Eumicetoma: actualidades y perspectivas

Roberto Arenas¹, M.^a Elisa Vega-Mémije² y Lucía Rangel-Gamboa^{2*}

¹Sección de Micología Médica; ²Subdirección de Investigación Biomédica. Hospital General Dr. Manuel Gea González, Ciudad de México, México

Resumen

El eumicetoma es una infección fúngica cutánea grave, crónica y progresiva. La tríada clásica incluye aumento de volumen, fístulas y exudado que contiene agregados fúngicos, denominados «granos». Afecta cualquier topografía y puede progresar con afección de músculos, huesos e incluso vísceras. Se encuentra en países tropicales y subtropicales. En Latinoamérica es menos frecuente. En las zonas endémicas, la presencia de anticuerpos contra los agentes etiológicos fue alta en la población, comparada con el número de personas infectadas, lo que hizo suponer que existen individuos con susceptibilidad genética; se asociaron polimorfismos específicos en los genes CR1, IL-8, NOS2 y quitotriosidasa con eumicetoma. El diagnóstico se basa en la presentación clínica; los estudios anatomopatológico, microbiológico y radiológico confirman el diagnóstico. *Madurella mycetomatis* es el agente causal más frecuente; utilizando la filogenia molecular se encontraron nuevas especies en el género *Madurella* y se reclasificaron los agentes causales *Trematosphaeria grisea* y *Pseudallescheria boydii*. El tratamiento incluye cirugía y antifúngicos sistémicos. Es importante el reconocimiento del agente etiológico, ya que existen diferencias en la sensibilidad a los antifúngicos. Para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas es necesario estudiar los mecanismos de formación del grano y las respuestas farmacológicas a los agentes antifúngicos.

PALABRAS CLAVE: Eumicetoma. Pie de Madura. *Madurella*. *Trematosphaeria*. *Pseudallescheria*.

Abstract

The eumycetoma is a severely debilitating chronic progressive fungal cutaneous infection. Classic clinical triad is characterized by painless subcutaneous mass, sinus tracts formation and sero-purulent discharge that contain aggregates of fungal hyphae called grains. Any part of the body can have affected, with extension to muscular or bone, even visceral compromised. The eumycetoma is observed in tropical and subtropical countries; In Latin-America, is reported with less frequency. In endemic areas, antibody presence against etiological agents were higher compared with number of people affected, thus it is supposed that individual genetic susceptibility must exist. Recently, it was reported specific polymorphism in genes CR1, IL-8, NOS2 and chitinase, which were associated with development of eumycetoma. The diagnosis is suggested by clinical presentation; the histopathology and microbiology studies, plus radiologic valuation confirmed diagnosis. *Madurella mycetomatis* is the most informed etiological agent. Using phylogenetic tools new species in genus *Madurella* were reported; moreover, *Trematosphaeria grisea* and *Pseudallescheria boydii* were reclassified. Etiological agent Identification is important, because differences in antifungal susceptibility exist. Eumycetoma treatment includes surgery plus antifungal drugs. Identification of etiological agents is primordial, because antifungal resistance could exist. To development new pharmacological strategies, comprehension of grain formation physiology and drugs effects are necessary.

KEY WORDS: Eumycetoma. Madura foot. *Madurella*. *Trematosphaeria*. *Pseudallescheria*.

Correspondencia:

Lucía Rangel-Gamboa
Calzada de Tlalpan, 4800
C.P. 14080, Ciudad de México, México
E-mail: draluciarangel@yahoo.com.mx

Fecha de recepción: 05-10-2016
Fecha de aceptación: 06-12-2016
DOI://dx.doi.org/10.24875/GMM.17002917

Gac Med Mex. 2017;153:841-851
Contents available at PubMed
www.gacetamedicademexico.com

Introducción

El micetoma es una enfermedad infecciosa crónica, subcutánea, de tipo granulomatoso, endémica en regiones tropicales y subtropicales, que puede ser causada por más de 56 microorganismos diferentes, incluyendo bacterias, denominándose entonces actinomietoma, y hongos, denominándose entonces eumietoma¹. En esta revisión nos centraremos en el eumietoma. La tríada clínica característica está constituida por aumento de volumen poco doloroso inicialmente, formación de fístulas y exudado purulento o seropurulento que contiene «granos». Se puede extender e involucrar estructuras profundas, resultando en destrucción, deformidad y pérdida de la función, llegando en algunas ocasiones a ser fatal. El pie es la topografía más comúnmente afectada, representando el 82% de los casos (Figs. 1 y 2). Se puede presentar en otras localizaciones, como las rodillas, los brazos y las piernas, la cabeza y el cuello, e incluso los glúteos y el periné. Es más frecuente en los hombres, adultos jóvenes, entre los 20 y los 40 años de edad. Los niños pueden también afectarse hasta en el 30% de los casos². Muchos de los pacientes son campesinos u obreros de bajo nivel socioeconómico. Una característica distintiva del micetoma es la formación de los elementos parasitarios

llamados «granos», que están constituidos por los microorganismos, probablemente como parte de un mecanismo de defensa contra el sistema inmunitario del hospedero³. Dado que una diversidad de microorganismos puede producir la enfermedad, se encuentra una gran variación morfológica en las características de los granos, que se relacionan con el agente causal.

Método

Se realizó una búsqueda en revistas internacionales indexadas utilizando la base de datos PudMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), y la palabra «Eumietoma», de los artículos publicados del 1 de enero del año 2000 al 15 de junio del año 2016, y se incluyeron adicionalmente otros artículos relacionados con temas específicos que no aparecieron en la búsqueda.

Objetivo

Analizar la información reciente de manera que permitiera la realización de una revisión completa del tema, incluyendo los aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos y terapéuticos, los modelos de investigación y las perspectivas de interés para médicos generales, dermatólogos y micólogos.

Figura 1. Imágenes clínicas. En todas las lesiones se observa aumento de volumen, formación de fístulas y exudado. **A y B:** las flechas señalan los granos negros. **C:** múltiples granos visibles fácilmente. **B y C:** lesiones de larga evolución, donde el aumento de volumen y la fibrosis ocasionan deformidad.

Figura 2. Cultivos. **A y B:** *Trematosphaeria grisea*. **B:** se observan esclerocios incipientes. **C:** *Pseudallescheria boydii* complex.

Resultados

Se encontraron 56 artículos, de los cuales se presenta a continuación un resumen de sus hallazgos más relevantes y se citan adicionalmente 16 artículos que contienen información asociada y notable.

Datos históricos

El término «micetoma» deriva del griego *mykes* (hongo) y *oma* (tumor). En la India, *Atharva Veda* lo menciona como *pada valmikan*, que significa «pie de hormiguero»⁴; sin embargo, la primera descripción oficial del micetoma, en 1842, se atribuye al Dr. John Gill, quien reportó el «pie de Madura» en la India. Posteriormente, Colebrook, desde el mismo centro de salud pública, describió más casos y lo señaló como una enfermedad distintiva de la región. Entre 1860 y 1874, Vandyke Carter mencionó inicialmente el daño causado tanto a los tejidos blandos como a los huesos, y posteriormente detalló la presencia de estructuras fúngicas en los granos obtenidos del área afectada. A principios del siglo XX, Pinoy clasificó los casos de acuerdo con el microorganismo causante⁵. En México, en 1963 Latapi identificó los granos en los eumicetomas humanos, descritos originalmente en actinomicosis del ganado por Bollinger en el siglo XIX⁶.

Epidemiología

El eumicetoma presenta una distribución global; se encuentra en áreas áridas con cortas temporadas de lluvia, en países con climas tropicales o subtropicales, ubicados entre los trópicos de Cáncer y Capricornio, en la zona denominada cinturón del micetoma, y predomina en el oeste de África, entre Senegal y Sierra Leona, destacando Sudán como área endémica⁷. En el continente asiático se reporta con mayor frecuencia en la India y Yemen⁸, mientras que en Latinoamérica su frecuencia es menor comparada con la del actinomicetoma y se presenta principalmente en México, Guatemala y Venezuela⁹⁻¹¹. En México, los eumicetomas representan el 3.48 al 7.88% y los actinomicetomas entre el 96.52 y el 92.12%^{12,13}. En una revisión de 3933 casos de micetoma en la República Mexicana, que correspondieron a una incidencia de 73 casos nuevos por año, se encontraron 137 eumicetomas, señalándose que *Madurella grisea* (n = 39) tiene una frecuencia ligeramente superior a *Madurella mycetomatis* (n = 36), que es el agente causal más frecuente

en el mundo¹³. En Europa e Israel, los procesos de migración de población originaria de áreas endémicas han incrementado el número de casos reportados en los últimos años^{14,15}. En las áreas endémicas se presenta con mayor frecuencia en personas de bajo estrato socioeconómico que caminan descalzas o con zapatos abiertos. En estas referencias, el micetoma predominó en el sexo masculino con una relación 4:1, probablemente por estar más expuestos a actividades laborales como la agricultura. La enfermedad es rara en los niños, pero en países endémicos, como Sudán, se han reportado numerosos casos infantiles². El eumicetoma, aunque predomina en los humanos, no es exclusivo de ellos y se ha reportado en otras especies como perros, caballos e incluso búfalos¹⁶.

Presentación clínica

El padecimiento que se describe se presenta en la piel y el tejido celular subcutáneo, pero puede igualmente comprometer la fascia muscular, los tendones, los músculos y los huesos. Los miembros inferiores (Fig. 1), seguidos de los superiores, son las regiones más afectadas; sin embargo, se ha reportado en el tórax, la pared abdominal, la mandíbula, los senos paranasales, la órbita, los párpados, el cráneo y el sistema nervioso central, la vulva, el escroto y las incisiones quirúrgicas¹⁷⁻¹⁹. Las lesiones se caracterizan por aumento de volumen, que puede estar acompañado por la presencia de fístulas y exudado seropurulento, de evolución lenta y progresiva durante meses o años²⁰. En las lesiones supurativas se pueden observar los granos a simple vista. Las lesiones se pueden agravar durante el embarazo por la inmunosupresión que acompaña a la gestación, así como por el efecto de los estrógenos sobre los hongos, que poseen receptores hormonales en su membrana²¹. En ausencia de diagnóstico y tratamiento apropiado, los eumicetomas producen morbilidad significativa, secundaria al progreso de la enfermedad, que puede generar las siguientes complicaciones: destrucción y deformidad ósea, obstrucción linfática, infección bacteriana secundaria, fracturas patológicas, compresión nerviosa y parálisis, osteopenia y osteoporosis.

Fisiopatología

Los agentes causales se encuentran en el medio ambiente, incluyendo el suelo, y por tanto muchas personas están expuestas. Sin embargo, la mayoría

no desarrolla micetoma, ya que es necesaria la introducción de material contaminado por medio de un traumatismo; en las áreas endémicas de Sudán, las espinas de acacia se han asociado con el desarrollo de la enfermedad²². Se consideran como factores importantes para el progreso de la enfermedad la cantidad del inóculo, la respuesta inmunitaria del huésped y el ambiente hormonal. Una vez que entra el agente infeccioso, facilitado por un traumatismo menor, se organiza formando granos dentro del hospedero. El grano consiste en un paquete denso de micelios fúngicos embebidos en un material con propiedades de cemento de color marrón a negro⁸. Los detalles de la composición química se desconocen, pero se sabe que contiene lípidos, proteínas, melanina tipo DHN, cobre, zinc y calcio. El sistema inmunitario intenta eliminar los granos produciendo citocinas y enzimas, incluyendo quitinasas. Se demostró que tanto la quitinasa AMCasa como la quitotriosidasa se unen a la quitina presente en él. Se identificó un polimorfismo en el gen de la quitotriosidasa, cuyo fenotipo se manifiesta en inactividad enzimática, y este se asoció con un riesgo mayor de presentar micetoma por *M. mycetomatis*²³, lo que evidencia la susceptibilidad del huésped. Además, la participación eficiente del sistema inmunitario se sustentó con los estudios epidemiológicos en áreas endémicas, donde se reportó que hasta el 80% de los individuos presentan anticuerpos, siendo el número de enfermos comparativamente bajo. La evidencia señala que los pacientes que desarrollan la enfermedad presentan falla en la inmunidad innata^{24,25}. En pacientes infectados por *M. mycetomatis* se estudiaron varios genes involucrados en la función de los neutrófilos y se encontró desequilibrio de Hardy-Weinberg para polimorfismos de un nucleótido (SNP), en el receptor del complemento 1, interleucina 8 (IL-8) y sintasa del óxido nítrico tipo 2 (NOS2), que se correlacionan con una mayor expresión de IL-8 y una baja secreción de NOS2 en los pacientes, mientras que en los controles sanos se encontraron SNP que condicionan baja expresión de IL-8 y alta producción de NOS2²⁶. En general, la respuesta inmunitaria celular es importante para eliminar las infecciones fúngicas. Nasr, et al.²⁷ demostraron la participación de la inmunidad celular tipo Th-1 en pacientes con eumicetoma por *M. mycetomatis*, quienes presentaron niveles aumentados de citocinas tipo Th-1 (interferón gamma, factor de necrosis tumoral alfa, IL-1 β e IL-2) en comparación con controles sanos.

Diagnóstico

Para el diagnóstico es importante la presentación clínica, y como puede ser difícil, especialmente en las lesiones iniciales con pocos datos clínicos (minimicetoma), son indispensables estudios complementarios tanto micológicos como de gabinete. En lesiones de larga evolución, con frecuencia los granos pueden observarse a simple vista cuando se obtiene el exudado purulento de una fistula. Los granos pueden ser negros si son causados por *M. mycetomatis*, *Trematosphaeria grisea*, *Falciformispora senegalensis* (antes *Leptosphaeria senegalensis*), *Falciformispora thompkinsii*, *Exophiala jeanselmei*, *Pyrenochaeta romeroi*, *Curvularia lunata* y *Phialophora verrucosa*, entre otros agentes; o blancos si son ocasionados por *Scedosporium apiospermum*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium* sp., *Acremonium* sp., *Nostedina rosatti* y *Microsporum audouinii*, entre los más frecuentes⁶. Los actinomicetomas pueden producir granos, comúnmente de color rojo o amarillo, pero también pueden producir granos blancos, por lo que el diagnóstico microbiológico es fundamental para diferenciar entre eumicetoma y actinomicetoma²⁸. Con objeto de comprobar la presencia del agente causal debe realizarse un examen directo, así como la toma de exudado purulento para cultivo. El material tomado de la lesión se coloca en un portaobjetos, se agrega una gota de Lugol, solución salina o hidróxido de potasio al 10%, y se coloca el cubreobjetos. Las características de los granos pueden orientar el diagnóstico etiológico. En caso de que existan fístulas, el cultivo puede realizarse de las secreciones obtenidas; de lo contrario, se obtiene por aspiración en lesiones cerradas (eumicetomas crípticos) o a partir de tejidos conseguidos por biopsia incisional. Para el crecimiento en cultivo deben usarse dos temperaturas: a 26 °C para descartar a los dermatofitos, agentes causales poco frecuentes de eumicetoma, y a 37 °C para permitir el aislamiento de la mayoría de los patógenos humanos. Los cultivos deben mantenerse hasta por 6 semanas, ya que algunos agentes, como *M. mycetomatis*, son de crecimiento muy lento. El cultivo en medios para bacterias está indicado con objeto de hacer el diagnóstico diferencial con los actinomicetomas⁶. Pese a todos los cuidados, no siempre es posible la identificación de género y especie del agente causal, ya que los cultivos pueden estar contaminados con bacterias o ser negativos. Cuando el cultivo es positivo debe ser evaluado por una

Tabla 1. Clasificación taxonómica actual de las especies más frecuentes causantes de eumicetoma

División	Subdivisión	Clase	Subclase	Orden	Familia	Género	Especie
Ascomycota	Pezizomycotina	Sordariomycetes	Sordariomycetidae	Sordariales		<i>Madurella</i>	<i>mycetomatis</i> <i>pseudomycetomatis</i> <i>fahalii</i>
		<i>Dothideomycetes</i>	<i>Pleosporomycetidae</i>	<i>Pleosporales</i>	<i>Melanommataceae</i>	<i>Trematosphaeria</i>	<i>grisea</i>
		<i>Sordariomycetes</i>	<i>Hypocreomycetidae</i>	<i>Microascales</i>	<i>Microascaceae</i>	<i>Pseudallescheria</i> <i>Scedosporium</i>	<i>boydii</i> <i>apiospermum</i>

Información obtenida de Mycobank: <http://www.mycobank.org/quicksearch.aspx>

persona experta, pues la identificación de las estructuras fúngicas es compleja^{1,2,9}.

A continuación mencionamos las características de los granos y los cultivos de las especies reportadas con más frecuencia en todo el mundo.

Madurella mycetomatis

Es la especie más reportada. Al examen directo macroscópico, los granos son negros, globosos o lobulados, de 0.5 a 5 mm, y puede observarse uno o más. Al microscopio, los granos se observan de color marrón rojizo, y las hifas que los constituyen se presentan de color marrón. En la observación macroscópica del cultivo, la colonia es grisácea, membranosa, y posteriormente se puede observar de color amarillo-marrón con pigmento oscuro en el centro. Crece a 26 °C, y de manera óptima a 30 °C. Microscópicamente presenta conidia piriformes de 3.5 a 5 µm, que se originan de conidióforos simples o ramificados. En medio de harina de maíz puede desarrollar microconidia²⁹.

Madurella pseudomycetomatis*, *Madurella tropica* y *Madurella fahalii

Estas especies, de reciente descripción, deben diferenciarse de *M. mycetomatis*. Son hongos dematiáceos que fallan en producir conidios o ascosporas, y por definición pertenecen al género *Madurella*. Producen colonias de color marrón grisáceo; al reverso se observa pigmento de color naranja, marrón o gris. Microscópicamente se aprecian hifas septadas estériles, pigmentadas, que pueden producir clamidosporas. Presentan crecimiento óptimo a 30 °C. Los teleomorfos se desconocen. *Madurella fahalii* se diferencia por no presentar pigmento difusible. Estas especies se identifican por biología molecular utilizando la secuencia ITS, el gen de la beta tubulina y el gen de la subunidad II de la RNA polimerasa³⁰.

***Trematosphaeria grisea* (antes *Madurella grisea*) (Tabla 1)**

En el paciente presenta granos negros, globosos o lobulados, de 0.5 a 1 mm de diámetro, que pueden ser inicialmente blandos y posteriormente pétreos. En el cultivo, las colonias presentan crecimiento óptimo a 27-30 °C (máximo 40 °C), y pueden desarrollar pigmento marrón rojizo (Fig. 2 a y b). Microscópicamente se observan hifas septadas, hialinas o marrones, de 1 a 3 µm, con paredes gruesas. Los conidios miden 2-4 µm. Los conidióforos son hialinos y cortos. Los aislados del medio ambiente pueden desarrollar *pycnidium* (cuerpo fructífero asexual) después de 8 semanas de incubación, los cuales se observan como pequeños puntos negros con gotitas blancas sobre la cima del cultivo. La forma sexual se desconoce³¹.

***Pseudallescheria boydii*/Scedosporium apiospermum complex**

Hasta hace poco, *Pseudallescheria boydii* y *Scedosporium apiospermum* se consideraban los estados teleomorfo (sexual) y anamorfo (asexual), respectivamente, del mismo hongo, pero en la actualidad se reclasifican como especies diferentes: *S. apiospermum*, cuyo teleomorfo heterotático se denomina *Pseudallescheria apiosperma*, mientras que el teleomorfo homotático de *Scedosporium boydii* es *Pseudallescheria boydii* (Tabla 1). Para la diferenciación son necesarias las secuencias de la región ITS, el gen de la beta tubulina y la calmodulina^{32,33}.

El agente causal de eumicetoma reportado con mayor frecuencia en Europa es *S. apiospermum*, en especial en inmunosuprimidos¹⁴. En los pacientes infectados, los hongos de este complejo producen granos de color blanco amarillento, lobulados o globosos, de 1 a 2 mm de diámetro. Crece rápidamente en agar de Sabouraud-glucosa a 25 °C, pero puede tolerar los

Figura 3. Imágenes histológicas de un grano producido por *P. boydii* complex. **A:** tinción de H&E en la que se observa un grano blanco multi-lobulado (10x). **B:** destacan el infiltrado inflamatorio y la formación de fistulas. **C y D:** tinciones especiales PAS y Gomori Grocott (respectivamente) en las que se observan las hifas en el interior del grano.

37 °C e incluso hasta 42 °C. Las colonias inicialmente blancas se tornan de color gris oscuro o marrón ahumado en la superficie, mientras que el reverso se observa con zonas pardas o negras. Microscópicamente presenta hifas hialinas, flexuosas, de 2 a 5 µm, y conidias pigmentadas de color marrón. Los teleomorfos se desarrollan en agar harina de maíz o agar dextrosa-papa, y presentan ascas ovoides o globosas que contienen ocho ascosporas. Cuando la pared del asca se rompe, libera ascosporas elípticas, oscuras, de 4 a 8 µm de diámetro³¹⁻³³.

Diagnóstico histopatológico

El estudio anatomopatológico se considera el siguiente paso cuando el examen directo falla⁶. De forma característica se observan granos rodeados por un granuloma de tipo supurativo, localizado en la dermis o en el tejido celular subcutáneo. Alrededor de la zona de supuración se encuentran histiocitos en empalizada; en el exterior de esta empalizada puede observarse un infiltrado inflamatorio mixto compuesto por neutrófilos, linfocitos, células plasmáticas e histiocitos, acompañado de fibrosis progresiva. Las tinciones especiales, como Gomori Grocott, el ácido peryódico de Schiff (PAS) y la tinción de Gram, pueden ayudar a distinguir las variedades de los granos. En los eumicetomas pueden observarse filamentos grandes segmentados de 2 a 4 µm de diámetro, con hifas abombadas en forma de bastón y clamidosporas (Figs. 3 y 4); esta imagen contrasta con la de los actinomicetomas, en los que se evidencian filamentos delgados grampositivos de 1 µm o menos de diámetro. En el caso específico de *M. mycetomatis* se describen granos de 0.5 a 3 mm, redondos, ovoides o trilobulados, constituidos por una zona central y una capa externa más compacta. Se describen dos tipos de granos

filamentosos y vesiculares. Los granos de *M. mycetomatis* teñidos con hematoxilina-eosina (H&E) contienen un material rosa homogéneo (tipo cemento), mientras que en la periferia se observan las hifas. Con la tinción de Fontana-Masson se demuestra la presencia de melanina en la periferia del grano y las hifas, que adquieren un color marrón negruzco (Fig. 5). También se ha comprobado la presencia de metales pesados, proteínas y lípidos en la estructura del grano, elementos que se considera impiden la penetración de los agentes antifúngicos^{34,35}.

Diagnóstico radiológico

Las técnicas de imagen se utilizan para determinar la extensión de las lesiones, ya que, como mencionamos previamente, el eumicetoma puede afectar los tejidos profundos e incluso los huesos (en especial, en las lesiones de larga evolución debe descartarse el compromiso óseo). La radiografía convencional puede ser útil para definir los límites de las lesiones y si existe afección ósea³⁶. Abd El Bagi³⁷ propuso una clasificación radiológica para definir el grado de afección de acuerdo con las alteraciones encontradas en las imágenes radiológicas; va del estadio 0, donde la lesión se limita al sitio de entrada, con inflamación de los tejidos blandos y sin compromiso óseo, al estadio VI, que presenta diseminación multidireccional con destrucción total de las estructuras óseas. Sin embargo, los cambios radiológicos solo son evidentes en la enfermedad avanzada, y con la radiografía simple no es posible determinar adecuadamente el compromiso de los tejidos blandos; además, el diagnóstico diferencial de las imágenes incluye la osteomielitis bacteriana, el sarcoma y los quistes óseos, entre otras patologías.

En el ultrasonido, la presencia de lesiones hipoechoicas que contienen pequeños focos hiperechoicos se

Figura 4. Imágenes histológicas de un grano producido por *Acremonium* sp. **A:** tinción de H&E en la que se observa un grano rodeado por infiltrado inflamatorio y formación de fistula (10x). **B:** a mayor aumento destacan los neutrófilos en el infiltrado inflamatorio (40x). **C:** tinción de PAS (10x). **D:** tinción de PAS en la que se aprecian las hifas en el interior del grano (40x).

Figura 5. Los granos de *M. mycetomatis* teñidos con la tinción de Fontana-Masson muestran melanina en su periferia, que presenta un color marrón negrozco.

considera característica del micetoma; se asocian a la presencia de granos, cápsula e inflamación periférica. En general, se visualizan mejor en el eumicetoma que en el actinomictoma, ya que este suele presentar menos fístulas, las cuales dificultan la señal de los ecos hiperreflectivos³⁸.

La resonancia magnética es una técnica no invasiva que facilita la visualización de los tejidos blandos y

de la destrucción ósea, por lo que tiene utilidad para valorar la extensión del micetoma. Los granos aparecen como lesiones de forma redonda, de baja intensidad, pequeñas, de 2 a 5 mm de diámetro (que recuerdan un punto), en conglomerados rodeados de un anillo de alta intensidad (semeja un círculo) que representa la reacción granulomatosa periférica. Esta imagen característica se denomina «punto en círculo»³⁹⁻⁴² y se reconoció posteriormente en imágenes obtenidas por ultrasonido, donde se observa como un área hiperecoica (punto) rodeada por tejido hipoecoico (círculo)^{43,44}. El Shamy, et al.⁴⁵ propusieron una escala para valorar la gravedad del micetoma utilizando los hallazgos en la resonancia magnética. Se evalúa el grado de afección en tres planos: piel, músculo y hueso. Los hallazgos cutáneos y subcutáneos incluyen destrucción de la piel, formación de absceso y fístulas con o sin presencia de granos. En el músculo se puede observar edema, formación de microabscesos y macroabscesos. En el hueso es posible encontrar edema de la médula ósea, cavitación y

destrucción del hueso. Las lesiones se clasifican como leves, moderadas o graves de acuerdo con la suma del puntaje obtenido en cada plano⁴⁵.

Diagnóstico molecular

El cultivo y las técnicas moleculares no están disponibles en general en las áreas endémicas; sin embargo, el tratamiento del eumicetoma puede variar dependiendo del agente causal, y en algunas ocasiones la identificación exacta solo puede lograrse con técnicas de identificación molecular. Las herramientas utilizadas incluyen la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polimerase chain reaction*), seguida por la secuenciación de la región de interés, como por ejemplo la región que comprende los genes ribosomales y las regiones intergénicas (ITS)⁴⁶. Los productos de PCR pueden utilizarse también para identificación por otras técnicas, menos sensibles, pero más económicas, como el polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP, *restriction fragment length polymorphism*)⁴⁷. Las versiones más recientes, como la PCR en tiempo real, igualmente se han empleado para identificar las especies causantes de eumicetoma utilizando muestras de tejido o aislados del medio ambiente^{48,49}. Recientemente se propusieron dos técnicas, la RPA (*recombinase polymerase amplification*) y la LAMP (*loop-mediated isothermal amplification*), las cuales se proponen como alternativas a los métodos fenotípicos. Los dos métodos demostraron alta especificidad y suficiente sensibilidad, siendo apropiadas para la detección de *M. mycetomatis*; sin embargo, la RPA es más sencilla y con mayor potencial para implementarse en áreas endémicas⁵⁰.

Otros genes utilizados para la identificación de especies fúngicas causantes de eumicetoma incluyen la beta tubulina, las subunidades grande y pequeña del RNA ribosomal nuclear (nucLSU y nucSSU, respectivamente), la segunda subunidad en tamaño de la RNA polimerasa y el factor de elongación 1 alfa⁵¹.

Avances en identificación y filogenia molecular

El empleo del diagnóstico molecular en filogenia y taxonomía evidenció errores en la clasificación de aislamientos previamente identificados con métodos tradicionales. Un análisis filogenético reciente demostró que *M. mycetomatis* y *M. grisea* pertenecen a

diferentes órdenes; en la actualidad, el género *Madurella* se encuentra constituido por *M. mycetomatis*, *M. pseudomycetomatis*, *M. tropica* y *M. fahalii*, que pertenecen al orden *Sordiales*, mientras que *M. grisea* es miembro de los *Pleosporales* y pasó a denominarse *Trematosphaeria grisea*^{29,30,52,53}. Además, cuatro cepas dematiáceas de micelio estéril CBS obtenidas de pacientes con micetoma, originalmente identificadas por métodos tradicionales como *M. mycetomatis*, mostraron diferencias significativas en la región ITS, demostrándose que representan especies diferentes; ninguna de estas cepas era originaria de África²⁸. Posteriormente se demostró la inclusión del género *Madurella* en la familia *Chaetomiaceae*; miembros de esta familia se encuentran frecuentemente en el estiércol y en el abono, por lo que se concluyó que el estiércol presente en las áreas endémicas puede ser un nicho para *Madurella* y desempeñar un papel primordial en la adquisición del eumicetoma⁵⁴.

La identificación molecular se emplea también para inferir datos ecológicos partiendo de las relaciones filogenéticas con especies de las cuales se posee más información. Se encontró que la mayoría de las cepas obtenidas de eumicetomas humanos corresponden a especies emparentadas con hongos marinos, lo que sugiere una asociación entre la virulencia y la halotolerancia³¹.

Métodos auxiliares

Métodos inmunológicos, como el ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), que detectan la presencia de anticuerpos específicos, se consideran métodos auxiliares; sin embargo, estos se utilizan más para estudios epidemiológicos que para diagnóstico clínico.

Otras herramientas para identificar el agente causal incluyen la inmunohistoquímica y el MALDI-TOF (*matrix assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry*); sin embargo, la complejidad y los costos de estas técnicas limitan su disponibilidad^{55,56}.

Diagnóstico diferencial

Muchas enfermedades infecciosas y no infecciosas pueden confundirse con el eumicetoma. La primera diferencia debe establecerse con los actinomicetomas, que en términos generales son más agresivos, producen mayor inflamación y fístulas, la diseminación a los vasos linfáticos es frecuente y el compromiso óseo es temprano, pero de cavidades pequeñas.

Por su parte, los eumicetomas producen pocas fístulas, el compromiso óseo suele ser tardío y con grandes cavidades, y la diseminación linfática es ocasional; en el estudio macroscópico, la lesión es bien definida y presenta cápsula¹. Sin embargo, la clínica no es suficiente para hacer la distinción entre estas patologías, por lo cual debe aislarse el microorganismo para confirmar la etiología del micetoma. Entre las enfermedades infecciosas deben considerarse como diagnósticos diferenciales la tuberculosis cutánea, las infecciones por micobacterias atípicas, la cromomycosis, la esporotricosis, la blastomycosis cutánea, la leishmaniasis, la hialohifomicosis, la botriomicosis y la celulitis. Las lesiones iniciales de eumicetoma también pueden confundirse con granulomas de cuerpo extraño y neoplasias diversas, tanto benignas como malignas⁶.

Tratamiento

El tratamiento de los eumicetomas incluye el desbridamiento de los tejidos afectados combinado con terapia antifúngica, usualmente durante un año, pudiendo prolongarse de 18 a 24 meses. Los azoles son los medicamentos más utilizados, por su disponibilidad y su bajo costo en comparación con otros antifúngicos. El itraconazol (400 mg/día) es considerado de primera elección, mientras que el ketoconazol (400-800 mg/día) es menos usado por su hepatotoxicidad. Sin embargo, se reportan altas tasas de resistencia a los tratamientos, con recurrencias del 20 al 90%⁵⁷. Esto pudiera estar en relación con la identificación, por métodos tradicionales, de diversas especies que poseen perfiles de resistencia antifúngica diferentes, como *M. mycetomatis*. Por ejemplo, *M. fahalii* (CBS 129176) presentó resistencia a 5-fluocitosina, fluconazol, itraconazol y caspofungina, y *M. tropica* (CBS 201.38) fue resistente a 5-fluocitosina y caspofungina^{29,30}. El uso de triazoles potentes de amplio espectro, como el posaconazol (200-800 mg/día) y el voriconazol, obtiene altas tasas de cura (80%) contra especies de *Madurella* y *S. apiospermum*, observándose remisión durante el seguimiento a 2 años tras el término del tratamiento, pero su alto costo impide su uso en las regiones endémicas⁵⁸⁻⁶¹. En el 20% de los casos que presentan resistencia, de acuerdo con las observaciones de Dupont, et al.^{62,63}, el diclofenaco (100 mg/día) puede ser un tratamiento concomitante eficaz; en el caso que reportan de eumicetoma por *M. mycetomatis* multiresistente se produjo mejoría clínica, radiológica y funcional al

adicionar el antiinflamatorio no esteroideo (AINE). En relación a esta observación clínica, encontramos que estudios *in vitro* e *in vivo* demostraron que otros AINE, como el ibuprofeno, potencian la actividad fungistática de los azoles; aunque el mecanismo de acción se desconoce por el momento, se considera que podría estar asociado con el efecto inhibitor del ibuprofeno sobre las bombas de transporte dependientes de ATP, mismas que se asocian a la resistencia fúngica⁶⁴. Por otra parte, estudios en *Candida albicans* demostraron que los AINE disminuyen la formación de biofilms, lo que favorece el acceso de los medicamentos al hongo⁶⁵. Además, en osteomielitis de origen bacteriano los AINE disminuyen el efecto citotóxico bacteriano sobre los osteoblastos⁶⁶.

Con respecto al uso de otros antifúngicos, *in vitro* la terbinafina sola o en combinación con ketoconazol o itraconazol no demostró un efecto sinérgico ni mejor respuesta en eumicetomas por *M. mycetomatis* que los azoles; y en infecciones por *S. apiospermum* y *S. boydii*, la terbinafina no mostró beneficios, por lo cual su uso no está indicado, al menos en la mayoría de los eumicetomas⁶⁷. En casos diseminados o que no responden al tratamiento inicial se utiliza la anfotericina B intravenosa, a dosis total de 2 a 4 g, sola o combinada con voriconazol o micafungina⁶⁸.

En conclusión, el mejor tratamiento para el eumicetoma incluye los antifúngicos más la cirugía; estos se indican antes y después de la escisión quirúrgica. Durante la cirugía, los nódulos subcutáneos deben eliminarse intactos para evitar la diseminación de los granos al tejido adyacente⁶⁹. La larga duración de los tratamientos, acompañado del bajo estrato socioeconómico al que pertenecen la mayoría de los pacientes, favorece el incumplimiento de los esquemas terapéuticos y por tanto la resistencia, lo que se refleja en una mayor probabilidad de complicaciones y tratamientos quirúrgicos radicales, como la amputación^{1,2}.

Modelos experimentales

Con objeto de desarrollar mejores estrategias terapéuticas se necesitan modelos de estudio que semejen el estado del agente infeccioso dentro del paciente. De forma similar a otros agentes fúngicos, los hongos causantes de eumicetoma producen una estructura de protección que rodea a la hifa. La presencia de granos es clave en el eumicetoma, pero la formación de estos y su sensibilidad a los antifúngicos aún no se comprenden a cabalidad. Esto es así en parte porque los granos no se pueden inducir *in vitro*, requiriéndose un

huésped mamífero para provocar su formación. En el pasado, ratones y monos se utilizaron para estimular la formación de granos simulando el micetoma por *M. mycetomatis*, requiriendo grandes concentraciones de inóculo, con tasas variables de éxito y dificultades en la reproducibilidad por otros autores. Cuando se obtuvo el grano en modelos animales, en el estudio histológico semejó al formado en el humano, caracterizado por micelios incluidos en un material de tipo cemento, rodeado por neutrófilos⁷⁰. Dado que tanto en los humanos como en los modelos animales se encuentran neutrófilos rodeando al grano, se considera que estas células son importantes en la formación del mismo. Sin embargo, en la actualidad no podemos considerar que los neutrófilos representen la única célula efectora involucrada, dado que la exposición de *M. mycetomatis* a los neutrófilos no produce la formación del grano en modelos *in vitro*. Como una alternativa para inducir la formación del grano se utilizó la larva de la polilla de la cera *Galleria mellonella*; los granos producidos en esta larva semejan los encontrados en humanos y mamíferos, y este modelo de infección podría utilizarse para el estudio de la formación del grano y las respuestas terapéuticas a los agentes antifúngicos en la infección por *M. mycetomatis*³.

Por último, otros hongos descritos en eumicetomas, como especies de *Aspergillus*, *Scedosporium* y *Fusarium*, también reconocidos como agentes causantes de infecciones oportunistas, se estudiaron utilizando *Drosophila melanogaster* como hospedero y se encontró que el tratamiento con voriconazol protege a las moscas de la infección, a excepción de las infectadas por *Scedosporium prolificans*, que no mostraron mejoría^{71,72}.

Conclusiones

Si bien el eumicetoma es de baja prevalencia en Europa y Latinoamérica, el conocimiento de esta micosis es primordial, ya que la ignorancia en el tema lleva al retraso en el diagnóstico correcto y al mal manejo de los pacientes, lo que constituye un problema de salud especialmente en las zonas rurales. Por otra parte, el actual proceso de migración humana de África a Europa probablemente incrementará la presencia de esta micosis en el Viejo Continente, por lo que se debe tener presente entre las posibilidades diagnósticas. La identificación correcta del agente causal es imperativa con objeto de iniciar el tratamiento apropiado. En la actualidad, las técnicas de biología molecular, como la PCR y la secuenciación,

permiten la correcta identificación cuando los métodos tradicionales fallan. Dada la presencia de cepas resistentes contra los agentes terapéuticos de primera línea, es importante la realización de pruebas de sensibilidad antifúngica.

Conflictos de intereses

Ninguno que declarar.

Bibliografía

1. Zijlstra EE, van de Sande WW, Welsh O, et al. Mycetoma: a unique neglected tropical disease. *Lancet Infect Dis*. 2016;16:100-12.
2. Fahal A, Mahgoub ES, El Hasan AM, et al. A new model for management of mycetoma in the Sudan. *PloS Negl Trop Dis*. 2014;8:e3271.
3. Kloezen W, van Helvert-van Poppel M, Fahal AH, et al. A *Madurella mycetomatis* grain model in *Galleria mellonella* larvae. *PloS Negl Trop Dis*. 2015;9:e0003926.
4. Estrada R, Chávez-López G, Estrada-Chavez G, et al. Eumycetoma. *Clin Dermatol*. 2012;30:389-396.
5. Rao KV, Praveen A, Megha S, et al. Atypical craniocerebral eumycetoma: a case report and review of literature. *Asian J Neurosurg*. 2015;10:56-9.
6. Nenoff P, van de Sande WW, Fahal AH, et al. Eumycetoma and actinomycetoma – an update on causative agents, epidemiology, pathogenesis, diagnostics and therapy. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;29:1873-83.
7. Samy AM, van de Sande WWJ, Fahal AH, et al. Mapping the potential risk of Mycetoma infection in Sudan and South Sudan using ecological niche modeling. *PloS Negl Trop Dis*. 2014;8:e3250.
8. Khatri ML, Al-Halali HM, Fouad-Khalid M, et al. Mycetoma in Yemen: clinicoepidemiologic and histopathologic study. *Int J Dermatol*. 2002;41:586-93.
9. Padin C, Fernández-Zeppenfeldt G, Yegres F, et al. *Scytalidium dimidiatum*: hongo oportunista para el hombre y árboles de *Mangifera indica* en Venezuela. *Rev Iberoam Micol*. 2005;22:172-3.
10. Queiroz-Telles F, Nucci M, Lopes-Colombo A, et al. Mycoses of implantation in Latin America: an overview of epidemiology, clinical manifestations diagnosis and treatment. *Med Myc*. 2011;49:225-36.
11. Schwartz E, Shapiro A. Madura foot or phloctetes foot? *Isr Med Assoc J*. 2015;17:442-4.
12. Bonifaz A, Tirado-Sánchez A, Calderón L, et al. Mycetoma: experience of 482 cases in a single center in Mexico. *PloS Negl Trop Dis*. 2014;8:e3102.
13. López-Martínez R, Méndez-Tovar L, Bonifaz A, et al. Actualización de la epidemiología del micetoma en México. Revisión de 3,933 casos. *Gac Med Mex*. 2013;149:586-92.
14. Bounfrate D, Gobbi F, Angheben A, et al. Autochthonous cases of mycetoma in Europe: report of two cases and a review of literature. *PloS One*. 2014;9:e100590.
15. Brufman T, Ben-Ami R, Mizrahi M, et al. Mycetoma of the foot caused by *Madurella mycetomatis* in immigrants from Sudan. *Isr Med Assoc J*. 2015;17:418-20.
16. Elad D, Blum S, Kol A, et al. Eumycetoma caused by *Madurella mycetomatis* in a mare. *Med Mycol*. 2010;48:639-42.
17. Ahmed M, Sureka J, Chacko G, et al. MRI findings in cranial eumycetoma. *Indian J Radiol Imaging*. 2011;21:261-3.
18. Elhardello OA, Adam ES, Adam I. Abdominal wall mycetoma presented as obstructed incisional hernia of cesarean section in Eastern Sudan. *Infect Dis Obst Gynec*. 2007;2007:74643.
19. Mirza SH, Gardezi AH, Khan Y, et al. Subcutaneous facial mycosis in a child due to *Madurella mycetomatis*. *J Pak Med Assoc*. 2007;57:466-8.
20. El Amrani F. Le pied de Madura. *Pan Afr Med J*. 2013;14:24.
21. Sampaio FM, Galhardo MC, de Farias-Cardoso R, et al. Eumycetoma on the foot caused by *Madurella mycetomatis*: amputation after significant worsening during pregnancy. *Acta Derm Venereol*. 2015;95:374-5.
22. Ahmed A, Adelman D, Fahal A, et al. Environmental occurrence of *Madurella mycetomatis*, the major agent of human eumycetoma in Sudan. *J Clin Microbiol*. 2002;40:1031-6.
23. Verwer PE, Notenboom CC, Eadie K, et al. A polymorphism in the chitotriosidase gene associated with risk of mycetoma due to *Madurella mycetomatis*. Mycetoma – a retrospective study. *PloS Negl Trop Dis*. 2015;9:e0004061.
24. Daoud M, Ezzine Sebai N, Badri T, et al. Mycetoma: retrospective study of 13 cases in Tunisia. *Acta Dermatovenereol Alp Pannonic Adriat*. 2005;14:153-6.

25. Kondori N, Baltzer L, Dolphin GT, et al. Fungicidal activity of human lactoferrin-derived peptides based on the antimicrobial $\alpha\beta$ region. *Int J Antimicrob Agents*. 2011;37:51-7.
26. Van de Sande WW, Fahal A, Verbrugh H, et al. Polymorphisms in genes involved in innate immunity predispose toward mycetoma susceptibility. *J Immunol*. 2007;179:3065-74.
27. Nasr A, Abushouk A, Hamza A, et al. Th-1, Th-2 cytokines profile among *Madurella mycetomatis* eumycetoma patients. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10:e0004862.
28. Hjiira N, Boudhas A, Al Bouzidi A, et al. Madura foot: report of a eumycetoma Moroccan case. *J Dermatol Surg*. 2015;19:143-5.
29. de Hoog GS, Adelmann D, Ahmed AO, et al. Phylogeny and typification of *Madurella mycetomatis*, with a comparison of other agents of eumycetoma. *Mycoses*. 2004;47:121-30.
30. de Hoog GS, van Diepeningen AD, Mahgoub ES, et al. New species of *Madurella*, causative agents of black grain mycetoma. *J Clin Microbiol*. 2012;50:988-94.
31. Ahmed SA, van de Sande WWJ, Stevens DA, et al. Revision of agents of black-grain eumycetoma in the order Pleosporales. *Persoonia*. 2014;33:141-54.
32. Cortez K, Roilides E, Quiroz-Telles F, et al. Infections caused by *Scedosporium* spp. *Clin Microb Rev*. 2008;21:157-97.
33. Gilgado F, Gené J, Cano J, et al. Heterothallicism in *Scedosporium apiospermum* and description of its teleomorph *Pseudallescheria apiosperma* sp. nov. *Med Mycol*. 2010;48:122-8.
34. Gulati V, Bakare S, Tibrewal S, et al. A rare presentation of concurrent *Scedosporium apiospermum* and *Madurella grisea* eumycetoma in an immunocompetent host. *Case Rep Pathol*. 2012;2012:154201.
35. Ibrahim AI, El Hassan AM, Fahal A, et al. A histopathological exploration of the *Madurella mycetomatis* grain. *PLoS One*. 2013;8:e57774.
36. Asly M, Rifaoui A, Bouyermane H, et al. Mycetoma (Madura foot): a case report. *Ann Phys Rehab Med*. 2010;53:650-4.
37. Abd El Bagi ME. New radiographic classification of bone involvement in pedal mycetoma. *AJR Am J Roentgenol*. 2003;180:665-8.
38. Van de Sande WWJ, Fahal AH, Goodfellow M, et al. Merits and pitfalls of currently used diagnostic tools in mycetoma. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8:e2918.
39. Cherian RS, Betty M, Manipadam MT, et al. The dot-in-circle sign – a characteristic MRI finding in mycetoma foot: a report of three cases. *Br J Radiol*. 2009;82:662-5.
40. Jain V, Makwana GE, Bahri N, et al. The “dot in circle” sign on MRI in maduramycosis: a characteristic finding. *J Clin Imaging Sci*. 2012;2:66.
41. Kumar J, Kumar A, Sethy P, et al. The dot-in-circle sign of mycetoma on MRI. *Diagn Interv Radiol*. 2007;13:193-5.
42. Sarris I, Berendt AR, Athanasous N, et al. MRI of mycetoma of the foot: two cases demonstrating the dot-in-circle sign. *Skeletal Radiol*. 2003;32:179-83.
43. Laohawiriyakamol T, Tanutit P, Kanjanapradit K, et al. The “dot-in-circle” sign in musculoskeletal mycetoma on magnetic resonance imaging and ultrasonography. *SpringerPlus*. 2014;13:671.
44. Parker L, Singh D, Biz C. The dot-in-circle sign in Madura foot. *J Foot Ank Surg*. 2009;48:690.e1-5.
45. El Shamy ME, Fahal AH, Shakir MY, et al. New MRI grading system for the diagnosis and management of mycetoma. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2012;106:738-42.
46. Mestre T, Vierira R, Coutinho J. Mycetoma of the foot – diagnosis of the etiologic agent and surgical treatment. *Am J Trop Med Hyg*. 2015;93:1-2.
47. Ahmed AA, Mukhtar M, Kools-Sijmons M, et al. Development of a species-specific PCR-restriction fragment length polymorphism analysis procedure for identification of *Madurella mycetomatis*. *J Clin Microbiol*. 1999;37:3175-8.
48. Ahmed AO, Desplaces N, Leonard P, et al. Molecular detection and identification of agents of eumycetoma: detail report of two cases. *J Clin Microbiol*. 2003;41:5813-6.
49. Year H, Bougnoux ME, Jeanrot C, et al. Mycetoma of the foot caused by *Fusarium solani*: identification of the etiological agent by DNA sequencing. *J Clin Microbiol*. 2003;41:1805-8.
50. Ahmed SA, van de Sande WW, Desnos-Ollivier M, et al. Application of isothermal amplification techniques for identification of *Madurella mycetomatis*, the prevalent agent of human mycetoma. *J Clin Microbiol*. 2015;53:3280-5.
51. El Muttardi N, Kulendre D, Jemec B. Madura foot – mind the soil. *J Plas Reconstr Aesthet Surg*. 2010;63:e576-8.
52. Van de Sande WWJ. Phylogenetic analysis of the complete mitochondrial genome of *Madurella mycetomatis* confirms its taxonomic position within the order Sordariales. *PLoS One*. 2012;7:e38654.
53. Yan J, Deng J, Zhou CJ, et al. Phenotypic and molecular characterization of *Madurella pseudomycetomatis* sp. nov., a novel opportunistic fungus possibly causing black-grain mycetoma. *J Clin Microbiol*. 2010;48:251-7.
54. de Hoog GS, Ahmed SA, Najafzadeh MJ, et al. Phylogenetic findings suggest possible new habitat and routes of infection of human eumycetoma. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7:e2229.
55. Ahmed SA, Abbas MA, Jouvion G, et al. Seventeen years of subcutaneous infection by *Aspergillus flavus*; eumycetoma confirmed by immunohistochemistry. *Mycoses*. 2015;58:728-34.
56. Coulibaly O, Marinach-Patrice C, Cassagne C, et al. *Pseudallescheria*/*Scedosporium* complex species identification by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Med Myc*. 2011;49:621-6.
57. Ameen A, Arenas R. Developments in the management of mycetomas. *Clin Exp Dermatol*. 2009;34:1-7.
58. Crabol Y, Poiree S, Bougnoux ME, et al. Last generation triazoles for imported eumycetoma in eleven consecutive adults. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8:e3232.
59. Lacroix C, De Kerviler E, Morel P, et al. *Madurella mycetomatis* mycetoma treated successfully with oral voriconazole. *Br J Dermatol*. 2005;152:1067-8.
60. Loulergue P, Hot A, Dannaoui E, et al. Successful treatment of black-grain mycetoma with voriconazole. *Am J Trop Med Hyg*. 2006;75:1106-7.
61. Sharma A, Sharma N, Nat A, et al. Case report: non-invasive management of Madura foot with oral posaconazole and ciprofloxacin. *Am J Trop Med Hyg*. 2014;91:1259-62.
62. Dupont A. Non-steroidal anti-inflammatory drug to treat a eumycetoma. *Lancet*. 2016;16:779.
63. Dupont B, Datry A, Poirée S, et al. Role of a NSAID in the apparent cure of a fungal mycetoma. *J Mycol Med*. 2016;26:86-93.
64. Costa-de-Oliveira S, Miranda IM, Silva-Dias A, et al. Ibuprofen potentiates the in vivo antifungal activity of fluconazole against *Candida albicans* murine infection. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59:4289-92.
65. Alen MAS, Douglas LJ. Effects of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs on biofilms and planktonic cells of *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:41-4.
66. Hendrix AS, Spoonmore TJ, Wilde AD, et al. Repurposing the nonsteroidal anti-inflammatory drug diflunisal as an osteoprotective, antiviral therapy for *Staphylococcus aureus* osteomyelitis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60:5322-30.
67. Ahmed SA, Kloenzen W, Fahal A, et al. In vitro interaction of currently used azoles with terbinafine against *Madurella mycetomatis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59:1373-4.
68. Rodríguez MM, Calvo E, Serena C, et al. Effects of double and triple combinations of antifungal drugs in a murine model of disseminated infection by *Scedosporium prolificans*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53:2153-5.
69. Soeiro-Sampaio FM, Pereira-Quintella L, Chicario de Oliveira Coelho JM, et al. Eumycetoma by *Madurella mycetomatis* with 30 years of evolution: therapeutic challenge. *An Bras Dermatol*. 2013;88(6 Suppl 1):S82-4.
70. Ahmed A, van Vianen W, ten Kate M, et al. A murine model of *Madurella mycetomatis* eumycetoma. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2003;37:29-36.
71. Lamaris G, Chamilos G, Lewis RE, et al. Virulence studies of *Scedosporium* and *Fusarium* species in *Drosophila melanogaster*. *J Infect Dis*. 2007;196:1860-4.
72. Lionakis MS, Lewis RE, May GS. Toll-deficient *Drosophila* flies as a fast, high-throughput model for the study of antifungal drug efficacy against invasive aspergillosis and *Aspergillus* virulence. *J Infect Dis*. 2005;191:1188-95.