration of Helsinki and the  
141 guidelines from Brazilian National Health Council resolution 196/96 and 251/97 on  
142 research involving human subjects. Ethical approval was granted by the ethics  
143 committee at the Evandro Chagas Research Institute under number 0055.0.009.000-07.

144

### 145 **RANDOMIZATION AND MASKING**

146 Randomization was performed by a statistician with no clinical involvement in  
147 the trial using a random allocation sequence generated by Epi Info, version 6.04d, in  
148 blocks of size 12. Eligible patients were randomly allocated to receive one of the  
149 following regimens in a 1:1:1:1 ratio: continuous treatment with 20 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for  
150 20 days (high continuous dose), continuous treatment with 5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for 30  
151 days (low continuous dose), two series of treatment with 20 Sb<sup>5+</sup>/kg/day for 10 days  
152 interspersed with a 10-day interval (high intermittent dose), three series of treatment  
153 with 5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for 10 days interspersed with 10-day intervals (low intermittent  
154 dose). Although our aim was to evaluate the low dose and the high dose regimens, this  
155 study design allowed us to compare data from continuous and intermittent regimens.

156 The allocation sequence was concealed in sequentially numbered, opaque and  
157 sealed envelopes until interventions were assigned. Envelopes were kept by an  
158 independent pharmacist in a safe deposit box at the pharmacy of IPEC. To ensure  
159 allocation concealment, after the written informed consents were obtained from eligible  
160 patients, treatment was assigned by a second independent pharmacist or an independent  
161 clinician at the pharmacy of IPEC.

162 Patients were evaluated by clinicians and dermatologists in different rooms.  
163 Clinicians involved in patient's enrollment and adverse events management were  
164 masked to lesion assessment and group assignment. Dermatologists who assessed the  
165 lesions were masked to group assignment, clinical data and adverse events. None of the  
166 investigators, apart from the independent pharmacist, had access to treatment allocation.  
167 None of the investigators, apart from the trial statistician, had access to the  
168 randomization sequence. All clinical, dermatological, ECG and laboratory assessments  
169 were performed masked to the treatment allocation, which was not revealed until the  
170 database had been revealed at the end of the trial.

171

## 172 PROCEDURES

173 Patients underwent a detailed interview and health examination at enrollment,  
174 filled in a form containing clinical, socio-demographic information and assessment  
175 measures. Clinical assessment with enquiry about adverse events was done by a  
176 clinician every ten days for two months, then every month for two months. Samples for  
177 routine laboratory tests were taken at baseline and at each clinical assessment. Clinical,  
178 ECG and laboratory adverse events were graded using a toxicity grading scale adapted  
179 from the Division of AIDS Table for Grading of Severity of Adult and Pediatric  
180 Adverse Events [22]. Compliance was ascertained by a pharmacist through interviewing  
181 and counting of the remaining ampoules. Satisfactory compliance was defined as  
182 completion of prescribed treatment or as missing less than 10% of treatment within the  
183 specified duration. Lesions and ulcers were assessed and measured by dermatologists  
184 every ten days for two months, then every month for three months, then every three  
185 months until the end of one year and then every six months until the end of two years.  
186 The lesion and ulcer areas were determined using the ellipse formula:  $\text{area} = (\text{transverse diameter}/2) \times (\text{longitudinal diameter}/2) \times \pi$ . Standardized photographs were taken at  
187 baseline and at each evaluation and were also used by dermatologists to follow lesions  
188 over time. Lesions were followed for at least a year. Clinical cure was assessed at each  
189 visit and defined as the presence of the following criteria: complete healing of all  
190 lesions characterized by complete epithelization, absence of crusts, desquamation,  
191 infiltration and erythema; absence of local satellite lesions and lymphangitis; absence of  
192 relapse; no appearance of mucosal lesion. Definitive clinical cure was defined as  
193 clinical cure to the last follow-up until day 720. Clinical remission was defined as  
194 lesions characterized by complete epithelization and presence of superficial  
195

196 desquamation and/or erythema, which would not require retreatment in routine practice.  
197 Patients would receive retreatment if they had clinical worsening of the lesion,  
198 appearance of relapse or mucosal lesion at any time after initiation of therapy.  
199 Treatment failure was defined as indication of retreatment at any time.

200 The primary efficacy outcome was clinical cure at day 360 in the modified  
201 intention to treat (mITT) and per protocol (PP) population; pre-specified secondary  
202 outcomes were time to epithelization, time to clinical cure and safety (assessed by the  
203 incidence of clinical, laboratory and ECG adverse events). The primary efficacy  
204 outcome was compared with clinical cure at day 120, a response endpoint similar to the  
205 recommended by the Brazilian Ministry of Health [7]. A comparative analysis using  
206 intermediary endpoints (day 60-300) was also performed in the study.

207 The mITT analysis included all patients who received at least one dose of  
208 meglumine antimoniate. Missing data in mITT analysis were handled using the last-  
209 observation-carried-forward method pre-specified by the protocol. We compared this  
210 imputation method to complete case analysis and the expectation-maximization  
211 algorithm to test the robustness of our findings. The PP analysis was defined on a by-  
212 visit basis and included those mITT patients who met the entry criteria, received more  
213 than 90% of study medication and had an observed outcome for that visit time to  
214 clinical response.

215

## 216 STATISTICAL ANALYSIS

217 Our hypotheses for sample size calculations were based on findings of a  
218 previous study performed in Rio de Janeiro State, Brazil [13]. We assumed that the  
219 efficacy of treatment with 20 days of meglumine antimoniate at 20 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day  
220 would be 95% and the efficacy difference with 30 days of meglumine antimoniate at 5  
221 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day would not exceed 15%. The choice of the non-inferiority margin was  
222 based on discussion with the clinical investigators and the study statistician. We  
223 assumed that this margin was conservative taking into account that it was much lower  
224 than one half of the 95% confidence interval (CI) lower bound of the standard high dose  
225 pooled treatment effect in two historical placebo controlled studies of cutaneous  
226 leishmaniasis by *Leishmania (Viannia) braziliensis* using a random-effects model,  
227 which was 36.9% [23,24]. A sample size of 30 patients per group would be needed to  
228 determine non-inferiority with a power of 80%, an  $\alpha$  level of 5% (one-sided test) and an  
229 expected 10% loss to follow-up.

230           The study was designed and powered as a non-inferiority trial on the primary  
231 endpoint at Day 360. The analyses for the primary and secondary endpoints were on a  
232 mITT basis, supplemented by PP analysis of the primary endpoint. The hypothesis is  
233 presented as follows:  $H_0: P(\text{high}) - P(\text{low}) \geq \Delta$  Versus  $H_1: P(\text{high}) - P(\text{low}) < \Delta$ ; where  
234  $P(\text{high})$  is the cure rate observed in the high dose group,  $P(\text{low})$  is the cure rate observed  
235 in the low dose group and  $\Delta$  defines the margin of non-inferiority. Non-inferiority of  
236 low dose compared with high dose was concluded if the upper limit of the one-sided  
237 95% confidence interval (CI) for the risk difference between treatments did not exceed  
238 the pre-specified margin of 15%, equivalent to a one-sided test with an alpha value of  
239 0.05. Categorical data was compared using the  $\chi^2$  test or Fisher's exact test, as  
240 appropriate. McNemar's test was used to compare paired proportions. Continuous data  
241 with normal distribution was compared with the Student's t test; whereas the Mann-  
242 Whitney, the Kruskal Wallis or the Wilcoxon signed-rank tests were applied to  
243 variables with non-normal distribution, as appropriate. Kaplan-Meier curves were  
244 generated for time to epithelization and time to clinical cure, and differences in  
245 proportions were compared using log-rank test. Univariate logistic regression modeling  
246 was used to assess predictors of clinical cure. A regression model was then used,  
247 including all predictor variables regardless whether or not they were statistically  
248 significant in the univariate analysis (full model). Covariates that were not significant  
249 in the full model at  $p < 0.20$  were removed from the model and a reduced model was  
250 fitted with the dose group variable. For the logistic regression analysis, different  
251 combinations of stepwise, forward and backward methods were used to select the best  
252 model with a p-to-enter of 0.05, and a p-to-remove of 0.10. A likelihood ratio test was  
253 used to compare the deviance between the full and the reduced models. After fitting the  
254 logistic model, a ROC curve for the predicted models was plotted using the lroc post  
255 estimation command in Stata. Furthermore, a decision tree was constructed using Chi-  
256 square automatic interaction detector (CHAID) decision algorithm to explore predictors  
257 that could effectively differentiated clinical cure from therapeutic failure with  $\alpha$  to split  
258 and  $\alpha$  to merge of 0.05 and compare with predictors identified by logistic regression.  
259 Statistical significance of the observed differences was considered at a probability of  
260 type 1 error less than 0.05. All statistical analysis was performed using SPSS version  
261 19.0 (IBM Corp, Armonk, NY, USA), Stata version 12.0 (Stata Corp, College Station,  
262 TX, USA) and StatXact-8 (Cytel Inc, Cambridge, MA, USA). The study is registered in  
263 ClinicalTrials.gov, number NCT01301924.

264

## 265 **ROLE OF THE FUNDING SOURCE**

266 The authors have declared that no competing interests exist. No commercial  
267 entity had any role in the study. This study is supported in part with grants approved by  
268 the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq),  
269 Carlos Chagas Filho Foundation for Research Support of Rio de Janeiro State (Faperj)  
270 and the Brazilian Ministry of Health. The meglumine antimoniate ampoules were  
271 provided by the Brazilian Ministry of Health. The funders had no role in study design,  
272 data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. All  
273 authors made the decision to submit the report for publication and guarantee the  
274 veracity and completeness of the data and their analyses.

275

## 276 **Results**

277

278 Between October 2008 and December 2011, 68 patients were screened for the  
279 study; of whom, 60 with parasitologically confirmed diagnosis of ACL were enrolled,  
280 30 were randomly allocated to the high dose group and 30 were allocated to the low  
281 dose group (Figure 1). Table 1 shows the baseline characteristics of the mITT  
282 population. Patients of both groups did not differ by age, gender, race or place of  
283 geographical residence. There was also no difference in duration of illness, number of  
284 lesions, type of lesion, location in lower limbs, hypertension, diabetes, smoking, alcohol  
285 drinking, ELISA positivity, Montenegro test positivity or intestinal parasitosis. Patients  
286 allocated to low dose regimen tended to have higher total lesion area and ulceration area  
287 on baseline, although the difference was not statistically significant ( $p > 0.05$ ). No  
288 serious protocol violation was observed in the study. Although one patient on low dose  
289 and four patients on high dose group were lost to follow-up, there were no significant  
290 differences in baseline characteristics between the modified intention-to-treat and per-  
291 protocol population.

292 Figure 2 shows that both treatment regimens resulted in very low clinical cure  
293 rates at shorter-term follow-up period, which increased over time. McNemar's test  
294 showed a highly significant increase in the proportion of patients cured over time, 24 of  
295 35 (68.6%) patients that would be classified as failure at day 120 were clinically cured  
296 of cutaneous leishmaniasis at day 360 with no additional intervention ( $p < 0.001$ ).



297 In mITT analysis, 23 of 30 (76.7%) given high dose had clinical cure at day 360  
298 compared with 22 of 30 (73.3%) patients given low dose (risk difference 3.3%, one  
299 sided 95% CI -15.2 to 21.9%). In PP analysis, 22 of 26 (84.6%) given high dose had  
300 clinical cure at day 360 compared with 22 of 29 (75.9%) patients given low dose (risk  
301 difference 8.8%, one sided 95% CI -9.2% to 26.7%) (Table 2). The difference remained  
302 non significant for all the other intermediary endpoints (day 60, day 120, day 180, day  
303 240, day 300). The 90% CI upper limit of risk difference included both the non-  
304 inferiority margin and the zero difference line and was not significant in the non-  
305 inferiority analysis both in mITT and PP populations (Figure 3). These findings were  
306 maintained under the complete case and the expectation-maximization imputation  
307 analysis.

308 Patients were followed-up for a mean time of 789.9 (95% CI, 702.3-877.6) days.  
309 Compliance was almost 100% of patients in both groups. Five patients not meeting the  
310 primary endpoint at day 360 were clinically cured at day 413-583 with no need of  
311 retreatment. Relapse occurred in one patient in low dose group, who was later lost to  
312 follow-up. All other treatment failures (n= 6) were successfully treated with two  
313 intralesional injections of meglumine antimoniate (n=3) or two series of treatment with  
314 5 mg/kg/day for 10 days interspersed with 10-day interval (n=1), with the exception of  
315 two patients who cured with liposomal amphotericin B. No mucosal involvement was  
316 documented in any patient during the study period.

317 Comparison was made between clinical remission at day 360 and definitive  
318 clinical cure, which provided a kappa of 0.930 (p< 0.001).

319 Results of the univariate and multivariate analysis are shown in table 3. Age  $\geq$   
320 50 years, female gender, absence of alcoholism, main lesion in lower limbs and duration  
321 of illness  $\geq$  12 weeks were identified as possible predictors of clinical cure in the  
322 univariate testing at p<0.20. Only a duration of illness  $\geq$  12 weeks (p=0.04) and  
323 presence of the main lesion in lower limbs (p=0.03) remained statistically significant in  
324 the final model (table 3). Duration of illness  $\geq$  12 weeks was associated with an odds  
325 ratio of clinical cure of 11.2 (95% CI 1.30-96.77; P= 0.03), and presence of the main  
326 lesion in lower limbs was associated with an odds ratio of 4.02 (95% CI 1.06-15.24). In  
327 this case, duration of illness  $\geq$  12 weeks translated into an 11 times higher chance of  
328 cure, even when other factors were controlled. Patients with the main lesion located in  
329 lower limbs were 4 times more likely to cure when compared with those with the main  
330 lesion elsewhere. Age equal or more than 50 years, female gender, and alcoholism were

331 not included in the final regression model. The Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test  
332 suggested that the model was well fitted ( $p = 0.165$ ). The pseudo  $R^2$  for the final model  
333 was 40.7% (McKelvey and Zavoina). The model demonstrated good discrimination,  
334 with an AUROC (area under the receiver operating characteristic curve) of 0.82 (95%  
335 CI 0.69-0.95). Treatment dose group was not a significant predictor of clinical cure in  
336 the univariate analysis or in any of the regression models. Using the regression tree  
337 modeling, main lesion located in lower limbs ( $p=0.01$ ) and duration of illness  $\geq 12$   
338 weeks ( $p=0.02$ ) were again selected as the most influential factors in predicting clinical  
339 cure.

340         Secondary outcome measures are shown in Table 2. The mean time to cure was  
341 196.3 days in the low dose group and 207.4 days in the high dose group. The Kaplan  
342 Meier curves for epithelization and clinical cure are shown in Figure 4. Dose group was  
343 not associated with faster epithelization ( $p = 0.58$ , log-rank) or faster clinical cure ( $p=$   
344  $0.58$ , log-rank). The degree of total lesion and ulcer diameter reduction at day 30 was  
345 also similar between the groups. Adverse events (AE) were common in both groups but  
346 were mostly mild to moderate, self-limiting or resolved with supportive care or  
347 temporary interruption of the drug. The most commonly reported clinical adverse  
348 events included arthralgia (55.0%), headache (53.3%), asthenia (48.3%), local reaction  
349 (41.7%), anorexia (35.0%) and myalgia (33.3%). Elevated levels of pancreatic enzymes  
350 (58.3%), liver enzymes (38.3%) and neutropenia (11.7%) were the most frequent  
351 laboratory adverse events. Only one patient, on the high dose regimen, had to be  
352 discontinued from the study medication due to AE (hyperamylasemia grade 2 and  
353 hyperlipasemia grade 3) and died two weeks later from probable bacterial sepsis in  
354 another hospital. Although it was not possible to attribute this patient's death to the high  
355 dose treatment, this possibility also could not be ruled out with certainty. No death or  
356 permanent discontinuation occurred in the low dose group. Figure 5 illustrates the  
357 frequency and severity of adverse events observed during the study. Dose group was  
358 not significantly associated with higher frequency of clinical, laboratory or ECG AEs,  
359 however patients on the high dose regimen were more likely to experience more severe  
360 clinical and laboratory AEs (grade 2 to 4) than those on the low dose regimen (clinical  
361 AE,  $p=0.04$ ; laboratory AE,  $p=0.01$ ).

362

## Discussion

Since the mid-1980s, low dose regimen has been employed at our centre, in Rio de Janeiro, to treat patients with cutaneous and mucosal leishmaniasis [10-13,15,16,20]. The rationale behind it is intuitively attractive and relies on its expected non-inferior efficacy, less toxicity, improved compliance and reduced costs [11,21].

Although multiple studies have suggested that low dose regimen is as effective as the standard high dose regimen, evidence is scarce and based mainly on case reports and observational studies [8-14]. To our knowledge, this is the second published randomized trial to assess the efficacy of low dose regimen and compare it with the high dose regimen in the treatment of ACL [12].

In our study, non-inferiority of low dose regimen was not established for both the pre-specified primary outcomes of mITT and PP populations, as compared with the high dose regimen, since the upper boundary of the 90% confidence interval (mITT 21.9%, PP 26.7%) was higher than the predefined margin of 15% for both the primary outcomes (mITT  $p=0.15$ , PP  $p=0.28$ ). Differences in secondary outcomes were not significant between the two arms, by exception of severity of clinical ( $p=0.04$ ) and laboratory ( $p=0.01$ ) adverse events which was significantly higher in the high dose regimen, and no mucosal involvement was detected during the study period. A careful review of the clinical and electrocardiographic baseline data did not reveal any significant differences in baseline characteristics, number of lesions, comorbidity or any other parameter that might have adversely affected outcome disproportionately.

A previous smaller randomized study performed at our center reported similar responses between the high dose and the low dose regimens, however it was not powered to detect differences in clinical endpoints [12]. A larger non-published randomized non-inferiority trial comparing low dose with standard high dose therapy was carried out in an endemic area of Bahia, Brazil [21]. Although it would be difficult to compare our findings with those of that study as there were significant differences in terms of dose, length of treatment and definitions of cure, it also had insufficient power and failed to demonstrate non-inferiority of low dose treatment (upper boundary of 95% CI: mITT 16.2%, PP 20.3% > non-inferiority margin of 15%). Interestingly, higher rates and higher severity of adverse events were also found in the standard high dose group in that study as compared with the low dose group and no mucosal involvement was found in either group after two years of follow up.

397 Another noteworthy finding in our study is that a highly significant proportion of  
398 patients that does not heal in shorter term follow up times (e.g. day 120, a parameter  
399 that is used to determine cure or failure in most clinical trials and guidelines) [7,18,25]  
400 is in fact clinically cured after 360 days with no additional intervention. Our findings  
401 parallels a recommendation from a recent guideline which sets day 180-360 as an ideal  
402 cutoff time for definite cure [17]. Furthermore, we compared an outcome measure used  
403 in our routine practice, clinical remission at day 360, with definitive clinical cure and  
404 found that the first criteria is indeed highly consistent to be used as an outcome measure  
405 in pharmacological studies in ACL. The fact that lesions continued to heal in five  
406 patients even after 360 days with no need of retreatment shows that, in some cases, it is  
407 more reasonable to monitor the continuous progression to cure than to set a specific  
408 deadline for cure and re-expose the patient needlessly to a toxic treatment. This question  
409 becomes even more relevant when it is recognized that treatment decision in cutaneous  
410 leishmaniasis should not induce life-threatening complications and is based firstly on  
411 the risk–benefit ratio of the intervention for each patient [6]. Although these results are  
412 not the main findings of our trial, it is interesting to speculate if clinical criteria  
413 commonly used to assess outcome in most studies and guidelines should be changed in  
414 the future [7,18,25].

415 In our trial, duration of illness  $\geq 12$  weeks and location of the main lesion in  
416 lower limbs were both shown to be independent predictors for clinical cure in the  
417 univariate analysis and in the final logistic regression model. A similar finding  
418 regarding the prognostic significance of a longer duration of illness was obtained in a  
419 case control study at our centre [26]. Studies in an endemic area of Bahia, Brazil,  
420 demonstrated that high rates of clinical failure were associated with early therapy for  
421 cutaneous leishmaniasis [27,28]. Our finding that lesions in lower limbs healed more  
422 slowly but in a greater proportion, when compared to lesions located elsewhere, is  
423 consistent with another study performed in Bahia, Brazil [21]. Previous studies  
424 performed at our center also showed that lesions of cutaneous leishmaniasis in lower  
425 limbs required a longer time to heal [10-13,16].

426 Our trial, although small, holds a very representative sample of patients with  
427 cutaneous leishmaniasis, comprising approximately 90% of ATL cases in the city of Rio  
428 de Janeiro and 50% of the ATL cases in the state of Rio de Janeiro [29,30]. Our  
429 institution is a tertiary referral centre for leishmaniasis, but most patients come  
430 spontaneously with a non-diagnosed lesion. Some limitations should nonetheless be

431 kept in mind when interpreting the results. The estimated success rate was  
432 overestimated; as a result, the trial was not sufficiently powered to demonstrate non-  
433 inferiority of low dose regimen. In non-inferiority trials, it is understood that a low  
434 powered study produces large confidence intervals with a greater likelihood of crossing  
435 the non-inferiority margin ( $\Delta$ ) and resulting in an erroneous rejection of a truly non-  
436 inferior treatment [31,32]. A recalculation of the sample size projection based on the  
437 primary endpoint indicated that 116 patients would be needed in each group to  
438 adequately power the study to detect non-inferiority. A long-term extension of this trial  
439 is ongoing and is expected to be completed in July 2016. Another limitation is that  
440 patients with signs of severe comorbid conditions, contraindication to antimony and  
441 children were not eligible to enrollment. These could have introduced a bias in the  
442 selection of patients. A previous study reported that *Leishmania (Viannia) braziliensis*  
443 strains in Rio de Janeiro State are highly susceptible in vitro to meglumine antimoniate  
444 [33], which could also limit the generalizability of our findings.

445 Overall, our study raises the intriguing question about the optimal cutoff time to  
446 define clinical cure in cutaneous leishmaniasis and suggests the possibility to use low  
447 dose regimen of meglumine antimoniate as an alternative to the standard high dose  
448 regimen. It has long been recognized that healing of cutaneous lesions and prevention of  
449 later mucosal involvement are the two goals that must be achieved in the treatment of  
450 leishmaniasis [10,11]. The WHO recommends that in patients with mild disease or with  
451 comorbid conditions, a safer treatment should be preferred, even if the level of evidence  
452 for efficacy is weak [6]. Although non-inferiority of the low dose regimen was not  
453 shown in this trial, given the safety and tolerability of low dose regimen and the absence  
454 of later mucosal involvement observed in this trial and in previous studies [13,21], low  
455 dose regimen could be regarded as an acceptable alternative in patients unable to  
456 tolerate or who have a contraindication to the standard high dose treatment [20].

457

## 458 **Acknowledgments**

459

460 We wish to thank all the study participants, their relatives and the following  
461 research staff: Michele Aparecida Ferreira Moreira de Oliveira, Fatima Peres Lima  
462 Dantas, Monique Reis da Fonseca, Tânia Salgado de Sousa Torraca, Frederico Pereira  
463 Bom Braga, Benivaldo Ramos Ferreira Terceiro, Ana Cristina da Costa Martins,

464 Mariana Reuter Palmeiro, Leonardo Pereira Quintella, Marli Blois da Silva Moreira and  
 465 Rosana Blois da Silva Moreira. Finally, we wish to warmly thank the commitment and  
 466 dedication of all the rural and remote health professionals from the state of Rio de  
 467 Janeiro.

## 468 **Author Contributions**

469

470 Conceived and designed the experiments: MIFP SJB SRLP AOS. Performed the  
 471 experiments: MNS MIFP MRL MMS ECFV MNR GPLS CMVR. Analyzed the data:  
 472 MNS SJB. Contributed reagents/materials/analysis tools: AF MFM. Wrote the paper:  
 473 MNS SJB MIFP AOS.

## 474 **References**

475

- 476 1. Kassi M, Kassi M, Afghan AK, Rehman R, Kasi PM (2008) Marring leishmaniasis: the  
 477 stigmatization and the impact of cutaneous leishmaniasis in Pakistan and Afghanistan.  
 478 PLoS Negl Trop Dis 2: e259.
- 479 2. Alvar J, Yactayo S, Bern C (2006) Leishmaniasis and poverty. Trends Parasitol 22: 552-557.
- 480 3. Lainson R (2010) The Neotropical Leishmania species: a brief historical review of their  
 481 discovery, ecology and taxonomy. Revista Pan-Amazônica de Saúde 1: 13-32.
- 482 4. Vianna G. Tratamento da leishmaniose tegumentar por injeções intravenosas de tártaro  
 483 emético; 1912; São Paulo, Brasil. pp. 426-428.
- 484 5. Reithinger R, Dujardin JC, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, et al. (2007) Cutaneous  
 485 leishmaniasis. Lancet Infect Dis 7: 581-596.
- 486 6. World Health Organization (2010) Control of the Leishmaniasis: report of a meeting of the  
 487 WHO Expert Committee. Geneva, Switzerland: World Health Organization. xii-xiii, 1-  
 488 186, back cover p.
- 489 7. Brazil, Ministry of Health (2010) Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar  
 490 Americana. Brasília, DF: Editora do Ministério da Saúde. 180 p.
- 491 8. Amato VS, de Oliveira LS, Silva AC, Machado FR, Amato JG, et al. (1998) [A case of  
 492 mucocutaneous leishmaniasis treated with success with a low dose of pentavalent  
 493 antimonial]. Rev Soc Bras Med Trop 31: 221-224.
- 494 9. Costa JM, Marsden PD (1988) Low dose glucantime therapy in Leishmania viannia  
 495 braziliensis (Lvb) infections. Rev Soc Bras Med Trop 21: 85-86.
- 496 10. Oliveira Neto MP, Schubach A, Araujo ML, Pirmez C (1996) High and low doses of antimony  
 497 (Sbv) in American cutaneous leishmaniasis. A five years follow-up study of 15 patients.  
 498 Mem Inst Oswaldo Cruz 91: 207-209.
- 499 11. Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, Goncalves-Costa SC, Pirmez C (1997) A low-dose  
 500 antimony treatment in 159 patients with American cutaneous leishmaniasis: extensive  
 501 follow-up studies (up to 10 years). Am J Trop Med Hyg 57: 651-655.
- 502 12. Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, Goncalves-Costa SC, Pirmez C (1997) Treatment  
 503 of American cutaneous leishmaniasis: a comparison between low dosage (5  
 504 mg/kg/day) and high dosage (20 mg/kg/day) antimony regimens. Pathol Biol (Paris) 45:  
 505 496-499.

- 506 13. Schubach Ade O, Marzochi KB, Moreira JS, Schubach TM, Araujo ML, et al. (2005)  
507 Retrospective study of 151 patients with cutaneous leishmaniasis treated with  
508 meglumine antimoniate. *Rev Soc Bras Med Trop* 38: 213-217.
- 509 14. Oliveira-Neto MPd, Mattos MdS (2006) Successful therapeutic response of resistant cases  
510 of mucocutaneous leishmaniasis to a very low dose of antimony. *Revista da Sociedade*  
511 *Brasileira de Medicina Tropical* 39: 376-378.
- 512 15. Oliveira-Neto MP, Mattos M, Pirmez C, Fernandes O, Goncalves-Costa SC, et al. (2000)  
513 Mucosal leishmaniasis ("espundia") responsive to low dose of N-methyl glucamine  
514 (Glucantime) in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 42: 321-325.
- 515 16. Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, da Costa SC, Pirmez C (1997) Intralesional  
516 therapy of American cutaneous leishmaniasis with pentavalent antimony in Rio de  
517 Janeiro, Brazil--an area of *Leishmania* (V.) *braziliensis* transmission. *Int J Dermatol* 36:  
518 463-468.
- 519 17. Olliaro P, Vaillant M, Arana B, Grogl M, Modabber F, et al. (2013) Methodology of clinical  
520 trials aimed at assessing interventions for cutaneous leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis*  
521 7: e2130.
- 522 18. Gonzalez U, Pinart M, Reveiz L, Rengifo-Pardo M, Tweed J, et al. (2010) Designing and  
523 reporting clinical trials on treatments for cutaneous leishmaniasis. *Clin Infect Dis* 51:  
524 409-419.
- 525 19. Reveiz L, Maia-Elkhoury AN, Nicholls RS, Sierra Romero GA, Yadon ZE (2013) Interventions  
526 for american cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: a systematic review  
527 update. *PLoS One* 8: e61843.
- 528 20. de Camargo Ferreira EVE, de Oliveira Schubach A, Valette-Rosalino CM, de Souza Coutinho  
529 R, Conceicao-Silva F, et al. (2010) American tegumentary leishmaniasis in older adults:  
530 44 cases treated with an intermittent low-dose antimonial schedule in Rio de Janeiro,  
531 Brazil. *J Am Geriatr Soc* 58: 614-616.
- 532 21. Ampuero J (2009) Efficacy and safety of low-dose pentavalent antimonial for treatment of  
533 cutaneous leishmaniasis by *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* in Bahia, Brazil: a  
534 randomized clinical trial. Brasília, DF: Universidade de Brasília. 260 p.
- 535 22. Division of AIDS, National Institute of Allergy Infectious Diseases, National Institutes of  
536 Health (2004) Division of AIDS table for grading the severity of adult and pediatric  
537 adverse events. Version 1.0 ed. Available: [http://rsc.tech-res.com/Document/safetyandpharmacovigilance/Table\\_for\\_Grading\\_Severity\\_of\\_Adult\\_Pediatric\\_Adverse\\_Events.pdf](http://rsc.tech-res.com/Document/safetyandpharmacovigilance/Table_for_Grading_Severity_of_Adult_Pediatric_Adverse_Events.pdf). Accessed 15 December 2012.
- 540 23. Navin TR, Arana BA, Arana FE, de Merida AM, Castillo AL, et al. (1990) Placebo-controlled  
541 clinical trial of meglumine antimonate (glucantime) vs. localized controlled heat in the  
542 treatment of cutaneous leishmaniasis in Guatemala. *Am J Trop Med Hyg* 42: 43-50.
- 543 24. Navin TR, Arana BA, Arana FE, Berman JD, Chajon JF (1992) Placebo-controlled clinical trial  
544 of sodium stibogluconate (Pentostam) versus ketoconazole for treating cutaneous  
545 leishmaniasis in Guatemala. *J Infect Dis* 165: 528-534.
- 546 25. Gonzalez U, Pinart M, Rengifo-Pardo M, Macaya A, Alvar J, et al. (2009) Interventions for  
547 American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Cochrane Database Syst Rev*:  
548 CD004834.
- 549 26. Antonio LF (2012) Resposta à Intradermorreação de Montenegro e ocorrência de falha  
550 terapêutica na forma cutânea da leishmaniose tegumentar americana: um estudo de  
551 caso controle. Rio de Janeiro, RJ: Fundação Oswaldo Cruz. 75 p.
- 552 27. Machado P, Araujo C, Da Silva AT, Almeida RP, D'Oliveira Jr A, et al. (2002) Failure of early  
553 treatment of cutaneous leishmaniasis in preventing the development of an ulcer. *Clin*  
554 *Infect Dis* 34: E69-73.
- 555 28. Unger A, O'Neal S, Machado PR, Guimaraes LH, Morgan DJ, et al. (2009) Association of  
556 treatment of American cutaneous leishmaniasis prior to ulcer development with high  
557 rate of failure in northeastern Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 80: 574-579.

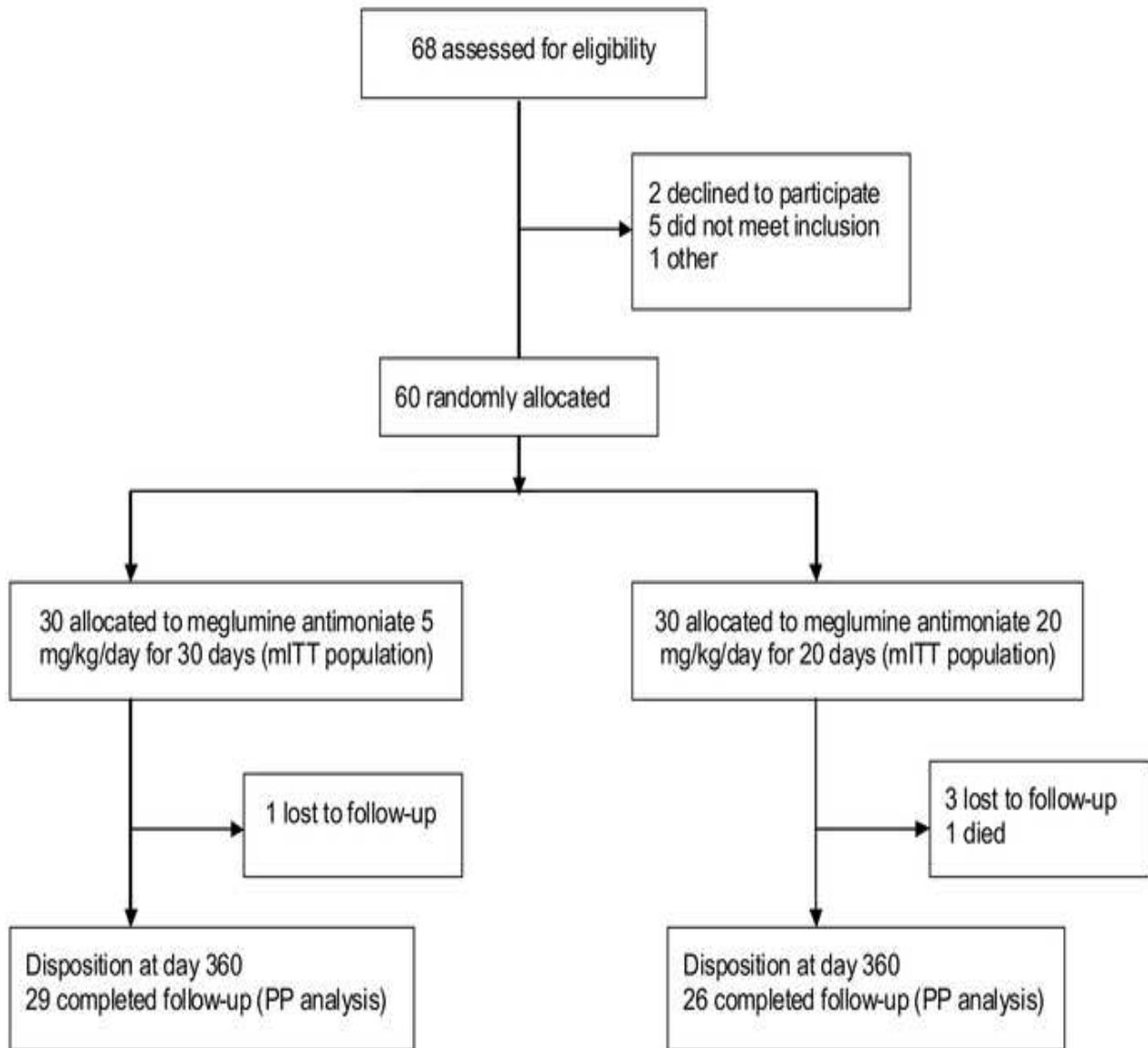
- 558 29. Rio de Janeiro, Municipal Secretary of Health (2012) Leishmaniose tegumentar americana:  
559 investigação SINAN-NET 10.05.2012. In: Sanitary Dermatology Management, editor.  
560 Rio de Janeiro, RJ.
- 561 30. Brazil, Ministry of Health (2013) Indicadores e dados básicos: taxa de incidência da  
562 leishmaniose tegumentar americana. Available:  
563 <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/tabnet?sinannet/lta/bases/ltabrnet.def>  
564 . Accessed 5 June 2013.
- 565 31. Head SJ (2012) RE: Power in non-inferiority trials. Eur Heart J. Available:  
566 <http://eurheartj.oxfordjournals.org/content/33/11/1318/reply>. Accessed 8 May 2013.
- 567 32. Head SJ, Kaul S, Bogers AJ, Kappetein AP (2012) Non-inferiority study design: lessons to be  
568 learned from cardiovascular trials. Eur Heart J 33: 1318-1324.
- 569 33. Azeredo-Coutinho RB, Mendonca SC, Callahan H, Portal AC, Max G (2007) Sensitivity of  
570 *Leishmania braziliensis* promastigotes to meglumine antimoniate (glucantime) is  
571 higher than that of other *Leishmania* species and correlates with response to therapy  
572 in American tegumentary leishmaniasis. J Parasitol 93: 688-693.

573



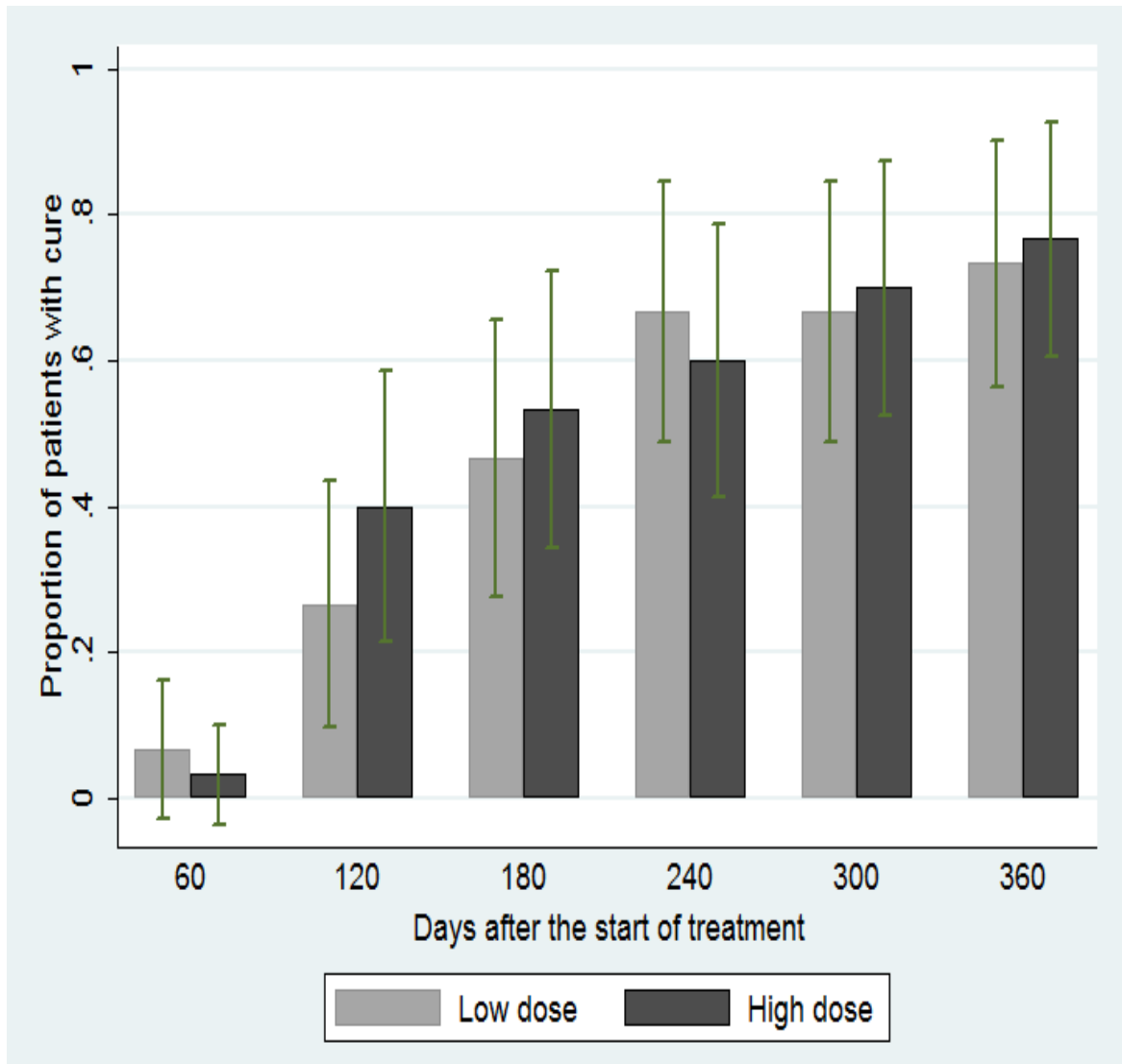
574

575 **Figure 1. Trial flow diagram.** mITT stands for modified intention-to-treat, PP stands for per  
576 protocol.  
577  
578



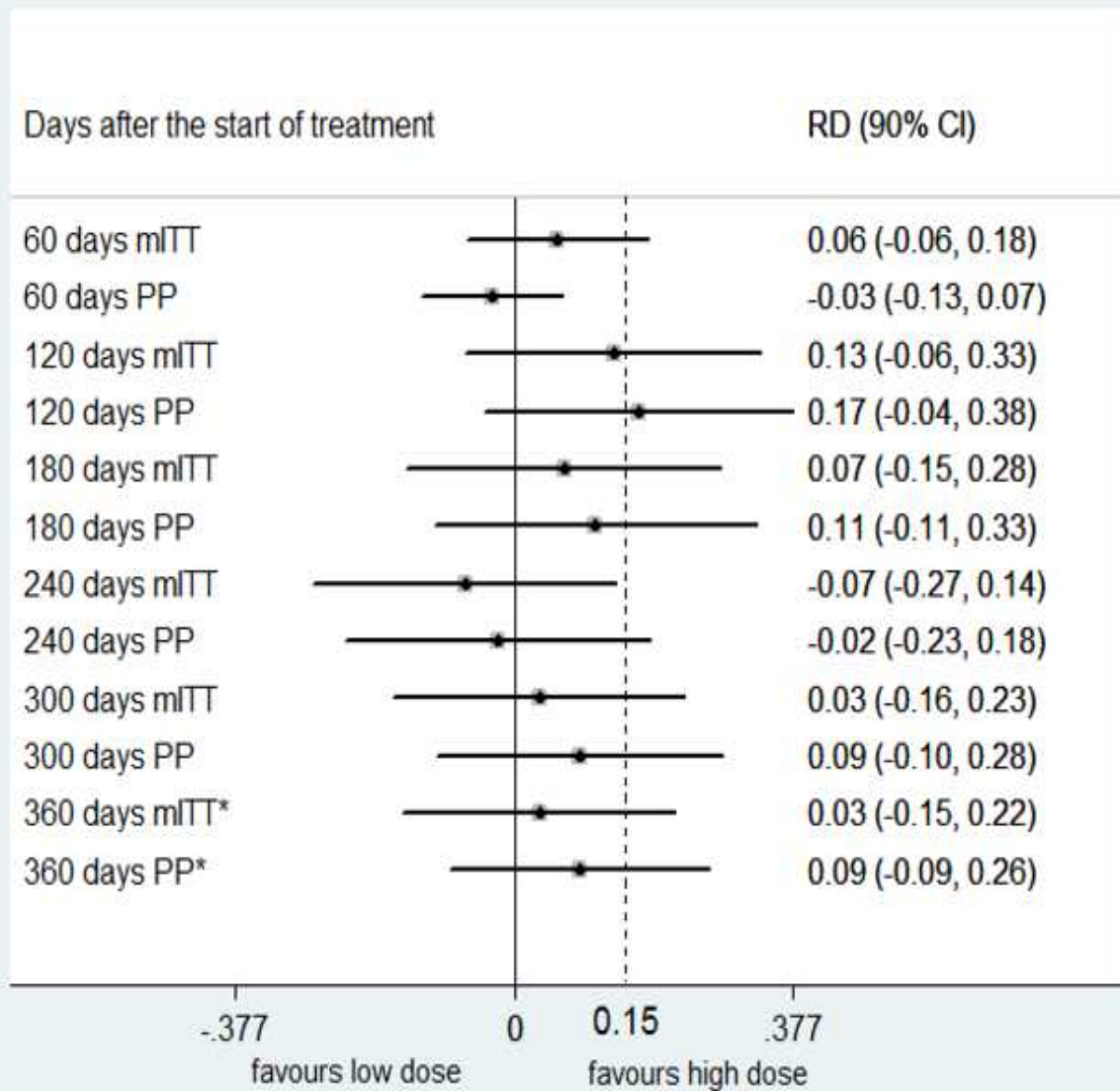
579  
580  
581  
582  
583  
584  
585  
586  
587  
588  
589  
590  
591

**Figure 2. Proportion of patients that achieved clinical cure criteria after the start of treatment.** The 95% confidence interval across subjects is shown as an error bar. High dose stands for 20 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for 20 days, low dose stands for 5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for 30 days.



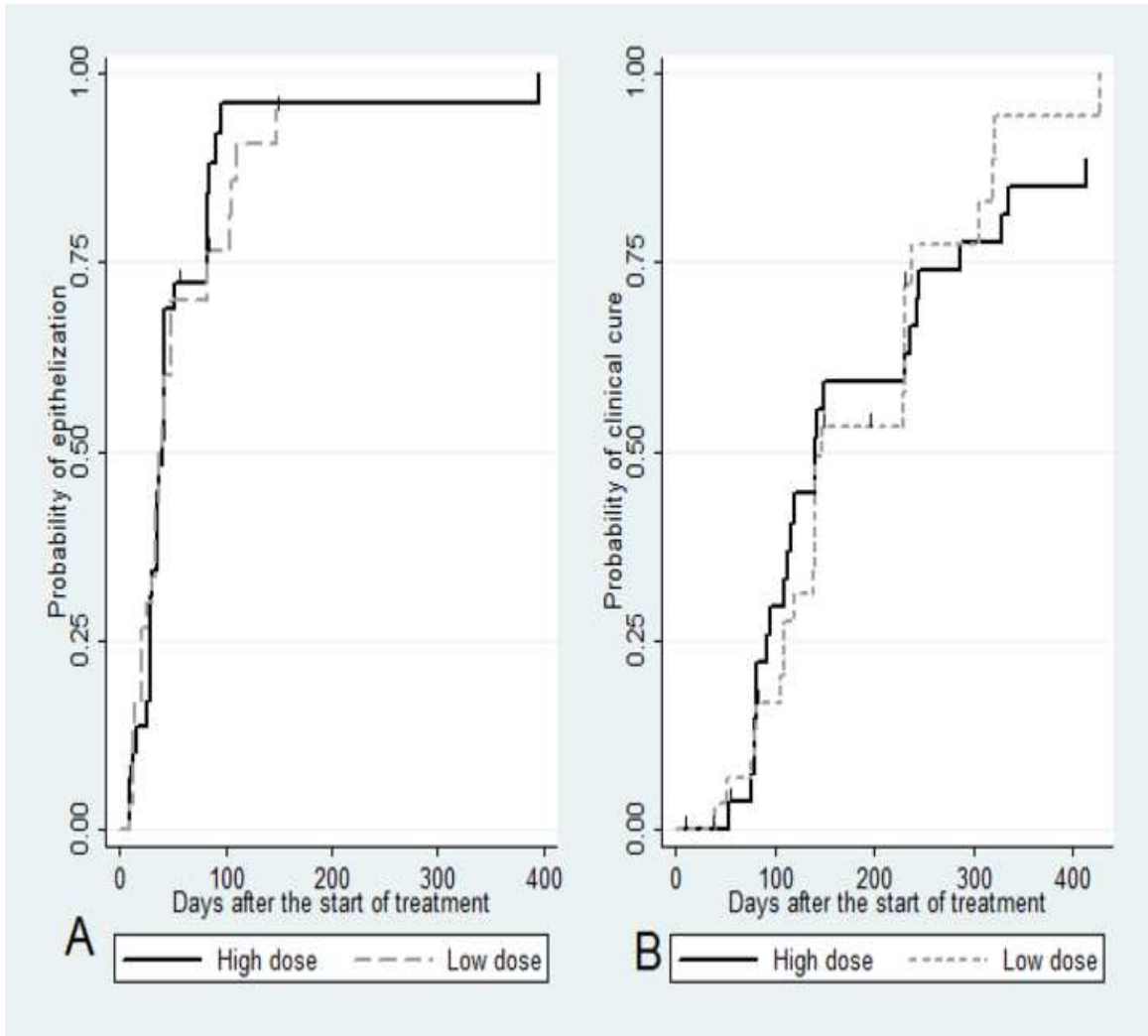
592  
593  
594  
595  
596  
597  
598  
599  
600

**Figure 3. Non-inferiority analysis in modified intention-to-treat (mITT) and per-protocol (PP) populations.** Low dose stands for 5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for 30 days, high dose stands for 20 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for 20 days. RD represents risk difference. One asterisk shows the primary efficacy endpoint of the study. Dashed line represents the non-inferiority margin of 15%.



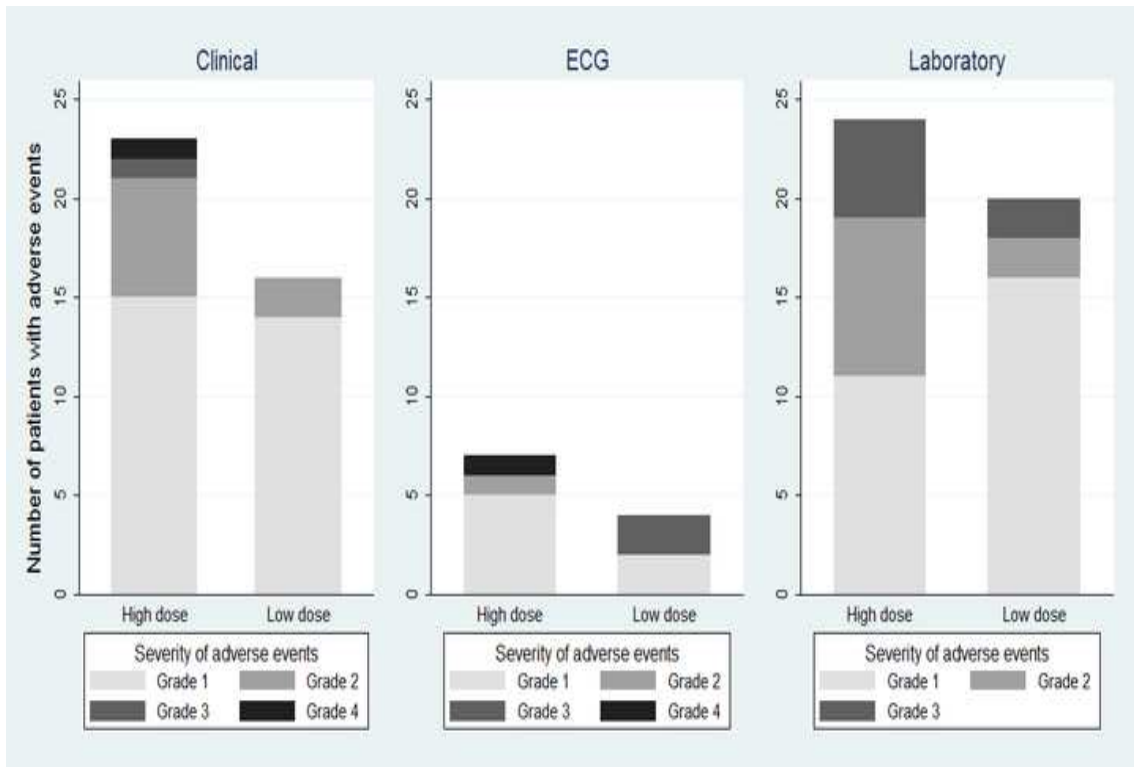
601  
602  
603  
604  
605  
606  
607  
608  
609  
610  
611  
612  
613

**Figure 4. Kaplan Meier curves for epithelization (A) and clinical cure (B) according to antimony dose group.** High dose stands for 20 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for 20 days, low dose stands for 5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for 30 days.



614  
 615  
 616  
 617  
 618  
 619  
 620

**Figure 5. Frequency of clinical, electrocardiographic (ECG) and laboratory adverse events according to antimony dose group.** High dose stands for 20 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for 20 days, low dose stands for 5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for 30 days. Clinical, ECG and laboratory adverse events are graded from 0 (none) to 4 (potentially life threatening).



621  
622  
623  
624  
625  
626  
627  
628  
629

**Table 1. Baseline characteristics of the modified intention-to-treat (mITT) population according to antimony dose group.** Plus-minus values are means  $\pm$  standard deviation (SD). Low dose stands for 5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for 30 days, high dose stands for 20 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for 20 days. Differences between dose groups are not significant (P > 0.05).

Variable	Low dose (N=30)	High dose (N=30)
Age - mean year	38.6 $\pm$ 15.7	39.2 $\pm$ 16.7
Gender - n (%)		
Male	20 (66.7)	20 (66.7)
Female	10 (33.3)	10 (33.3)
Race or ethnic group - n (%)		
White	12 (40.0)	14 (46.7)
Black	5 (16.7)	3 (10.0)
Mulatto	13 (43.3)	13 (43.3)
Geographic region - n (%)		
Metropolitan of Rio de Janeiro	20 (66.7)	18 (60)
Coastal lowlands	4 (13.3)	4 (13.3)
Central Fluminense	2 (6.7)	3 (10)
North Fluminense	3 (10)	4 (13.3)
South Fluminense	1 (3.3)	1 (3.3)
Weight - kg	72.7 $\pm$ 14.5	71.4 $\pm$ 14.8
Duration of illness - weeks	16.2 $\pm$ 12.5	16.6 $\pm$ 14.5
No. of lesions	1.8 $\pm$ 1.3	1.4 $\pm$ 1.1
Type of lesion - n/N (%)		
Ulcer	47/55 (85.5)	38/44 (86.4)
Infiltrative plaque	2/55 (3.6)	3/44 (6.8)
Verrucous vegetation	2/55 (3.6)	1/44 (2.3)
Papule	3/55 (5.5)	0/44 (0.0)
Scarring	1/55 (1.8)	3/44 (4.5)
Location - n/N (%)		
Face	7/55 (12.7)	14/44 (31.8)
Torso	10/55 (18.2)	1/44 (2.3)
Upper limbs	20/55 (36.4)	14/44 (31.8)
Lower limbs	18/55 (32.7)	15/44 (34.1)
Concomitant-distant lesions	7 (23.3)	4 (13.3)
Lymph node involvement	6 (20.0)	8 (26.7)
Risk factors - n (%)		
Hypertension	11 (36.7)	10 (33.3)
Diabetes	1 (3.3)	4 (13.3)
Alcoholism	10 (33.3)	13 (43.3)
Smoking	10 (33.3)	11 (36.7)
Intestinal parasites	4 (13.3)	4 (13.3)
ELISA median optic density : cut-off ratio	2.5 (1.2)	2.6 (1.3)
Montenegro skin test		
Positivity	24 (88.9)	23 (95.8)
Median (range) - mm	14.2 $\pm$ 8.7	16.7 $\pm$ 8.0

630

631 **Table 2. Response to treatment and adverse events according to antimony dose group.**632 Low dose stands for 5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for 30 days, high dose stands for 20 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for

633 | 20 days.

	Low dose n/N (%)	High dose n/N (%)	Risk difference %	Upper limit 90% CI	p-value
Intention to treat	22/30 (73.3%)	23/30 (76.7%)	3.3%	21.9%	
Per protocol	22/29 (75.9%)	22/26 (84.6%)	9.2%	26.7%	
Time to epithelization – days	54.9	58.7			0.58
Time to clinical cure – days	196.3	207.4			0.58
Day 0 : day 30 total lesion area ratio	0.827	0.815			0.85
Day 0 : day 30 total ulcer area ratio	0.747	0.842			0.72
Clinical adverse events	16/30 (53.3%)	23/30 (76.7%)			0.06
Laboratory adverse events	20/30 (66.7%)	24/30 (80.0%)			0.24
Eletrocardiographic adverse events	4/30 (13.3%)	7/30 (23.3%)			0.32

634

635

636

637

638

639

640

641

642

643

644

645 |

646  
647  
648  
649  
650  
651

**Table 3. Univariate and multivariate analysis of prognostic factors for clinical cure at day 360.** Low dose stands for 5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for 30 days, high dose stands for 20 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/day for 20 days. Q2 stands for median, Q3 stands for upper quartile.

	Univariate Analysis		Multivariate Analysis	
	Odds Ratio (95% CI)	p-value	Adjusted Odds Ratio (95% CI)	p-value
Low dose vs. high dose	0.84 (0.26-2.70)	0.77		
Intermittent vs. continuous regimen	0.58 (0.18-1.91)	0.35		
Age ≥ 50 yr (≈Q3)	2.00 (0.49-8.18)	0.16		
Female sex vs male sex	4.33 (0.87-21.54)	0.06		
White vs. non-white race	0.84 (0.26-2.70)	0.76		
Metropolitan vs. non-Metropolitan	0.82 (0.24-2.82)	0.76		
Weight ≥ 70 kg (≈Q2)	0.50 (0.14-1.77)	0.28		
Alcohol use vs. no use	0.30 (0.09-1.01)	0.05		
Smoking vs. no smoking	1.67 (0.46-6.09)	0.43		
Diabetes	1.37 (0.14-13.27)	0.79		
Hypertension	1.67 (0.46-6.09)	0.43		
Montenegro skin test	1.09 (0.10-11.57)	0.94		
Type of lesion - ulcer vs. no ulcer	1.97 (0.49-8.00)	0.35		
Optic density : cut-off ratio ≥ 2.5 (≈Q2)	0.91 (0.28-2.95)	0.88		
Lower extremity	11.20 (1.35-92.59)	<0.01	11.24 (1.30-96.77)	0.03
Lymph node involvement	0.79 (0.21-3.01)	0.73		
≥3 lesions	1.00 (0.23-4.31)	1.00		
Intestinal parasites	0.88 (0.14-5.34)	0.89		
Duration of illness ≥ 12 weeks (≈Q2)	4.00 (1.16-13.74)	0.03	4.02 (1.06-15.24)	0.04
Concomitant-distant lesions	0.86 (0.20-3.79)	0.85		
Lesion area ≥ 1100 mm <sup>2</sup> (≈Q2)	0.58 (0.18-1.91)	0.37		

652  
653





## CONSORT 2010 checklist of information to include when reporting a randomised trial\*

Section/Topic	Item No	Checklist Item	Reported on page:
<b>Title and abstract</b>	1a	Identification as a randomised trial in the title	Title, pg1
	1b	Structured summary of trial design, methods, results, and conclusions (for specific guidance see CONSORT for abstracts)	Abstract, pg2
<b>Introduction</b> Background and objectives	2a	Scientific background and explanation of rationale	Introduction, pg3-4
	2b	Specific objectives or hypotheses	Introduction, pg4
<b>Methods</b> Trial design	3a	Description of trial design (such as parallel, factorial) including allocation ratio	Methods, pg4-5
	3b	Important changes to methods after trial commencement (such as eligibility criteria), with reasons	Methods, pg4-6
Participants	4a	Eligibility criteria for participants	Methods, pg4-5
	4b	Settings and locations where the data were collected	Methods, pg4-6
Interventions	5	The interventions for each group with sufficient details to allow replication, including how and when they were actually administered	Methods, pg6-7
	6a	Completely defined pre-specified primary and secondary outcome measures, including how and when they were assessed	Methods, pg7-8
	6b	Any changes to trial outcomes after the trial commenced, with reasons	Methods, pg7-8
Sample size	7a	How sample size was determined	Methods, pg7
	7b	When applicable, explanation of any interim analyses and stopping guidelines	No interim analysis
Randomisation: Sequence	8a	Method used to generate the random allocation sequence	Methods, pg5

generation	8b	Type of randomisation, details of any restriction (such as blocking and block size)	Methods, pg5
Allocation concealment mechanism	9	Mechanism used to implement the random allocation sequence (such as sequentially numbered containers), describing any steps taken to conceal the sequence until interventions were assigned	Methods, pg5-6
Implementation	10	Who generated the random allocation sequence, who enrolled participants, and who assigned participants to interventions	Methods, pg5-6
Blinding	11a	If done, who was blinded after assignment to interventions (for example, participants, care providers, those assessing outcomes) and how	Single blind (care providers), Methods, pg6
	11b	If relevant, description of the similarity of interventions	No
Statistical methods	12a	Statistical methods used to compare groups for primary and secondary outcomes	Methods, pg7-8
	12b	Methods for additional analyses, such as subgroup analyses and adjusted analyses	Methods, pg7-8
<b>Results</b>			
Participant flow (a diagram is strongly recommended)	13a	For each group, the numbers of participants who were randomly assigned, received intended treatment, and were analysed for the primary outcome	Results, pg9
	13b	For each group, losses and exclusions after randomisation, together with reasons	Figure1
Recruitment	14a	Dates defining the periods of recruitment and follow-up	Results, pg9
	14b	Why the trial ended or was stopped	Methods, pg7
Baseline data	15	A table showing baseline demographic and clinical characteristics for each group	Table1
Numbers analysed	16	For each group, number of participants (denominator) included in each analysis and whether the analysis was by original assigned groups	Results, pg9.
Outcomes and estimation	17a	For each primary and secondary outcome, results for each group, and the estimated effect size and its precision (such as 95% confidence interval)	Table1
	17b	For binary outcomes, presentation of both absolute and relative effect sizes is recommended	Results, pg9-11, Table1.
Ancillary analyses	18	Results of any other analyses performed, including subgroup analyses and adjusted analyses, distinguishing pre-specified from exploratory	Table2.
			Results, pg9-11

## **FREE AND INFORMED CONSENT FORM**

**INSTITUTION:** Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas – Fiocruz

**RESEARCH COORDINATOR:** Armando de Oliveira Schubach

**ADDRESS:** Avenida Brasil, 4365 - Manguinhos - Rio de Janeiro - RJ - CEP 21040-900

**PHONE NUMBERS:** (0xx21) 3865-9525 / 3865-9541 / FAX ( 0xx21 ) 3865-9541

**RESEARCH PROJECT TITLE:**

Phase III clinical trial for American tegumentary leishmaniasis. Equivalence between the standard and alternative schemes with meglumine antimoniate

**VOLUNTEER'S NAME:**

---

The purpose of this paper is to enlighten you about the health problem that has been under study and how our research will be conducted. We will try to give you enough information on what, when and how interventions will be performed; for example, we will let you know details on how procedures and exams are done, what are the treatment effects, its benefits, harms and potential risks.

American tegumentary leishmaniasis (ATL) is a disease caused by a parasite called *Leishmania*, which presents itself clinically as skin wounds that are difficult to heal. Sometimes ATL may become more severe, spreading to the mucous lining of the nose and throat, which may occur even several years after the wound has completely healed. Unfortunately, our current knowledge does not allow us to confidently say which patient will become ill again and which one will remain permanently cured.

In Brazil, the Ministry of Health (MOH) recommends treating patients with ATL with meglumine antimoniate at high doses (20mg per kilogram of body

weight per day) for 20 to 30 days, up to the limit of 3 ampoules daily. Treatment with meglumine antimoniate may cause not only injection site soreness, inflammation and joint pain but also may cause changes in kidney, heart, liver, pancreas and blood tests.

At Leishmaniasis Surveillance Laboratory (LabVigiLeish) of Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) - Fiocruz, a lower dose of meglumine antimoniate (5 mg per kilogram of body weight per day) has been shown to be an effective and well tolerated treatment for patients with ATL. At our center, patients with skin wounds are treated for 30 days. Treatment for patients with nose and throat wounds takes longer and goes on until the wound is resolved, which usually occurs after 30 and 90 days. Elderly or patients with other chronic diseases are treated with low doses for series of 10 days interspersed with 10-day intervals without medication. Some patients with certain health conditions such as heart failure cannot take intramuscular shots meglumine antimoniate because of its toxicity (which means they will get sicker), others may show more severe signs of intoxication, these patients may be treated with one or two applications of meglumine antimoniate directly into the skin wound.

Our experience suggests that alternative treatment schemes have the same good results as the standard treatment recommended by the MOH, but with fewer adverse effects. However, we need to complete this study and gather more information to enable us to advise a change to the current recommendations from the MOH for the treatment of ATL.

You are invited to participate in this research project because your diagnosis of ATL was confirmed. This is a research project being conducted at IPEC - Fiocruz , which has the following objectives:

- Evaluate the patient response to the treatment of ATL using different doses and schemes of antimony
- Describe the chemical behavior of antimony in the human body according to the different treatment regimens
- Compare the immune response of patients treated with various regimens

- Characterize the isolates of Leishmania and check their sensitivity to antimony.

Of course, your participation in this research study is completely voluntary. You may choose not to participate. If you decide to participate in this research survey, you may withdraw at any time. If you decide not to participate in this study or if you withdraw from participating at any time, you will not be penalized.

If you decide to take part in this research project, you will be drawn to one of the following treatment schemes: 1) high dose for 20 consecutive days ; 2) high dose into 2 series of 10 days; 3) low dose for 30 consecutive days; 4) low dose into 3 series of 10 days. If there is any contraindication for you to receive any of these treatment schemes or if you need to stop the medication because of its toxicity, an alternative treatment will be carried out with one or two applications of the medication directly into the skin wound with an interval of two weeks. In case of have wounds in your nose or mouth, you may be drawn to one of the following groups: 1 ) high dose for 30 days ; 2 ) low dose daily until the wound is healed. If current treatment is stopped because of intolerance to the medication or because of side effects, it will be carried out in the following way: 10-day series of low dose treatment followed by rest intervals until the wound is resolved. A team of doctors will take care of you and you may see many doctors, but they will hold no knowledge on which treatment scheme you were drawn to (example: they won't know if you are receiving the high dose or low dose treatment). This is importante because we should ensure that their opinions and background will not influence the research results.

We will also need to ask your approval: 1) to the use of photo or film documentation of your wounds for the study; 2) to use and store the blood samples which are taken for routine treatment for additinal research so that we can find a better way to look at and understand the disease, develop and evaluate new diagnostic methods; assess the response to treatment etc. Please rest assured that the blood sample will be part of a routine blood draw, so that no extra needle stick is needed. Every step and procedure performed at our study has been previously reviewed and approved by a Research Ethics Committee.

If you agree to take part in this research, you will also be asked to: follow the instructions of your doctor; attend the health unit on the scheduled days; and report to their physician any reactions you present during the treatment. All healthcare, which includes tests, drugs and procedures, is provided free-of-charge. We will provide the most appropriate care and support throughout the course of your disease, and we will ensure follow-up of your health problems. If you need medical care during the period in which you are participating in the study even out of your scheduled time, you may reach us at Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas. If you have further questions concerning any or all aspects of the research, you may call Dr. Armando de Oliveira Schubach , Cláudia Maria Valete Rosalino or Dra Maria Inês Pimentel, Dra Erica Vasconcellos, Dra Mariza Salgueiro, Dra Ana Cristina, Dr Mauricio Naoto Saheki at their respective phone numbers listed above. If you develop any urgent health problem requiring hospitalization, you will receive prompt medical attention at the Hospital Center of Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - Fiocruz .

Study records that identify you will be kept confidential. Data from this study may be used in medical publications or presentations. Your name and other identifying information will be removed before these data elements are used. If we wish to use identifying information in publications, we will ask for your approval at that time. Only study staff will have access to your medical records information. In addition, your records may be reviewed by authorities whose responsibility is to protect human subjects in research including the Research Ethics Committee and the Health Agency authorities. If needed, you may also have access to your own medical record

You can and should ask any questions you deem to be important at any time, before or during the study. We will provide all the necessary information concerning your rights, your care, and any related risks or benefits related to the study.

**Main known drawbacks and risks concerning the treatment:** meglumine antimoniate may often cause undesirable effects, should be avoided during pregnancy and its use in women of reproductive age should be followed

closely by effective use of contraception like condoms, ladies diaphragm or oral contraceptives.

**Forms of compensation:** Whenever possible, food may be provided following the Nutrition and Social Service Centre policy for outpatients.

**Expected benefits:** It is expected that at the end of treatment, you are cured of ATL. However, return visits for several years after treatment is usually needed for confirmation of cure. Although you will not gain any direct personal benefit from participation in this study, information gained by this study may provide future benefit for the prediction, control and treatment of ATL.

### **SUBJECT CONSENT**

I agree to participate in this study. I am aware that my participation is voluntary and that I do not have to sign this form if I'm not willing to take part of this research study.

I have read and understood all information regarding this study and that all my questions have been adequately answered by the medical team, which will be available to answer my questions whenever I have questions.

I received a copy of this consent form and hereby consent voluntarily to participate in this research study.

---

Patient name :

Date

---

Intestigator/Physician's name :

Date

## 6. DISCUSSÃO

Há pelo menos 3 décadas, o esquema de tratamento da LTA com doses baixas de AM (5 mg Sb<sup>5+</sup>/kg/dia), durante um período estendido de tempo em relação ao preconizado pelo Ministério da Saúde para a dose padrão (em nosso serviço, 30 dias para LC; e tratamento até a cura, com um máximo de 120 dias para leishmaniose mucosa) vem demonstrando bons resultados nos pacientes acompanhados no IPEC/FIOCRUZ (Oliveira-Neto et al, 1996; Oliveira-Neto et al, 1997a; Oliveira-Neto et al, 1997b; Oliveira-Neto et al, 2000; Schubach et al, 2005; Oliveira-Neto & Mattos, 2006). Doses baixas seriam intuitivamente menos tóxicas, permitiriam maior adesão ao tratamento pela aplicação de menor volume de injeções, possibilitariam o tratamento de pacientes com contraindicações relativas às doses altas ou que desenvolvessem efeitos adversos com seu emprego, e também teriam um custo menor (Oliveira-Neto et al, 1997a; Ampuero, 2009). Entretanto, há dificuldade de aceitação por parte do Ministério da Saúde e da comunidade científica em geral, apesar desses resultados satisfatórios, da possibilidade de utilização ou recomendação destes esquemas em outros serviços, mesmo que para pacientes com contraindicação relativa ou efeitos adversos relacionados às doses altas de antimoniais. Esta dificuldade poderia ser explicada pelo fato de *L. (V.) braziliensis* ser predominante no território nacional e estar associada ao desenvolvimento de leishmaniose mucosa (Oliveira et al, 1995), pelo temor de que o uso de subdoses induziria resistência do parasito (Grogl et al, 1992); e, em parte, devido ao fato de que os bons resultados foram obtidos através de estudos observacionais com séries de casos, não controlados (Oliveira-Neto et al, 1996; Oliveira-Neto et al, 1997a; Oliveira-Neto et al, 2000; Schubach, 1990, tese; Schubach et al, 2002; Schubach et al, 2005).

No Velho Mundo, a LC é considerada enfermidade de natureza muitas vezes benigna, para a qual se espera cura espontânea e em muitos casos não se recomenda tratamento sistêmico (WHO, 2010). As lesões cutâneas provocadas por *L. major* tendem a resolver de maneira mais ou menos rápida, a ponto de que, para ensaios clínicos com pacientes apresentando lesões por esta espécie, se recomende a inclusão de pacientes com tempos de evolução não superiores a 6 meses (Olliaro et al, 2013). Entretanto, na LC do Novo Mundo causada por *L. (V.) braziliensis* a resolução sem tratamento parece ser evento incomum num prazo razoável de tempo – apenas 2% em 3 meses, quando comparadas a 68% quando se trata de *Leishmania (L.) mexicana* (Herwaldt et al, 1992).



Ensaio clínico têm como objetivo a comprovação de que um tratamento proposto tenha desempenho superior, ou não inferior a outro tratamento, seja do ponto de vista da eficácia/efetividade, seja com relação à segurança e tolerabilidade. Entretanto, um ensaio clínico deve ser planejado de forma a originar resultados confiáveis e reproduzíveis (Olliaro et al, 2013).

Ensaio clínico de não inferioridade têm como meta demonstrar que uma dada intervenção não é pior que a intervenção-padrão por uma margem  $\Delta$  (margem de não inferioridade), definida como a maior diferença clinicamente aceitável (Sundar et al, 2008; Sundar et al, 2011; Olliaro et al, 2013). A escolha da margem de não inferioridade é importante, de modo a evitar que um tratamento danoso seja declarado não inferior, ou renegar um tratamento que possa ser realmente benéfico para o paciente (Sundar et al, 2008; Olliaro et al, 2013).

No presente ensaio, objetivou-se comparar esquemas de baixa dose com a dose padronizada pelo Ministério da Saúde para tratamento da LC, utilizando um estudo de não inferioridade com margem  $\Delta$  de 15%. O desfecho primário de efetividade foi a cura clínica no dia 360 a partir do início do tratamento, e os pacientes foram analisados segundo a intenção de tratar modificada (modified intention-to-treat, mITT) e por protocolo (PP). Os desfechos secundários analisados foram o tempo até a epitelização, o tempo até a cura clínica, e a segurança (segundo a ocorrência de efeitos adversos clínicos e eletrocardiográficos). O desfecho primário de efetividade foi comparado com a cura clínica no dia 120 do início do tratamento, que corresponde aproximadamente ao tempo recomendado pelo Ministério da Saúde para verificação da cicatrização, ou seja, 90 dias após o término do tratamento (BRASIL, 2010).

A não inferioridade do esquema de baixa dose no ensaio clínico corrente não pode ser estabelecida, tanto para a análise dos desfechos primários de mITT quanto PP, comparando-se com o esquema padrão de dose alta, já que a margem superior do intervalo de confiança de 90% (para mITT = 21,9%; para PP = 26,7%) foi maior que a margem pré definida de 15% para os desfechos primários (para mITT,  $p = 0,15$ ; para PP,  $p = 0,28$ ). As diferenças nos desfechos secundários não foram significativas entre ambas as intervenções, à exceção da gravidade dos efeitos adversos clínicos, a qual foi significativamente maior com o regime de dose alta ( $p = 0,01$ ). Nenhum acometimento de mucosas foi detectado nos pacientes incluídos no ensaio durante o período de estudo. Uma cuidadosa revisão dos dados clínicos e eletrocardiográficos pré tratamento não revelou qualquer diferença significativa nas

características basais, número de lesões, comorbidades ou qualquer outro parâmetro que pudesse interferir com os desfechos de maneira desproporcional.

Um estudo prévio realizado pelo nosso grupo foi um ensaio clínico cego e controlado, mas com pequeno número de casos, e não foi planejado com poder suficiente para detectar diferenças no desfecho primário (Oliveira-neto et al, 1997b). Um ensaio clínico de maior proporção, utilizando a dose alta padrão e comparando com dose baixa foi realizado em uma área endêmica da Bahia, mas infelizmente ainda não foi publicado (Ampuero, 2009). Seria difícil comparar nossos achados com os daquele estudo, já que houve importantes diferenças nas doses utilizadas, tempo de tratamento e definições de cura; ele, entretanto, também teve poder insuficiente e falhou em demonstrar a não inferioridade do tratamento com dose baixa (margem superior do intervalo de confiança de 95%: mITT 16,2%; PP 20,3%, ambos maiores que a margem de não inferioridade de 15%). É interessante notar que efeitos adversos mais frequentes e mais graves foram encontrados com a dose padrão naquele estudo, quando comparados com o grupo de baixa dose, e nenhum envolvimento de mucosas foi encontrado em ambos os grupos após um acompanhamento de dois anos (Ampuero, 2009).

A definição de cura para o Ministério da Saúde, “epitelização das lesões ulceradas, regressão total da infiltração e eritema, até três meses após conclusão do esquema terapêutico” (BRASIL, 2010), nos parece um critério rígido para as lesões de LC causadas por *L. (V.) braziliensis*, que, em nossa experiência, costumam levar maiores períodos de tempo até atingir o estágio de cicatriz atrófica, hipertrófica ou inaparente, já sem qualquer infiltração ou eritema, na dependência da localização e tamanho da lesão. O próprio Ministério da Saúde ressalva a possibilidade de prolongar o acompanhamento clínico por até seis meses, nos casos com evidência de cicatrização progressiva, sem necessidade de reintroduzir tratamento (Ministério da Saúde, 2010). A avaliação do desfecho em 120 dias a partir do início do tratamento, para determinação de cura ou falha terapêutica, é utilizada em muitos ensaios clínicos (Gonzalez et al, 2009; Gonzalez et al, 2010).

Em nosso ensaio, a grande maioria dos pacientes que não preenchiam os critérios de cura no dia 120 esteve de fato curada no dia 360, sem necessidade de qualquer tratamento adicional. A avaliação de cura entre os dias 180 a 360 foi recentemente recomendada como sendo ideal (Olliaro et al, 2013). Nós comparamos a medida de desfecho usada em nossa prática rotineira, remissão clínica no dia 360, com a cura clínica definitiva, e demonstramos em nossos pacientes que o critério de avaliação aos 360 dias (pacientes com lesão que não necessitou de retratamento com qualquer medicamento ou por qualquer via, independentemente da existência ou não de algum grau de descamação ou eritema, e que

também não apresentaram desenvolvimento de lesões mucosas) é altamente consistente e pode ser utilizada como uma medida de desfecho em estudos farmacológicos de LTA. O fato de que as lesões continuam o processo de cicatrização mesmo depois de 360 dias sem necessidade de intervenção terapêutica adicional mostra que, em alguns casos, é mais adequado monitorar a regressão continuada com a progressão contínua para a cura do que especificar uma data-limite para a cura e expor o paciente desnecessariamente a um tratamento tóxico adicional.

Esta questão é ainda mais relevante na medida em que se reconhece que a decisão de tratamento na LC não deverá induzir complicações que levem a risco de morte, e deveria ser baseada sempre num raciocínio risco-benefício da intervenção para cada paciente (WHO, 2010). Embora este não seja o objetivo principal de nosso ensaio, consideramos importante levantar este questionamento a respeito dos critérios clínicos comumente utilizados para avaliar o desfecho na maioria dos estudos, e especular se os manuais e guias deveriam ser modificados no futuro (Gonzalez et al, 2009; Gonzalez et al, 2010).

Em nosso ensaio, um tempo de evolução prévio igual ou superior a 12 semanas e a localização da lesão em membros inferiores demonstraram ser fatores preditivos independentes para a cura clínica na análise univariada e no modelo final de regressão logística. Um achado semelhante relacionado ao significado prognóstico de um maior tempo de evolução da doença foi obtido em um estudo caso controle no Lab Vigileish (Antonio, 2012). Estudo prévio na Bahia demonstrou que altas taxas de falha terapêutica na LC se associaram com um tempo de evolução curto, com tratamento antes do desenvolvimento da lesão ulcerada (Machado et al, 2002).

Nosso achado de que as lesões em membros inferiores demoraram mais tempo para curar, todavia curaram em maior proporção, quando comparadas com lesões em outras localizações, é consistente com o estudo de Ampuero (2009) realizado na Bahia. Estudos prévios no IPEC/FIOCRUZ também demonstraram que lesões de LC em membros inferiores requerem um período maior de tempo para cicatrizar (Oliveira-Neto et al, 2006; Oliveira-Neto et al, 2007a; Oliveira-Neto et al, 2007b; Oliveira-Neto et al, 1997c; Schubach et al, 2005).

Nosso ensaio, embora com um número relativamente pequeno de pacientes, representa tratamento de uma amostra muito representativa dos pacientes com LC em nosso âmbito: aproximadamente 90% dos casos de LTA no município do Rio de Janeiro e 50% dos casos de LTA no estado do Rio de Janeiro (informe da Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro, 2007-2011, mimeo; Ministério da Saúde, DATASUS, 2013). O Lab Vigileish constitui-se em instituição de referência terciária para leishmaniose, embora a maioria dos

pacientes compareçam (espontaneamente ou através de referência pelo Sistema Único de Saúde) com lesões ainda sem diagnóstico, e os exames necessários para tal são então realizados, o que leva a um certo atraso (habitualmente de cerca de 3 semanas) para o início do tratamento; isto conduz a um prolongamento do tempo de evolução antes do tratamento.

Algumas limitações de nosso estudo devem ser levantadas ao interpretar os resultados. A taxa de sucesso foi superestimada (95%), e como resultado disso o ensaio não teve força suficiente para demonstrar a não inferioridade do esquema de baixa dose. Um ensaio de não inferioridade se destina a mostrar que um tratamento novo não é inaceitavelmente inferior a outro tratamento (Head et al, 2012). Em ensaios de não inferioridade, entende-se que um estudo com força insuficiente produz intervalos de confiança com grande probabilidade de cruzar a margem de não inferioridade ( $\Delta$ ), resultando em rejeição errônea de um tratamento verdadeiramente não inferior (Head et al, 2012; Head, 2012). Recalculando o tamanho da amostra projetada baseado no desfecho primário, verificamos que 116 pacientes seriam necessários em cada braço do estudo para fornecer a força necessária ao estudo de não inferioridade. Uma extensão de longo prazo deste ensaio está em andamento, sendo esperado que seja completada em julho de 2016. Infelizmente (do ponto de vista do ensaio clínico; para os pacientes, felizmente), houve uma acentuada queda do número de pessoas com LC no Rio de Janeiro a partir de 2008, justamente quando o ensaio clínico foi iniciado em nosso serviço, e a endemia se manteve em níveis baixos no estado, nos últimos anos (BRASIL, 2013a).

Uma limitação adicional do estudo é que pacientes com comorbidades graves, contraindicação ao uso do antimonial e crianças (menores de 13 anos) não foram incluídos no ensaio. Isto pode ter introduzido um viés na seleção de pacientes, porém, diante de nossos bons resultados anteriores no tratamento destes tipos de pacientes com baixas doses de AM (Oliveira-Neto et al, 1996; Oliveira-Neto et al, 1997a; Oliveira-Neto et al, 1997b; Schubach et al, 2005), consideramos que não seria ético submeter tais indivíduos a riscos com a alta dose. Além disso, um estudo prévio no Rio de Janeiro demonstrou que as cepas de *L. (V.) braziliensis* circulantes no Rio de Janeiro são altamente suscetíveis ao AM (Azeredo-Coutinho et al, 2007), mas isso também poderia levar a limitação para generalizar os achados do estudo.

Os resultados do nosso ensaio conduzem-nos a levantar a questão sobre o melhor tempo para definição de cura clínica na LC, possibilitando-nos ainda sugerir a possibilidade do uso de baixa dose de MA como uma alternativa à dose alta padrão. Há muito se reconhece que a cicatrização das lesões cutâneas e a prevenção das lesões mucosas são os dois objetivos que devem ser alcançados no tratamento da leishmaniose (Oliveira-Neto et al, 1996; Oliveira-

Neto et al, 1997a). A Organização Mundial de Saúde recomenda que em pacientes com doença leve ou com comorbidades, um tratamento mais seguro deveria ser preferido, mesmo se o nível de evidência de eficácia for fraco (WHO, 2010). Embora a não inferioridade do esquema de dose baixa não tenha sido demonstrada neste ensaio clínico, levando-se em consideração a segurança e tolerabilidade deste esquema e a ausência de envolvimento tardio de mucosas observado neste estudo e em estudos prévios (Ampuero, 2009; Schubach et al., 2005), o esquema de dose baixa poderia ser visto como uma alternativa aceitável em pacientes incapazes de tolerar ou que tenham contraindicação ao esquema padrão de tratamento com dose alta (Vasconcellos et al, 2010).

## 7. CONCLUSÕES

1. Os resultados por intenção de tratar modificada e por protocolo não permitem concluir que o tratamento com a dose baixa seja não inferior ao tratamento com a dose alta de antimonial pentavalente pela margem de não inferioridade de 15%.

2. Não houve diferença na frequência de cura clínica atingida nos tempos intermediários do estudo (dia 60, dia 120, dia 180, dia 240, dia 300) entre os grupos de tratamento com dose alta e dose baixa.

3. Não foi observada diferença estatística na frequência de efeitos adversos clínicos, eletrocardiográficos e laboratoriais. Todavia, os efeitos adversos clínicos e laboratoriais foram menos graves no grupo de tratamento com a dose baixa.

4. Não foi observada diferença estatística no tempo de epitelação, tempo de cura clínica, proporção do tamanho da lesão entre os dias 0 e 30 e proporção do tamanho da úlcera entre os dias 0 e 30 entre os grupos de tratamento com a baixa dose e a dose alta.

5. Uma proporção significativa de pacientes que seriam classificados como falha terapêutica no dia 120 atingiu a cura clínica no dia 360, sem a necessidade de novo curso de tratamento.

6. A duração da doença  $\geq 12$  semanas e a localização da lesão principal nos membros inferiores foram identificados como fatores preditivos para cura clínica no dia 360 a partir do início do tratamento, tanto no modelo final de regressão logística quanto no algoritmo da árvore de decisão.

## 8. REFERÊNCIAS

Ampuero, JS. Eficácia e segurança da dose baixa de antimonial pentavalente no tratamento da leishmaniose cutânea por *Leishmania (Viannia) braziliensis* em área endêmica da Bahia, Brasil: ensaio clínico randomizado [tese]. Brasília: Universidade de Brasília; 2009.

Amato VS1, de Oliveira LS, Silva AC, Machado FR, Amato JG, Nicodemo AC, et al. [A case of mucocutaneous leishmaniasis treated with success with a low dose of pentavalent antimonial]. Rev Soc Bras Med Trop. 1998;31(2):221-4.

Antezana G, Zeballos R, Mendoza C, Lyevre P, Valda L, Cardenas F, Noriega I Ugarte H, Dedet JP. Electrocardiographic alterations during treatment of mucocutaneous leishmaniasis with meglumine antimoniate and allopurinol. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1992;86:31-3.

Antonio LF. 2012. Resposta à Intradermoreação de Montenegro e ocorrência de falha terapêutica na forma cutânea da leishmaniose tegumentar americana: um estudo de caso controle [dissertação]. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, FIOCRUZ; 2012.

Arana BA, Mendoza CE, Rizzo NR, Kroeger A. Randomized, controlled, double-blind trial of topical treatment of cutaneous leishmaniasis with paromomycin plus methylbenzethonium chloride ointment in Guatemala. Am J Trop Med Hyg. 2001;65(5):466-70.

Armijos RX, Weigel MM, Calvopiña M, Mancheno M, Rodrigez R. Comparison of the effectiveness of two topical paromomycin treatment versus meglumine antimoniate for New World cutaneous leishmaniasis. Acta Trop. 2004;91(2):153-60.

Aronson NE, Wortmann GW, Byrne WR, Howard RS, Bernstein WB, Marovich MA, et al. A randomized controlled trial of local heat therapy versus intravenous Sodium stibogluconate for the treatment of cutaneous *Leishmania major* infection. PLOS Neglect Trop Dis. 2010;4(3):e628.

Azeredo-Coutinho RB, Conceição-Silva F, Schubach A, Cupolillo E, Quintella LP, Madeira MF, et al. First report of diffuse cutaneous leishmaniasis and *Leishmania amazonensis* infection in Rio de Janeiro State, Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2007;101:735-7.

Azeredo-Coutinho RB, Mendonça SCF. Comparative study of two antimonial therapy schedules for treating cutaneous leishmaniasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1997;92 Suppl 1: 223.

Azeredo-Coutinho RB, Mendonça SC, Callahan H, Portal AC, Max G. Sensitivity of *Leishmania braziliensis* promastigotes to meglumine antimoniate (glucantime) is higher than that of other *Leishmania* species and correlates with response to therapy in American tegumentary leishmaniasis. *J Parasitol.* 2007;93:688-93.

Baptista C, Schubach AO, Madeira MF, Leal CA, Pires MQ, Oliveira FS, et al. *Leishmania (Viannia) braziliensis* genotypes identified in lesions of patients with atypical or typical manifestations of tegumentary leishmaniasis: evaluation by two molecular markers. *Exp Parasitol.* 2009;42:317-22.

Baptista C, Schubach AO, Madeira MF, Miranda LFC, Pinto AGS, Barros JHS, et al. Evaluation of genetic polymorphism of *Leishmania (V.) braziliensis* isolates obtained from the same patient before and after therapeutic failure or reactivation of cutaneous lesions. *J Trop Med.* 2012;808132,5 p.

Bedoya-Pacheco SJ, Araujo-Melo MH, Valete-Rosalino CM, Pimentel MI, Conceição-Silva F, Schubach AO, et al. Endemic tegumentary leishmaniasis in Brazil: correlation between level of endemicity and number of cases of mucosal disease. *Am J Trop Med Hyg.* 2011;84(6): 901-5.

Belkaid Y, von Stebut E, Mendez S, Lira R, Caler E, Bertholet S, et al. CD8+ T cells are required for primary immunity in C57BL/6 mice following low-dose, intradermal challenge with *Leishmania major*. *J Immunol.* 2002;168:3992-4000.

Berman JD, Chulay JD, Hendricks LD, Oster CN. Susceptibility of clinically and sensitive and resistant *Leishmania* to pentavalent antimony in vitro. *Am J Trop Med Hyg.* 1982;31:459-65.

Berman JD. Chemotherapy for leishmaniasis: biochemical mechanisms, clinical efficacy, and future strategies. *Review Infect Dis.* 1988;10:560-86.



BRASIL. Casos de Leishmaniose Tegumentar Americana. Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2011. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/2012\\_11\\_casos\\_de\\_lta\\_entre\\_1990\\_e\\_2011.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/2012_11_casos_de_lta_entre_1990_e_2011.pdf). Acesso em 09/05/2013a.

BRASIL. DATASUS. Leishmaniose Tegumentar Americana – casos confirmados notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan Net. Disponível em: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/tabnet?sinannet/lta/bases/ltabrnet.def>. Acesso em 30/04/2013b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coeficiente de detecção de casos de Leishmaniose Tegumentar Americana por 100.000 habitantes. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2011. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/2012\\_11\\_coeficiente\\_deteccao\\_lta\\_entre\\_1990\\_e\\_2011.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/2012_11_coeficiente_deteccao_lta_entre_1990_e_2011.pdf). Acesso em 09/05/2013c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. 2ª Edição Atualizada. Brasília, 2010, 180 p.

Brummitt CF, Porter JA, Herwaldt BL. Reversible peripheral neuropathy associated with sodium stibogluconate therapy for American cutaneous leishmaniasis. *Clin Infect Dis*. 1996;22(5):878-9.

Chulay JD, Spencer HC, Mugambi M. Electrocardiographic changes during treatment of leishmaniasis with pentavalent antimony (Sodium stibogluconate). *Am J Trop Med Hyg*. 1985;34:702-9.

Costa JM, Marsden PD. Low dose glucantime therapy in *Leishmania viannia braziliensis* (Lvb) infections. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1988;21(2):85-6.

Costa JM, Vale KC, Franca F, Saldanha AC, Silva JO, Lago EL, et al. [Spontaneous healing of leishmaniasis caused by *Leishmania Vianna braziliensis* in cutaneous lesions]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1990;23:205-8.

Chrusciak-Talhari A, Dietze R, Talhari CC, Silva RM, Yamashita EPG, Penna GO, et al. Randomized controlled clinical trial to Access efficacy and safety of miltefosine in the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia) guyanensis* in Manaus, Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 2011;84(2):255-60.

Diniz DS, Costa ASV, Escalda PMF. The effect of age on the frequency of adverse reactions caused by antimony in the treatment of American tegumentary leishmaniasis in Governador valadares, State of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2012;45(95):597-600.

Faghihi G, Tavakoli-Kia R. Treatment of cutaneous leishmaniasis with either topical paromomycin or intralesional meglumine antimoniate. *Clin Exp Dermatol.* 2003;28(1):13-6.

González U, Pinart M, Rengifo-Pardo M, Macaya A, Alvar J, Tweed J. Interventions for American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009;2:CD004834.

González U, Pinart M, Reveiz L, Rengifo-Pardo M, Tweed J, Macaya A, et al. Designing and reporting clinical trials on treatments for cutaneous leishmaniasis. *Clin Infect Dis.* 2010;51(4):409-19.

Grogl M, Thomason TN, Franke ED. Drug resistance in leishmaniasis: its implication in systemic chemotherapy of cutaneous and mucocutaneous disease. *Am J Trop Med Hyg.* 1992;47:117-26.

Hadighi R, Mohebbali M, Boucher P, Hajjarian H, Khamesipour A, Ouellette M. Unresponsiveness to glucantime treatment in Iranian cutaneous leishmaniasis due to drug-resistant *Leishmania tropica* parasites. *PLOS Med.* 2006;3(5):e162.

Head SJ. Re: Power in non-inferiority trials. *European Heart Journal.* 2012. Disponível em: <http://eurheartj.oxfordjournals.org/content/33/11/1318/reply>. Acesso em 05/06/2013.

Head SJ, Kaul S, Bogers AJJC, Kappetein AP. Non-inferiority study design: lessons to be learned from cardiovascular trials. *Eur Heart J.* 2012;33:1318-24.

Herwaldt BL, Arana BA, Navin TR. The natural history of cutaneous leishmaniasis in Guatemala. *J Infect Dis.* 1992;165:518-27.

Layegh P, Rahsepar S, Rahsepar AA. Systemic meglumine antimoniate in acute cutaneous leishmaniasis: children versus adults. *Am J Trop Med Hyg.* 2011;84(4):539-42.

Machado PR, Ampuero J, Guimarães LH, Villas-Boas L, Rocha AT, Schriefer A, et al. Miltefosine in the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis* in Brazil. A randomized and controlled trial. *PLOS Neglect Trop Dis.* 2010;4(12):e912.

Machado P, Araujo C, Da Silva AT, Almeida RP, D'Oliveira Jr A, Bittencourt A, et al. Failure of early treatment of cutaneous leishmaniasis in preventing the development of an ulcer. *Clin Infect Dis.* 2002;34:e69-73.

Marsden PD, Tada MS, Barreto AC, Cuba CC. Spontaneous healing of *Leishmania braziliensis braziliensis* skin ulcers. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1984;78:561-2.

Marsden PD. Mucosal leishmaniasis ("espundia" Escomel, 1911). *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1986;80:859-76.

Marsden PD. Pentavalent Antimonials: old drugs for new diseases. *Rev Soc Bras Med.* 1985;18:187-98.

Marzochi MCA, Marzochi KBF. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil: emerging anthroponosis and possibilities for their control. *Cad Saude Publ.* 1994;10 Suppl 2:359-75.

McBride MO, Linney M, Davidson RN, Weber JN. Pancreatic necrosis following treatment of leishmaniasis with Sodium stibogluconate. *Clin Infect Dis.* 1995;21:710.

Morgado FN, Schubach AO, Rosalino CMV, Quintella LP, Santos G, Salgueiro MM, et al. Is the in situ inflammatory reaction an important tool to understand the cellular immune response in American tegumentary leishmaniasis? *Br J Dermatol.* 2008;158:50-8.

Neves LO, Talhari AC, Gadelha EPN, Silva Jr RM, Guerra JAO, Ferreira LCL, et al. A randomized clinical trial comparing meglumine antimoniate, pentamidine and amphotericin B for the treatment of cutaneous leishmaniasis by *Leishmania guyanensis*. *An Bras Dermatol.* 2011;86(6):1092-101.

Nilforoushzadeh MA, Jaffary F, Ansari N, Siadat AH, Nilforoushan Z, Firouz A. A comparative study between the efficacy of systemic meglumine antimoniate therapy with standard or low dose plus oral omeprazole in the treatment of cutaneous leishmaniasis. *J Vector Borne Dis.* 2008;45:287-91.

Oliveira LF, Schubach AO, Martins MM, Passos SL, Oliveira RV, Marzochi MC, et al. Systematic review of the adverse effects of cutaneous leishmaniasis treatment in the New World. *Acta Trop.* 2011;118:87-96.

Oliveira MRF, Macedo VO, Carvalho EM, Barral A, Marotti JG, Bittencourt A, et al. Estudo evolutivo da leishmaniose mucosa (7 a 17 anos de seguimento) causada por *Leishmania (Viannia) braziliensis* em Três Braços, Bahia. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1995;28(4):325-32.

Oliveira-Neto MP, Mattos M, Pirmez C, Fernandes O, Gonçalves-Costa SC, Souza CF, et al. Mucosal leishmaniasis ("espundia") responsive to low dose of N-methyl glucamine (Glucantime) in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2000;42(6):321-5.

Oliveira-Neto MP, Schubach A, Araujo ML, Pirmez C. High and low doses of antimony (Sbv) in American cutaneous leishmaniasis. A five years follow-up study of 15 patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1996;91(2):207-9.

Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, Gonçalves-Costa SC, Pirmez C. A low dose antimony treatment in 159 patients with American cutaneous leishmaniasis. Extensive follow-up studies (up to 10 years). *Am J Trop Med Hyg.* 1997a;57(6):651-5.

Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, Pirmez C, Gonçalves-Costa SC. Treatment of American cutaneous leishmaniasis: a comparison between low dosage (5mg/kg/day) and high dosage (20mg/kg/day) antimony regimens. *Pathologie Biologie* 1997b;45(6):496-9.

Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, da Costa SC, Pirmez C. Intralesional therapy of American cutaneous leishmaniasis with pentavalent antimony in Rio de Janeiro, Brazil--an area of *Leishmania (V.) braziliensis* transmission. *Int J Dermatol.* 1997c;36:463-8.

Oliveira-Neto MP, Mattos M, Pirmez C, Fernandes O, Gonçalves-Costa SC, Souza CF, et al. Mucosal leishmaniasis (“espundia”) responsive to low dose of N-methyl glucamine (Glucantime) in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2000;42:321-5.

Oliveira-Neto MP, Mattos M. Successful therapeutic response of resistant cases of mucocutaneous leishmaniasis to a very low dose of antimony. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2006;39:376-8.

Olliaro P, Vaillant M, Arana B, Grogl M, Modabber F, Magill A, et al. Methodology of clinical trials aimed at assessing interventions for cutaneous leishmaniasis. *PLOS Neglect Trop Dis*. 2013;7(3):e2130.

Palacios R, Osorio LE, Grajalew LF, Ochoa MT. Treatment failure in children in a randomized clinical trial with 10 and 20 days of meglumine antimonate for cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania Viannia* species. *Am J Trop Med Hyg*. 2001;64(3-4):187-93.

Passos VM, Barreto SM, Romanha AJ, Krettli AU, Volpini AC, Lima-e-Costa MF. American cutaneous leishmaniasis: use of a skin test as a predictor of relapse after treatment. *Bull World Health Organ*. 2000;78(8):968-74.

Pessôa SB, Barreto MP. *Leishmaniose Tegumentar Americana*. Ministério da Educação e Saúde, Serviço de Documentação. Rio de Janeiro, 1948, 527 p.

Piaggio G, Elbourne DR, Altman DG, Podock SJ, Evans SJW, for the CONSORT group. Reporting of noninferiority and equivalence randomized trials. *JAMA*. 2006;295(10):1152-60.

Pirmez C, Yamamura M, Uyemura K, Paes-Oliveira M, Conceição-Silva F, Modlin R. Cytokine patterns in the pathogenesis of human leishmaniasis. *J Clin Invest*. 1993;91:1390-5.

Quintella LP, Cuzzi T, Madeira MF, Okamoto T, Schubach AO. Immunoperoxidase technique using an anti-*Leishmania (L.) chagasi* hyperimmune serum in the diagnosis of culture-confirmed American tegumentary leishmaniasis. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2009;51(92):83-6.

Quintella LP, Passos SRL, Miranda LHM, Cuzzi T, Barros MBL, Valle ACF, et al. Proposal of a histopathological predictive rule for the differential diagnosis between American tegumentary leishmaniasis and sporotrichosis skin lesions. *Br J Dermatol*. 2012;167:837-46.

Reveiz L, Maia-Elkhoury AN, Nicholls RS, Romero GA, Yadon ZE. Interventions for American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: a systematic review update. *PLOS One*. 2013;8(4):e61843.

Rodrigues AM, Hueb M, Santos TARR, Fontes CJF. [Factors associated with treatment failure of cutaneous leishmaniasis with meglumine antimoniate]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2006;39(2):139-45.

Romero GAS, Hueb M, D'Oliveira Jr A, Schubach A. Simpósio sobre tratamento das leishmanioses. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2001;34:58-68.

Rosa MEA, Machado PRL. Disseminated leishmaniasis: clinical, immunological, and therapeutic aspects. *Drug Dev Res*. 2011;72:437-41.

Rubiano LC, Miranda MC, Arenas SM, Montero LM, Rodríguez-Barraquer I, Garcerant D, et al. Noninferiority of miltefosine versus meglumine antimoniate for cutaneous leishmaniasis in children. *JID*. 2012;205:684-92.

Sadeghian G, Nilforoushzadeh MA. Effect of combination therapy with systemic glucantime and pentoxifylline in the treatment of cutaneous leishmaniasis. *Int J Dermatol*. 2006;45:819-21.

Schubach A, Miekeley N, Mortari SR, Moreira JS, Conceição-Silva F, Salgueiro MM, et al. Estudos sobre o metabolismo de antimônio e de suas espécies químicas no tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana com baixas doses de antimônio. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2002;35:102-3.

Schubach A. Estudo da evolução da leishmaniose tegumentar americana em pacientes tratados [dissertação]. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ; 1990.

Schubach AO, Marzochi KBF, Moreira JS, Schubach TMP, Araújo ML, do Vale ACF, et al. Retrospective study of 151 patients with cutaneous leishmaniasis treated with meglumine antimoniate. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005;38:213-17.

Schumi J, Wittes JT. Through the looking glass: Understanding non-inferiority. *Trials.* 2011;12:106.

Secretaria Municipal de Saúde e Defesa Civil do Rio de Janeiro. Gerência de Dermatologia Sanitária. Leishmaniose tegumentar americana. Investigação SINAN NET 10/05/2012. Informe sobre os casos de leishmaniose tegumentar americana no município do Rio de Janeiro, 2007 a 2011. Mimeo.

Soto J, Fuya P, Herrera R, Berman J. Topical paromomycin/methylbenzethonium chloride plus parenteral meglumine antimoniate as treatment for American cutaneous leishmaniasis: controlled study. *Clin Infect Dis.* 1998;26(1):56-8.

Soto J, Rojas E, Guzman M, Verduguez A, Nena W, Maldonado M, et al. Intralesional antimony for single lesions of Bolivian cutaneous leishmaniasis. *Clin Infect Dis.* 2013;56(9):1255-60.

Sundar S, Rai M, Chakravarty J, Agarwal D, Agrawal N, Vaillant M, et al. New treatment approach in Indian visceral leishmaniasis: single-dose liposomal amphotericin B followed by short-course oral miltefosine. *Clin Infect Dis.* 2008;47:1000-6.

Sundar S, Sinha PK, Rai M, Verma DK, Nawin K, Alam S, et al. Comparison of short-course multidrug treatment with standard therapy for visceral leishmaniasis in India: an open-label, non inferiority, randomised controlled trial. *Lancet.* 2011;377:477-86.

Valencia C, Arévalo J, Dujardin JC, Llanos-Cuentas A, Chappuis F, Zimic M. Prediction score for antimony treatment failure in patients with ulcerative leishmaniasis lesions. *PLOS Neglect Trop Dis.* 2012;6(6):e1656.

Vasconcellos ECF, Schubach AO, Valette-Rosalino CM, Coutinho RS, Conceição-Silva F, Salgueiro MM, et al. American tegumentary leishmaniasis in older adults: 44 cases treated with an intermittent low-dose antimonial schedule in Rio de Janeiro, Brazil. *J Am Geriatr Soc.* 2010;58:614-6.

Veiga JP, Wolff ER, Sampaio RN, Marsden PD. Renal tubular dysfunction in patients with mucocutaneous leishmaniasis treated with pentavalent antimonials. *Lancet*. 1983;2:569.

Vélez I, López L, Sánchez X, Mestra L, Rojas C, Rodríguez E. Efficacy of miltefosine for the treatment of American cutaneous leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg*. 2010;83(2):351-6.

World Health Organization. Leishmaniasis. Access to medicines. Disponível em: <http://www.who.int/leishmaniasis/en/>. Acesso em 10/05/2013a.

World Health Organization. 2012. Leishmaniasis: Epidemiology and access to medicines. 30 may 2012 / Geneva. An update based on the outcomes of WHO regional meetings, literature review and experts' opinion. Disponível em: [http://www.who.int/leishmaniasis/resources/leishmaniasis\\_epidemiology\\_access\\_to\\_medicine/en/index.html](http://www.who.int/leishmaniasis/resources/leishmaniasis_epidemiology_access_to_medicine/en/index.html). Acesso em 13/05/13.

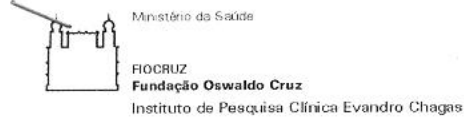
World Health Organization. WHO Technical Report Series 949. Control of the leishmaniasis. Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. Geneva, 22-26 March 2010. Disponível em: [http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_949\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_949_eng.pdf). Acesso em 13/10/13.

Wortmann G, Miller RS, Oster C, Jackson J, Aronson N. A randomized, double-blind study of the efficacy of a 10- or 20-day course of Sodium stibogluconate for treatment of cutaneous leishmaniasis in United States military personnel. *Clin Infect Dis*. 2002;35(3):261-7.



## ANEXOS

### ANEXO A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa



#### Comitê de Ética em Pesquisa

#### PARECER CONSUBSTANCIADO – 053/2007

Protocolo 0055.0.009.000-07

##### 1. Identificação:

**Título do Projeto:** “Ensaio clínico fase III para leishmaniose tegumentar americana. Equivalência entre o esquema padrão e alternativos com antimonialato de meglumina”.

**Pesquisador Responsável:** Armando de Oliveira Schubach.

**Instituição Responsável:** Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas/Fiocruz.

**Data de Apresentação ao CEP:** 25/09/2007.

##### 2. Sumário:

Trata-se de um ensaio clínico controlado com o tratamento padrão, randomizado duplo-cego e de fase III, com 76 pacientes com Leishmaniose mucosa (LM) e 264 com Leishmaniose cutânea (LC) atendidos no Centro de Referência em Leishmaniose-IPEC/Fiocruz. Os indivíduos elegíveis e que concordarem em participar serão alocados aleatoriamente em um dos dois grupos de tratamento: LM ou LC. Os indivíduos com LC e contra-indicação ao tratamento sistêmico serão tratados por via intralesional (IL). Tem como objetivo principal comparar os esquemas com antimonialato de meglumina recomendados no Brasil para Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) com esquemas alternativos. Objetivos específicos: 1) comparar a efetividade e segurança de 20mg Sb<sup>5+</sup>/kg/dia por 20 dias e de 5mg por 30d, contínuos os de forma intermitente, no tratamento da leishmaniose cutânea (LC); 2) comparar a efetividade e segurança de 20mg Sb<sup>5+</sup>/kg/d por 30d e de 5mg contínuos até a cura no tratamento da leishmaniose mucosa (LM); 3) descrever a efetividade e a segurança da via intralesional (IL) no tratamento da LC em pacientes com contra-indicação de terapia sistêmica; 4) descrever a efetividade e a segurança da via IL no tratamento de pacientes com LC que interromperam a terapia sistêmica por reação adversa; 5) descrever a efetividade e segurança de 5mg de forma intermitente no tratamento de pacientes com LM que interromperam a terapia contínua, com 20mg ou com 5mg, por reação adversa; 6) avaliar a adesão dos pacientes com LTA aos diferentes tratamentos propostos com antimonialato de meglumina; 7) Descrever o metabolismo do Sb nos diferentes esquemas; 8) comparar a resposta imune celular *in vitro* às cepas de referência (de *L. brasiliensis* e de *L. amazonensis*) e aos parasitos isolados dos respectivos pacientes na época do diagnóstico e, quando for o caso, na época da reativação e 10) caracterizar fenotípica e genotipicamente isolados de *Leishmania* e verificar a sensibilidade ao antimonial *in vitro* pré-tratamento e, quando for o caso, pós-recidiva. O principal benefício potencial deste ensaio, consiste na possibilidade de subsidiar a utilização de doses de antimônio mais baixas, potencialmente menos tóxicas e de menor custo, para o tratamento da leishmaniose tegumentar que afeta

"Ensaio clínico fase III para leishmaniose tegumentar americana. Equivalência entre o esquema padrão e alternativos com antimoniato de meglumina".

incluindo pacientes idosos e com co-morbidades (cardiopatas, nefropatias e hepatopatias). Este projeto contém 11 subprojetos.

**3. Observações Gerais: (Atendendo à Resolução CNS 196/96).**

Projeto com delineamento adequado. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi elaborado em linguagem acessível ao sujeito da pesquisa. Este projeto é financiado parcialmente com recursos aprovados pelo edital MCT/CNPq/MS-SCTIE-DECIT 25/2006.

**4. Diligências:**

Sim. Foram satisfeitas.

**5. Parecer: APROVADO.**

**Data: 17 de outubro de 2007.**

**Assinatura do Coordenador:**



Dr.<sup>a</sup> Léa Camillo-Coura  
Coordenadora do Comitê  
de Ética em Pesquisa  
IPEC / FIOCRUZ

## **ANEXO B – Termo de consentimento livre e esclarecido**

### **Termo de consentimento livre e esclarecido**

INSTITUIÇÃO: Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - Fiocruz

COORDENADOR DA PESQUISA: Armando de Oliveira Schubach

ENDEREÇO: Av. Brasil 4365 - Manguinhos - Rio de Janeiro - RJ - CEP 21040-900

TELEFONES: (0xx21) 3865-9525 / 3865-9541 / FAX (0xx21) 3865-9541

NOME DO PROJETO DE PESQUISA:

Estudo para a sistematização do atendimento de pacientes com Leishmaniose Tegumentar Americana no Laboratório de Vigilância em LTA - Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - Fiocruz

NOME DO VOLUNTÁRIO: \_\_\_\_\_

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença que atinge seres humanos e animais, incluindo o cão, causada por parasitos chamados Leishmanias. A doença é transmitida pelo "mosquito palha", que vive em regiões de mata, plantações de banana, manga etc. localizadas próximas às moradias humanas, onde costuma entrar para se alimentar de sangue de pessoas e animais domésticos. A LTA se apresenta como feridas na pele de difícil cicatrização. Algumas vezes, a LTA pode se tornar mais grave, envolvendo as mucosas de revestimento interno do nariz e da garganta, mesmo vários anos após a cicatrização da ferida na pele. Atualmente, não temos como saber qual paciente adoecerá de novo e qual permanecerá curado definitivamente.

Outras doenças como infecções por bactérias, tuberculose, sífilis, esporotricose, outras micoses, tumores etc. podem se manifestar de forma parecida com a leishmaniose e precisam ser diferenciadas para que se possa iniciar o tratamento correto. Entretanto, com os exames existentes atualmente, nem sempre se consegue ter certeza absoluta sobre qual a doença em questão.

No momento, várias perguntas precisam ser respondidas como: de que outras maneiras a LTA pode se manifestar? Como se comportam os exames de laboratório antes, durante e após o tratamento? Quais pacientes, mesmo após o tratamento, irão reabrir suas cicatrizes ou irão desenvolver doença dentro do nariz ou na garganta? Que outras doenças parecidas estão sendo confundidas com a LTA e quais exames devem ser utilizados para esclarecimento? Qual o papel dos seres humanos como reservatórios da doença? Quais as melhores formas de tratamento? Que medidas devem ser tomadas para controlar o problema?

Pelo presente documento, você está sendo convidado(a) a participar de uma investigação clínica a ser realizada no IPEC-Fiocruz, com os seguintes objetivos:

- ✓ Descrever aspectos da LTA: manifestações clínicas e exames de laboratório, tentando estabelecer padrões de apresentação da doença e seu modo de evolução, comparando com outras doenças.
- ✓ Avaliar o uso dos antimoniais e outras drogas utilizadas no tratamento da LTA levando em consideração o tempo de tratamento, toxicidade, facilidade de administração, custo e ausência de envolvimento das mucosas do nariz e da garganta.
- ✓ Isolar, identificar e comparar as leishmanias causadoras da LTA provenientes de diversas localidades.

Este documento procura esclarecê-lo sobre o problema de saúde em estudo e sobre a pesquisa que será realizada, prestando informações, detalhando os procedimentos e exames, benefícios, inconvenientes e riscos potenciais.

A sua participação neste estudo é voluntária. Você poderá recusar-se a participar de uma ou todas as etapas da pesquisa ou, mesmo, se retirar dela a qualquer momento, sem que este fato lhe venha causar qualquer constrangimento ou penalidade por parte da Instituição. O seu atendimento médico não será prejudicado caso você decida não participar ou caso decida sair do estudo já iniciado. Os seus médicos poderão também interromper a sua participação a qualquer momento, se julgarem conveniente para a sua saúde.

A sua participação com relação ao Projeto consiste em autorizar a realização de uma série de exames para o diagnóstico da sua doença, e que parte deste material, assim como os resultados destes exames de rotina, sejam utilizados neste estudo. Também será necessária a sua autorização: 1) para a utilização de documentação fotográfica ou filmagem de suas lesões para estudo 2) para que parte do material coletado periodicamente para a realização de exames para acompanhamento da evolução da sua doença, assim como os resultados destes exames de rotina e do seu tratamento sejam utilizados neste estudo 3) para que parte das amostras coletadas seja estocada a fim de servir para outros estudos que tenham como finalidade a melhor compreensão da doença, o desenvolvimento e avaliação de novos métodos diagnósticos; avaliação da resposta ao tratamento etc., desde que tal estudo seja previamente analisado e autorizado por um Comitê de Ética em Pesquisa. Os exames e procedimentos aplicados lhe serão gratuitos. Você receberá todos os cuidados médicos adequados para a sua doença.

Participando deste estudo você terá algumas responsabilidades: seguir rigorosamente as instruções do seu médico; comparecer à unidade de saúde nas datas marcadas; relatar a seu médico todas as reações que você apresentar durante o tratamento, tanto positivas quanto negativas.

Caso você necessite de atendimento médico, durante o período em que estiver participando do estudo, procure o Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - Fiocruz, mesmo fora do seu agendamento. Em caso de necessidade ligue para o Dr. Armando de Oliveira Schubach, Dra. Fátima Conceição-Silva ou Dra. Mariza Salgueiro nos telefones acima. Caso você apresente qualquer quadro clínico que necessite de internação, a equipe médica providenciará seu leito no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - Fiocruz. Seus animais com suspeita de LTA poderão ser atendidos gratuitamente pela médica veterinária Dra. Tânia Maria Valente Pacheco no Serviço de Zoonoses do IPEC.

Sua identidade será mantida como informação confidencial. Os resultados do estudo poderão ser publicados sem revelar a sua identidade e suas imagens poderão ser divulgadas desde que você não possa ser reconhecido. Entretanto, se necessário, os seus registros médicos estarão disponíveis para consulta para a equipe envolvida no estudo, para o Comitê de Ética em Pesquisa, para as Autoridades Sanitárias e para você.

Você pode e deve fazer todas as perguntas que julgar necessárias antes de concordar em participar do estudo, assim como a qualquer momento durante o tratamento. O seu médico deverá oferecer todas as informações necessárias relacionadas à sua saúde, aos seus direitos, e a eventuais riscos e benefícios relacionados à sua participação neste estudo.

**Procedimentos, exames e testes que serão utilizados:**

Antes do tratamento haverá coleta de informações sobre a doença; exame médico geral e exame da pele com descrição e documentação fotográfica ou filmagem das lesões; exame interno do nariz e da garganta com um aparelho chamado fibra ótica, que permite ver lesões pequenas ou em locais de difícil acesso, para descrição e documentação fotográfica ou filmagem das lesões (se necessário será aplicado "spray" anestésico local). Retirada, com anestesia local, de um pequeno fragmento da lesão de pele, de mucosa ou de "íngua" para realização de exames tanto para diagnóstico (aspecto microscópico do tecido doente e culturas para tentativa de isolamento de possíveis agentes de doença como fungos, bactérias e leishmanias) quanto para pesquisa (identificação de células e outros componentes da resposta inflamatória, assim como novos métodos de identificação dos possíveis agentes da doença). Outros materiais também poderão ser coletados na tentativa de isolamento do agente causador da doença: aspiração com seringa e agulha do bordo da lesão e de secreções em lesões de pele fechadas.

Outros exames também serão realizados para diagnosticar outras doenças possíveis de serem confundidas com a LTA, para classificar a gravidade da doença e avaliar os efeitos dos medicamentos a serem utilizados durante o seu tratamento: um a quatro testes cutâneos (injeção da décima parte de um mililitro de um reativo para determinada doença na pele da região anterior do antebraço, a qual deverá ser revista entre 2 a 3 dias após a injeção); exames de sangue (quantidade equivalente a aproximadamente três colheres de sopa), exame de saliva (coletada com um tipo de cotonete), radiografia dos pulmões e da face (se necessário complementada por tomografia computadorizada); e eletrocardiograma.

O tratamento da LTA em pacientes humanos costuma ser com o medicamento antimoniato de meglumina por via intramuscular (IM), intravenosa (IV) uma injeção ao dia, geralmente, durante um período de 30 dias contínuos ou com intervalos de descanso. Excepcionalmente, para idosos, pacientes com doenças graves ou que não tolerem o tratamento normal, poderá ser utilizada a via intralesional (IL). O tempo do tratamento poderá ser diminuído ou aumentado conforme a necessidade. Outras opções de tratamento são a anfotericina B (IV) e a pentamidina (IM), ambas injetáveis e necessitando medidas de acompanhamento parecidas com as do antimoniato de meglumina.

Após o início do tratamento, você deverá comparecer a aproximadamente três consultas dentro de 10, 20 e 30 dias. Caso as lesões não cicatrizem totalmente, o tratamento poderá ser continuado pelo período de tempo necessário. Ao se atingir a cura clínica, você deverá retornar para consulta de reavaliação em 1, 3, 6, 9 e 12 meses após o término do tratamento. E, a partir de então, pelo menos uma vez por ano durante um prazo indefinido (no mínimo 5 anos).

A cada retorno deverão ser realizados avaliação médica e exames de sangue (na quantidade aproximada de uma ou duas colheres de sopa) para avaliar os efeitos dos medicamentos utilizados no seu tratamento e/ou para avaliar a evolução da doença. Outros exames, como o eletrocardiograma durante o tratamento, poderão ser realizados quando indicados.

#### **Inconvenientes e riscos principais conhecidos até os dias atuais:**

A coleta de sangue poderá causar alguma dor no momento da punção venosa e, eventualmente, poderá haver a formação de uma área arroxeadada no local, que voltará ao normal dentro de alguns dias.

Ocasionalmente, os testes na pele poderão apresentar uma reação forte com inflamação do local, formação de bolhas e, mais raramente, formação de ferida. Todo o processo costuma regredir dentro de alguns dias a poucas semanas.

Tanto os testes na pele quanto o anestésico injetado no momento da biópsia (retirada de um pequeno fragmento de pele para exame) poderão causar alergia, geralmente limitada ao aparecimento de áreas vermelhas, empoladas e com coceira na pele e que respondem bem a medicamentos anti-alérgicos. Mais raramente poderá haver uma reação mais severa com dificuldade de respirar e necessidade de cuidados mais intensos, existentes no IPEC.

No local da biópsia poderá ocorrer inflamação e dor, acompanhados ou não de infecção por bactérias. Caso isso ocorra, poderá ser necessário o uso de medicamentos para dor e antibióticos.

Os medicamentos antimoniato de meglumina e pentamidina costumam causar efeitos indesejáveis, não devem ser utilizados na gravidez e seu uso em mulheres em idade reprodutiva deve ser acompanhado de uso de método anticoncepcional eficaz como preservativo de látex masculino ou feminino ("camisinha"), diafragma feminino ou anticoncepcional oral ("pílula"). Quando o tratamento não puder ser adiado, a anfotericina B poderá ser utilizada na gravidez. Os exames com raios-x também não devem ser realizados em grávidas.

#### **Formas de ressarcimento:**

Sempre que necessário, nos dias de seu atendimento, poderá ser fornecida alimentação conforme rotina do Serviço de Nutrição e Serviço social do IPEC para pacientes externos.

#### **Benefícios esperados:**

Espera-se que, ao final do tratamento, você esteja curado da LTA, embora as consultas de retorno por vários anos após o tratamento sejam necessárias para a confirmação da cura. Os resultados

deste estudo poderão ou não beneficiá-lo diretamente, mas no futuro, poderão beneficiar outras pessoas, pois espera-se também que este estudo contribua para que o diagnóstico e acompanhamento do tratamento de pacientes com LTA possa ser feito de forma mais eficaz e segura.

Caso a sua investigação demonstre outro diagnóstico diferente de LTA, você será devidamente orientado a buscar o tratamento mais adequado para o seu caso.

Declaro que li e entendi todas as informações referentes a este estudo e que todas as minhas perguntas foram adequadamente respondidas pela equipe médica, a qual estará à disposição para responder minhas perguntas sempre que eu tiver dúvidas.

Recebi uma cópia deste termo de consentimento e pelo presente consinto, voluntariamente, em participar deste estudo de pesquisa.

_____ Nome paciente:	_____ Data
_____ Nome médico:	_____ Data
_____ Nome testemunha <sup>1</sup> :	_____ Data
_____ Nome testemunha <sup>2</sup> :	_____ Data

<sup>1</sup> Apenas no caso de pacientes impossibilitados de manifestar o seu consentimento por escrito. No caso de menores de 18 anos, deverá ser assinado pelo pai, mãe ou responsável legal.

## ANEXO C – Protocolo do estudo registrado no clinicaltrials.gov

**ClinicalTrials.gov**  
Protocol Registration System



Protocol Registration Receipt  
06/12/2013

Comparison of Low and High Antimonial Dosage in American Cutaneous  
Leishmaniasis

This study is currently recruiting participants.

Verified by ASchubach, Oswaldo Cruz Foundation, June 2013

Sponsor:	Oswaldo Cruz Foundation
Collaborators:	Rio de Janeiro State Research Supporting Foundation (FAPERJ) Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico Oswaldo Cruz Foundation
Information provided by (Responsible Party):	ASchubach, Oswaldo Cruz Foundation
ClinicalTrials.gov Identifier:	NCT01301924

► Purpose

"Phase III clinical trial for American tegumentary leishmaniasis. Equivalence between the standard and alternative schemes with meglumine antimoniate" has begun in October 2008 at the Laboratory of Leishmaniasis Surveillance at Evandro Chagas Clinical Research Institute (IPEC), FIOCRUZ, aiming to compare efficacy and safety of the standard recommended schedule with alternative regimens of meglumine antimoniate in the treatment of American tegumentary leishmaniasis (ATL). It is a study with blind evaluation by the doctors and the responsible for statistical analysis. Patients diagnosed with ATL, eligible for the trial are randomly allocated into one of the schemes with meglumine antimoniate and monitored before, during and after it. There is no single regimen applicable to all forms of leishmaniasis around the world. Therapeutic regimens applied to treat people living in other geographic areas result in mixed outcomes. Ideally, the most appropriate regimens should be established for each endemic area, based on its efficacy, toxicity, difficulties of administration and cost. Given the problems and limitations of the use of pentavalent antimonials (Sb5+) at 20 mg Sb5+ / kg / day, less toxic alternative regimens, i.e. 5 mgSb5+/kg/day and intralesional therapy, deserve to be better evaluated. The



treatment of ATL must heal skin lesions and prevent late mucosal lesion development. The indication of high doses of Sb5+ is based on the evidence that there could be induction of resistance with use of subdoses. However, clinical studies with extended follow-up in Rio de Janeiro have suggested that regular low doses (5mg Sb5+ / kg / day) in a systemic way as well as intralesional therapy with meglumine antimoniate may constitute effective schemes, achieving cure rates similar to higher doses, with lower toxicity, ease of implementation and lower cost. Published studies on efficacy and safety of alternative schemes with meglumine antimoniate failed to provide conclusive results, for various methodological biases. The need to compare the effectiveness and safety between treatment schemes with meglumine antimoniate currently recommended in Brazil for the treatment of ATL and alternative schemes with low doses of antimony is the motive for this study in Rio de Janeiro.

Condition	Intervention	Phase
Cutaneous Leishmaniasis	Drug: Meglumine antimoniate	Phase 2/Phase 3

Study Type: Interventional

Study Design: Treatment, Parallel Assignment, Single Blind (Caregiver), Randomized, Safety/Efficacy Study

Official Title: Phase III Clinical Trial for American Tegumentary Leishmaniasis: Equivalence Between the Standard and Alternative Schemes With Meglumine Antimoniate

Further study details as provided by ASchubach, Oswaldo Cruz Foundation:

Primary Outcome Measure:

- Effectiveness of meglumine antimoniate treatment [Time Frame: 6 years] [Designated as safety issue: No]  
To compare the effectiveness of meglumine antimoniate at a dose of 5 mg or 20 mg Sb5+ / kg / day in the treatment of patients with cutaneous leishmaniasis.

Secondary Outcome Measures:

- Safety of meglumine antimoniate treatment [Time Frame: 6 years] [Designated as safety issue: Yes]  
To compare the safety of meglumine antimoniate at a dose of 5 mg or 20 mg Sb5+ / kg / day in the treatment of patients with cutaneous leishmaniasis.

Estimated Enrollment: 264

Study Start Date: October 2008

Estimated Study Completion Date: July 2016

Primary Completion Date: June 2013

Arms	Assigned Interventions
Active Comparator: High dose High dose: 20 days of 20 mg/kg/day meglumine antimoniate	Drug: Meglumine antimoniate Meglumine antimoniate is stored and ministered under actual conditions employed by health services in Brazil. Each patient will be included in one of the treatment groups with meglumine antimoniate IM:  High dose: 20 days of 20 mg/kg/day antimoniate

Arms	Assigned Interventions
	<p>meglumine. Low dose: 30 days of 5 mg/kg/day antimoniate meglumine.</p> <p>Other Names: High dose Low dose</p>
<p>Experimental: Low dose Low dose: 30 days of 5 mg/kg/day meglumine antimoniate</p>	<p>Drug: Meglumine antimoniate Meglumine antimoniate is stored and ministered under actual conditions employed by health services in Brazil. Each patient will be included in one of the treatment groups with meglumine antimoniate IM:</p> <p>High dose: 20 days of 20 mg/kg/day antimoniate meglumine. Low dose: 30 days of 5 mg/kg/day antimoniate meglumine.</p> <p>Other Names: High dose Low dose</p>

1. Introduction. Pentavalent antimonials are first line drugs for the treatment of leishmaniasis. WHO and Brazilian Ministry of Health recommend treating patients with cutaneous leishmaniasis (CL) with doses of 20mg/kg/day, IM or IV, for three to four weeks. In the Reference Centre on Leishmaniasis - IPEC - FIOCRUZ, the dose of 5mg/kg/day IM has been effective and well tolerated in the treatment of CL. CL is treated for 30 continuous or intermittent days, in series of 10 days interspersed with periods of 10 days without medication, with a lower incidence of adverse effects and lower treatment dropout rates. The evolution of the lesions is usually similar to that observed with continuous treatment. In all cases patients should be monitored with clinical examination, electrocardiogram (EKG), blood count, liver, renal and pancreatic function tests. Some side effects can be observed, although they not necessarily lead to discontinuation of treatment. EKG most frequent abnormalities are heart rhythm and disturbances of ventricular repolarization: flattening or inversion of T wave and adjusted QT space widening.
2. Background: Ideally, the most appropriate antimoniate therapeutic regimens should be established for each area, based on their efficacy and toxicity, without ignoring the difficulties of administration and cost. The treatment of CL must achieve healing of skin lesions and prevention of late mucosal involvement. The recognition, recommendation and acceptance of new regimens should be preceded by demonstration of their superiority to currently recommended treatments. We aim to compare the effectiveness and safety among treatment schemes with meglumine antimoniate currently recommended in Brazil for the treatment of CL and the alternative scheme with low dose of antimony.
3. Objectives. 3.1. General Objective. To compare the effectiveness and safety of 20 days of 20 mg/kg/day meglumine antimoniate with 30 days of 5 mg/kg/day meglumine antimoniate in the treatment of patients with CL.  
  
3.2. Specific Objectives. 3.2.1. To evaluate non-inferiority of low dose group as compared to the high dose antimonial therapy for CL.

3.2.2. To compare the effectiveness immediately and up to two years after treatment, of the different groups of antimonial therapy for CL.

3.2.3. To compare the frequency and severity of clinical, laboratory and EKG adverse events between different antimonial treatment groups.

3.2.4. To compare the frequency and severity of adverse events between elderly and young people among the groups.

3.2.5. To compare the frequencies of epithelialization achieved on days 20, 30 and 50 of treatment in each patient.

3.2.6. To compare the time in days up to the epithelialization of the lesions according to location above and below the knees, controlling for concomitant vascular insufficiency.

#### 4. Subjects and methods.

4.1. Study design: Controlled clinical trial with standard treatment, randomized, single-blind, phase III.

4.2. Description of interventions: Meglumine antimoniate (Aventis, São Paulo, Brazil) is stored and ministered under actual conditions employed by the health services in Brazil. Each patient will be included in one of two treatment groups with meglumine antimoniate IM: a) 20 days of 20 mg/kg/day meglumine antimoniate, b) 30 days of 5 mg/kg/day meglumine antimoniate. There will be no cross-over between the groups for the purpose of this study. The data from those patients who require permanent discontinuation of a scheme will be assessed in the group that were randomized, ie, by modified intention to treat. Analysis will be performed by modified intention to treat and per protocol.

4.3. Sampling plan. 4.3.1 Sample size. The comparison of the effectiveness between the four schemes should reveal similar results for the following outcomes: a) frequency of good initial response; b) time (days) until the epithelialization of all lesions; c) time (days) to achieve the complete healing of all lesions; d) frequency of late response (two years of follow-up according to schedule); e) frequency of reactivation after treatment (up to 2 years of follow-up). With a significance level of 5% and 80% power to calculate the sample sizes to compare the groups; initially, a 60-total of patients will be required for non-inferiority analysis with a margin of 15%. For equivalence analysis, a 264-total of patients will be required.

4.4 Allocation strategy (randomization). Individuals eligible (see eligibility criteria) and who agree to participate (by signing an informed consent) will be randomly assigned to one of two treatment groups, according to order of arrival until the completion of the total groups.

4.5. Eligibility Criteria (see item: Eligibility Criteria). 4.6. Outcomes. 4.6.1 Effectiveness outcomes: Definition. a) Initial therapeutic response - presence or no of complete epithelialization of all lesions until day 110. b) Late therapeutic response - the presence or no of the following elements in the progression to healing: - disappearance of crusts until day 140; -disappearance of desquamation until day 230; - disappearance of infiltration until day 320; -disappearance of erythema until day 410; - no appearance of mucosal damage until day 770; - recurrence of any stage prior to that achieved and maintained in two observations with an interval of at least two weeks. 4.6.2 Safety outcomes (adverse events): definition, intensity and relationship to study drug. An adverse event (AE) is any effect, adverse or unexpected, evidenced by the investigator or reported by patients, beginning during the drug use or until 30 days after stopping it. The investigation of AE shall be made for both spontaneous recall and question by the physician according to a standardized form on days 10, 20, 30, 50, 60 and 80. The classification of the severity of adverse events (clinical, laboratory and electrocardiographic) will take place according to "AIDS Table for Grading Severity of Adult Adverse Experiences, 1992". The causal relationship to study drug (= AE) will

be evaluated by the investigator and classified as follows: a) Definite (Highly Likely); b) Probable; c) Possible; d) Remote (Probably not); e) Definitely not.

4.7. Management of adverse effects. The AE will be noted in the appropriate form and shall contain: a description of the adverse effect, its intensity, relation with the investigated drug, start date, completion date, duration and conduct taken.

4.8. Masking. We chose to perform the measurements of outcomes of interest (effectiveness) and adverse events (clinical) by a physician who is not aware of what is the regimen used by the patient. It is intended to minimize measurement biases of the different outcomes according to treatment regimen to which each patient belongs. The results of laboratory tests are provided by the clinical pathology laboratory without information about the treatment group. The manager of database preserves the secrecy of this information by coding the groups for analysis for the epidemiologist(s).

4.9. Criteria for definitive discontinuation of study treatment: a) Interrupt driven by clinical, laboratory or EKG AE Grade 4; b) Interruption exceeding 10 days attributed to clinical, laboratory or EKG adverse event Grade <3; c) Spontaneous cessation of the use of prescribed medication beyond five consecutive doses, due to fault of the administration (noncompliance).

4.10. Criteria for study withdrawal: a) definitive interruption of treatment; b) Pregnancy; c) introduction of immunosuppressive drugs or potentially toxic; d) intercurrent disease, unrelated to study drug, but with demonstrations equivalent or superior to clinical grade 3 AE; e) poor initial or late therapeutic response; f) patient withdrawal to continue the study.

4.11. Procedures for confidentiality break. The randomization codes used for allocation of numbering and allocation of patients may be revealed in cases of necessity of the study.

4.12. Monitoring the study. The parameters (outcomes) of effectiveness and safety will be monitored according to the timetable for implementation. The principal investigator and coordinators will supervise the field work, controlling for quality deviation and this Protocol. Important items to be monitored: adherence to the Protocol (follow-up losses will be minimized through active search), appropriate records of outcomes and adverse events; adequacy of stored products; quality of procedures for laboratory tests; minimization of missing data; periodic transmission of data for data entry. Written reports of field will be retained for consideration by the committees. Report of serious adverse events to the CEP/IPEC and decision to interrupt the test. External Committee: a committee of outside monitoring of the trial shall be constituted, consisting of three members, experts in the treatment of CL and execution of clinical trials. The committee will carry out audits of documentation and activities relevant to the clinical trial, controlling for possible protocol breaks.

4.13 Control of storage of medications. The ampoules required for complete treatment of the whole sample will be stored in the Pharmacy of IPEC. A trained team professional will include the patients, in day 1 consultation, following the randomization list.

4.14. Data Analysis Plan. Data analysis will be carried out following the principle of intention to treat. The data from those patients who require permanent discontinuation of a scheme will be analyzed according to the group for what they had been allocated initially, not being re-assigned to another group to resumption of treatment (no cross-over between the groups for the purpose of this study). We will describe the simple frequencies of categorical variables and measures of central tendency and dispersion of continuous quantitative variables for each antimony scheme. The proportion of dichotomous outcome of presence or absence of scarring in each group will be compared to the standard (chi-square) and through analysis of survival the time in days until reaching healing (log-rank statistic). The healing frequencies are compared by ratio test type chi-square, the

median time to healing through comparison test of means (Student's t type) three or more (ANOVA) and survival analysis for outcomes that involve time in days, if necessary will be used nonparametric tests. To evaluate the efficacy and safety are also estimated the relative risk (RR) and the absolute risk reduction (ARR) and relative risk reduction (RRR). For paired comparison of proportions of healing on days 20, 30 and 50 will be employed the Mann-Whitney test 5. Ethical considerations. 6.1 Risks and benefits. The main potential benefit of this test is the possibility of subsidizing the use of lower doses of antimony, potentially less toxic and less costly. The risks consist of general adverse events, which will be thoroughly scrutinized and treated according to the schedule attached. This project was submitted to the Research Ethics Committee (CEP/IPEC) and CONEP. All patients sign an informed consent. This project follows the recommendations contained in the resolution 196/96 of the National Health Council.

5.2. Informed consent. In plain language and explaining the objectives, risks, benefits and identifying those responsible for research.

6. Expected Results. We hope that low dose is non inferior to the high dose antimonial treatment and that the different schemes are equivalent in effectiveness, and with diverse toxicities.

7. Financial support. This project is supported in part with funds approved by MCT/CNPq / MS-SCTIE-DECIT 25/2006.

## ► Eligibility

Ages Eligible for Study: 13 Years and older

Genders Eligible for Study: Both

Eligibility Criteria.

Inclusion criteria:

1. Cutaneous leishmaniasis with parasitological diagnosis by one or more of the following methods: direct examination (scraping or imprint), histopathology, culture, immunohistochemistry, or PCR.
2. History of exposure in an endemic area of Rio de Janeiro
3. Absence of prior treatment with meglumine antimoniate

Exclusion criteria:

1. women who do not use contraceptives or do it inadequately
2. pregnant
3. under 13
4. prior treatment with meglumine antimoniate
5. use of immunosuppressive therapy (steroids, cancer chemotherapy) or medicines for tuberculosis or leprosy.
6. presence of changes in baseline clinical adverse effect level equivalent to > G3
7. presence of changes in baseline laboratory adverse effect level equivalent to > G2
8. presence of baseline electrocardiographic changes equivalent to an adverse effect level > G4 and / or baseline QTc > 0.46 ms (equivalent to AS level G1).

## ► Contacts and Locations

## Contacts

Armando O Schubach, MD., (55)(21)38659673 armando.schubach@ipec.fiocruz.br  
 PhD  
 Maria Inês F Pimentel, MD., (55)(21)38659541 vigileish@ipec.fiocruz.br  
 PhD

## Locations

### Brazil

Oswaldo Cruz Foundation - IPEC/FIOCRUZ Recruiting  
 Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

## Investigators

Study Director: Armando O. Schubach, MD, PhD IPEC/FIOCRUZ

## ► More Information

Oswaldo Cruz Foundation is responsible for a range of activities which include research development; production of vaccines, drugs, reagents, etc; quality control of products and services; education and the implementation of social programs.

<http://www.fiocruz.br>

Evandro Chagas Clinical Research Institute (IPEC), FIOCRUZ

<http://www.ipec.fiocruz.br>

### Publications:

Antezana G, Zeballos R, Mendoza C, Lyevre P, Valda L, Cardenas F, Noriega I, Ugarte H, Dedet JP. Electrocardiographic alterations during treatment of mucocutaneous leishmaniasis with meglumine antimoniate and allopurinol. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1992 Jan-Feb;86(1):31-3.

de Azeredo-Coutinho RB, Mendonça SC. An intermittent schedule is better than continuous regimen of antimonial therapy for cutaneous leishmaniasis in the municipality of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2002 Sep-Oct;35(5):477-81.

Chulay JD, Spencer HC, Mugambi M. Electrocardiographic changes during treatment of leishmaniasis with pentavalent antimony (sodium stibogluconate). *Am J Trop Med Hyg.* 1985 Jul;34(4):702-9.

Deps PD, Viana MC, Falqueto A, Dietze R. [Comparative assessment of the efficacy and toxicity of N-methyl-glucamine and BP88 sodium stibogluconate in the treatment of localized cutaneous leishmaniasis] *Rev Soc Bras Med Trop.* 2000 Nov-Dec;33(6):535-43. Portuguese.

Hepburn NC, Nolan J, Fenn L, Herd RM, Neilson JM, Sutherland GR, Fox KA. Cardiac effects of sodium stibogluconate: myocardial, electrophysiological and biochemical studies. *QJM.* 1994 Aug;87(8):465-72.

Hepburn NC, Siddique I, Howie AF, Beckett GJ, Hayes PC. Hepatotoxicity of sodium stibogluconate therapy for American cutaneous leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1994 Jul-Aug;88(4):453-5.

Marzochi MC, Marzochi KB. Tegumentary and visceral leishmaniases in Brazil: emerging anthroponosis and possibilities for their control. *Cad Saude Publica.* 1994;10 Suppl 2:359-75. Epub 2004 Mar 19.

McBride MO, Linney M, Davidson RN, Weber JN. Pancreatic necrosis following treatment of leishmaniasis with sodium stibogluconate. *Clin Infect Dis*. 1995 Sep;21(3):710. No abstract available.

Oliveira Neto MP, Schubach A, Araujo ML, Pirmez C. High and low doses of antimony (Sbv) in American cutaneous leishmaniasis. A five years follow-up study of 15 patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1996 Mar-Apr;91(2):207-9.

Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, da Costa SC, Pirmez C. Intralesional therapy of American cutaneous leishmaniasis with pentavalent antimony in Rio de Janeiro, Brazil--an area of *Leishmania (V.) braziliensis* transmission. *Int J Dermatol*. 1997 Jun;36(6):463-8.

Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, Goncalves-Costa SC, Pirmez C. A low-dose antimony treatment in 159 patients with American cutaneous leishmaniasis: extensive follow-up studies (up to 10 years). *Am J Trop Med Hyg*. 1997 Dec;57(6):651-5.

Oliveira-Neto MP, Schubach A, Mattos M, Goncalves-Costa SC, Pirmez C. Treatment of American cutaneous leishmaniasis: a comparison between low dosage (5 mg/kg/day) and high dosage (20 mg/kg/day) antimony regimens. *Pathol Biol (Paris)*. 1997 Jun;45(6):496-9.

Ribeiro AL, Drummond JB, Volpini AC, Andrade AC, Passos VM. Electrocardiographic changes during low-dose, short-term therapy of cutaneous leishmaniasis with the pentavalent antimonial meglumine. *Braz J Med Biol Res*. 1999 Mar;32(3):297-301.

Rodrigues ML, Costa RS, Souza CS, Foss NT, Roselino AM. Nephrotoxicity attributed to meglumine antimoniate (Glucantime) in the treatment of generalized cutaneous leishmaniasis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1999 Jan-Feb;41(1):33-7.

Sampaio RN, de Paula CD, Sampaio JH, Furtado Rde S, Leal PP, Rosa TT, Rodrigues ME, Veiga JP. [The evaluation of the tolerance and nephrotoxicity of pentavalent antimony administered in a dose of 40 mg Sb V/kg/day, 12/12 hr, for 30 days in the mucocutaneous form of leishmaniasis] *Rev Soc Bras Med Trop*. 1997 Nov-Dec;30(6):457-63. Portuguese.

Schubach Ade O, Marzochi KB, Moreira JS, Schubach TM, Araújo ML, Vale AC, Passos SR, Marzochi MC. Retrospective study of 151 patients with cutaneous leishmaniasis treated with meglumine antimoniate. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005 May-Jun;38(3):213-7. Epub 2005 May 4.

Sharquie KE. A new intralesional therapy of cutaneous leishmaniasis with hypertonic sodium chloride solution. *J Dermatol*. 1995 Oct;22(10):732-7.

Veiga JP, Wolff ER, Sampaio RN, Marsden PD. Renal tubular dysfunction in patients with mucocutaneous leishmaniasis treated with pentavalent antimonials. *Lancet*. 1983 Sep 3;2(8349):569. No abstract available.

Responsible Party: ASchubach, Senior Researcher, Oswaldo Cruz Foundation

Study ID Numbers: low dosage CL

Health Authority: Brazil: Ministry of Health  
Brazil: Ethics Committee